

# Universidad nacional autónoma de méxico



## Facultad de Química

- Analítica Experimental II
- Profr Joaquín Preza De la Vega



Módulo de métodos  
espectroscópicos cuantitativos  
(MEC)

Generalidades de la  
espectroscopía  
ultravioleta (UV) visible  
(VIS)

# ESPECTROFOTOMETRÍA

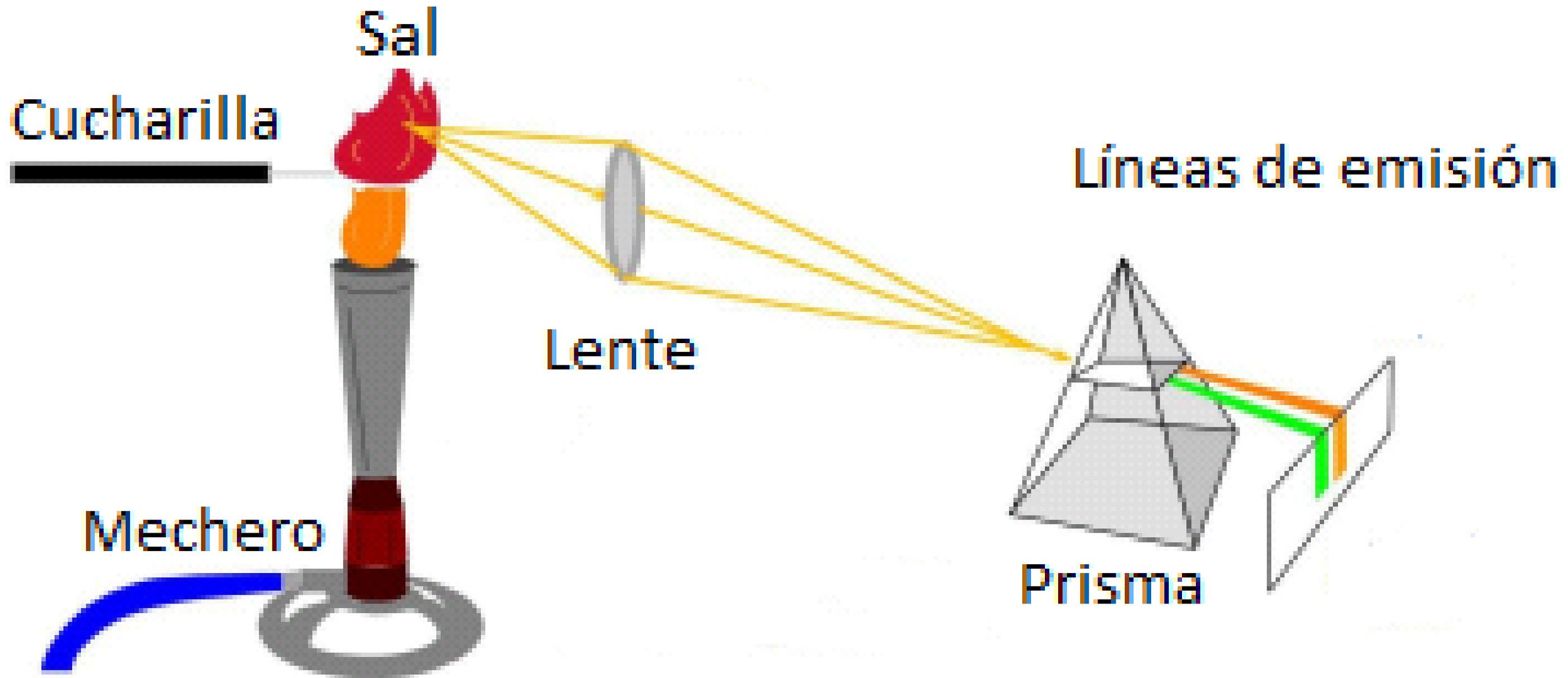
La espectrofotometría estudia los fenómenos de interacción de la radiación electromagnética (REM o también llamada luz) con la materia.

La absorción y emisión de energía radiante como propiedad de la materia, constituye el fundamento de muchos procedimientos en Química Analítica.

Cuando la REM interacciona con cualquier objeto, pueden suceder algunos de estos fenómenos:

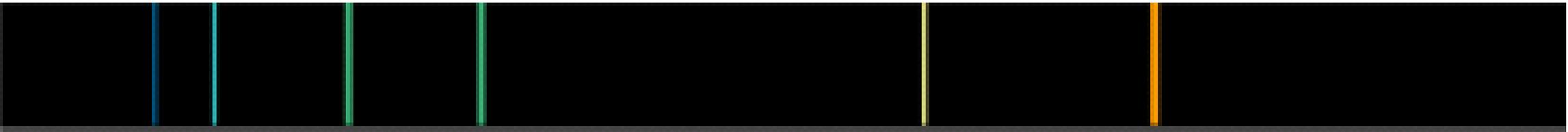
La luz puede ser emitida, reflejada, transmitida o absorbida.

# Experimento de emisión de Bunsen y Kirchhoff

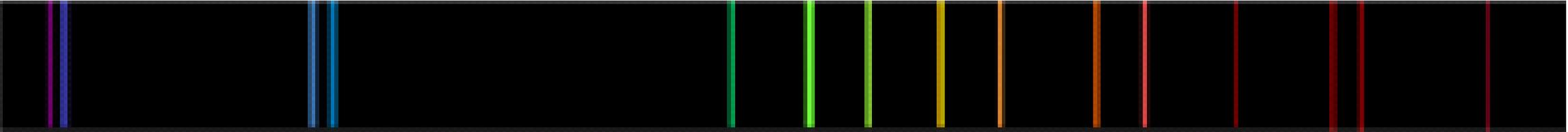


# Líneas espectrales de algunos elementos

Li



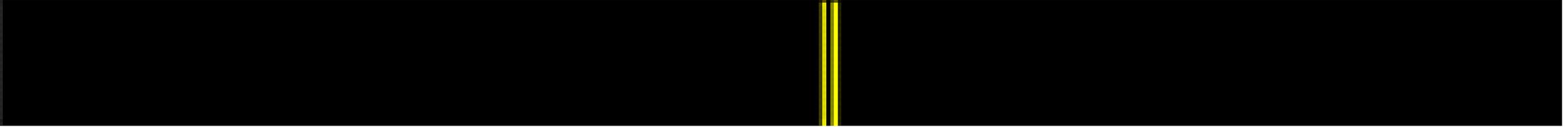
Cs



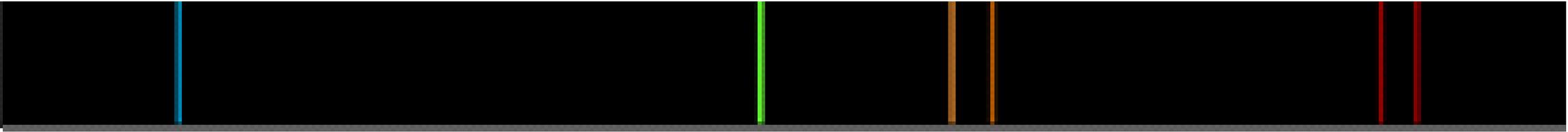
K



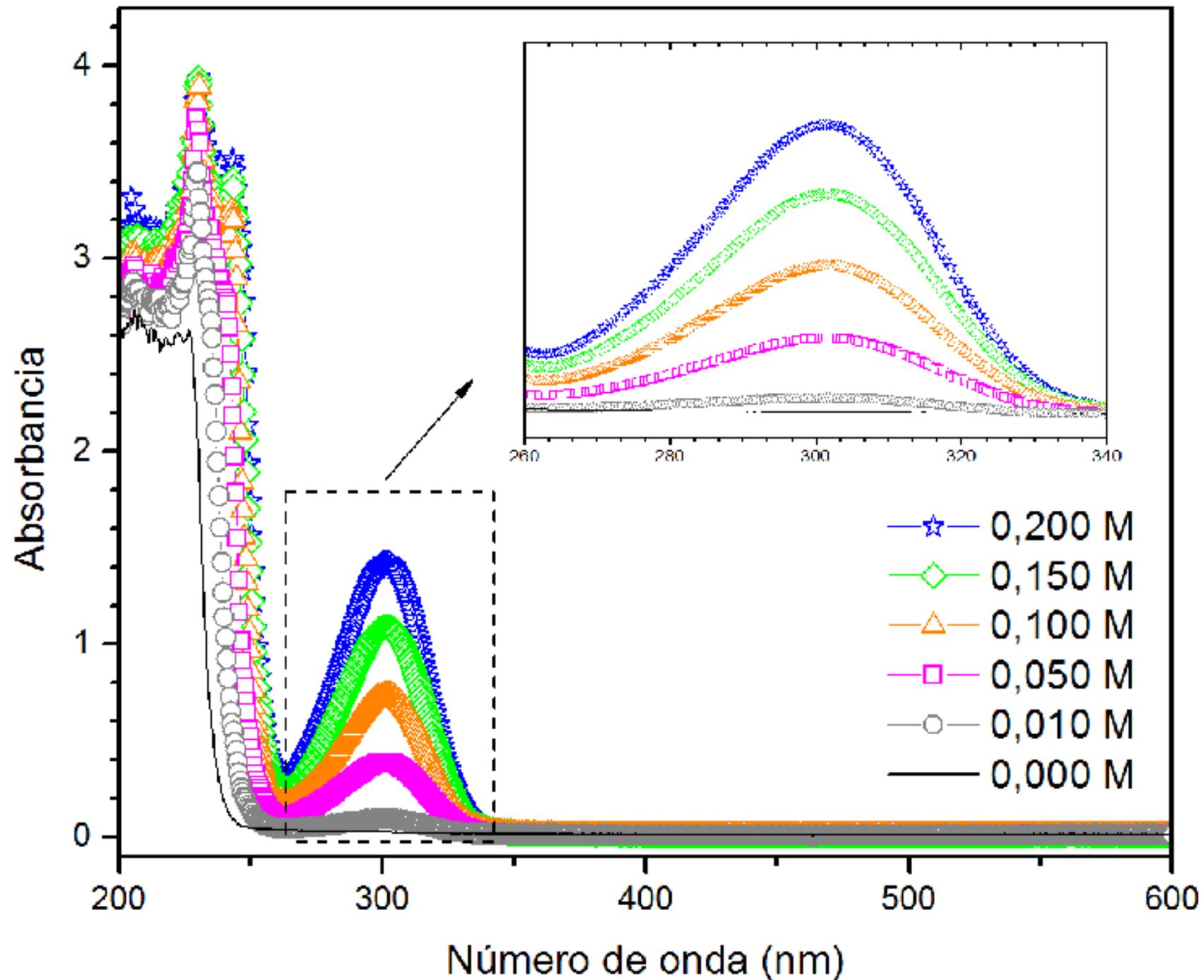
Na



Rb



# Espectro de absorción de $\text{KNO}_3$



Los principios que rigen la absorción de la radiación se aplican a todas las regiones del espectro electromagnético.

La absorción se mide determinando la disminución de potencia experimentada por un haz de REM como resultado de las interacciones con las especies absorbentes situadas en la trayectoria de dicho haz.

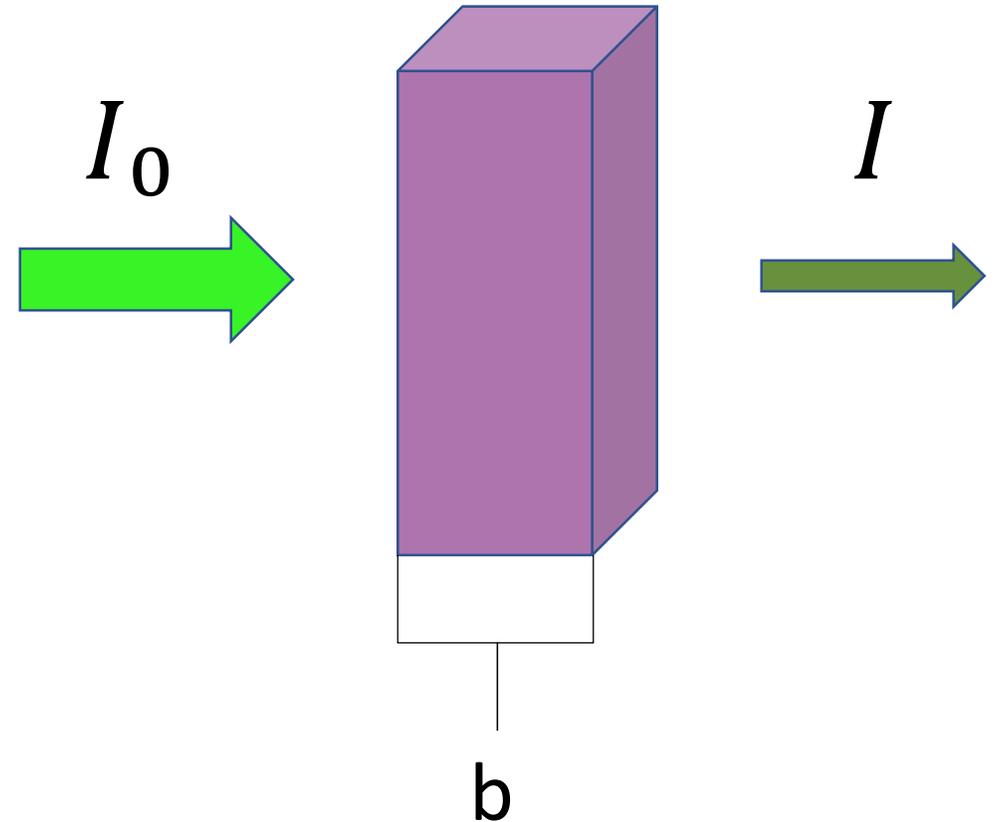
El fenómeno fue apreciado en distintos enfoques por diferentes estudiosos. Ellos enunciaron por su cuenta una relación entre la REM y la materia.

Por un lado Pierre Bouguer (1698 –1758) y Johann Heinrich Lambert (1728 –1777) relacionaron que la trayectoria de un haz monocromático por un medio homogéneo, conlleva a la disminución de la intensidad del haz de luz incidente debido al espesor del medio y a la distancia entre la fuente de luz radiante y el medio mismo.

Lo que equivale a decir que la intensidad de la REM transmitida disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el es-pesor del medio absorbente y la distancia entre la fuente y la muestra.

La siguiente relación matemática da cuenta de esta ley:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-k \cdot b}$$

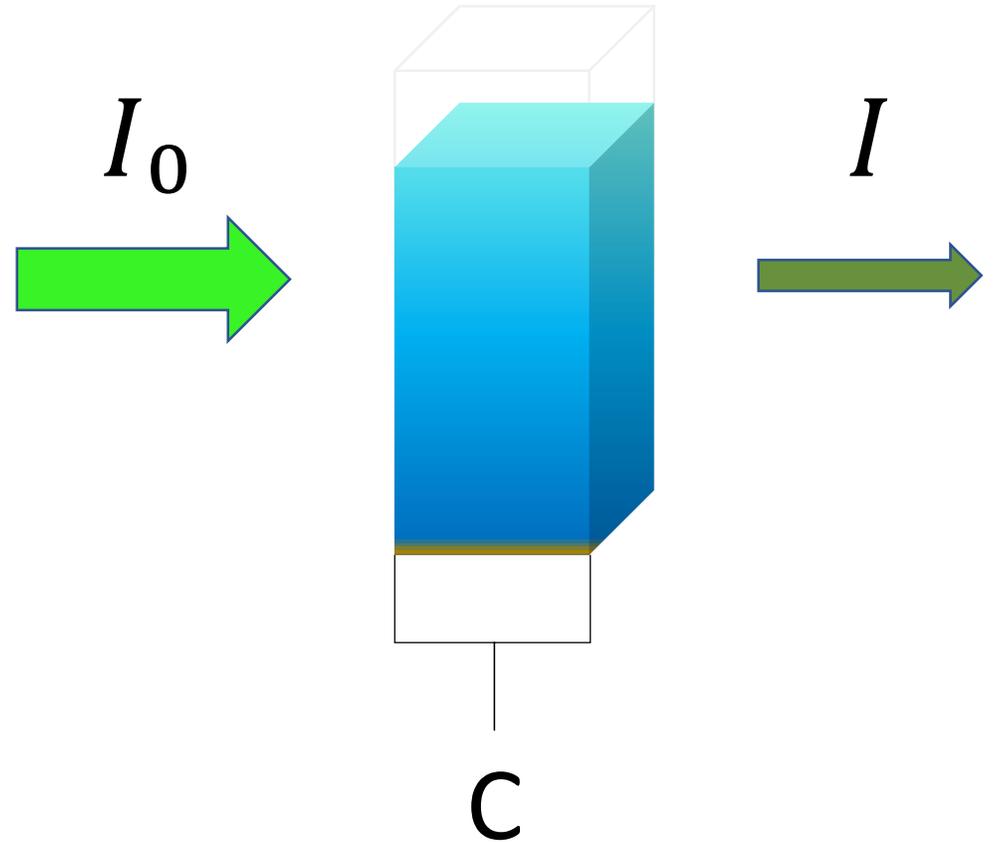


Y por el otro, August Beer (1825 – 1863); quien relacionó que la intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar la concentración de la sustancia absorbente (análisis) cuando este haz pasa a través de un medio homogéneo

Éste último fue quien terminó de conjuntar sus propios hallazgos con los de Bouguer y Lambert.

La siguiente relación matemática expresa la relación de REM con concentración:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-k \cdot C}$$



# Ley de Lambert-Bouguer-Beer

Si se proyecta REM por una cubeta incolora y transparente que contiene una muestra (analito + matriz), la intensidad de la luz se atenúa proporcionalmente con la concentración del analito.

Al aplicar esta ley a los datos obtenidos de absorción con su respectiva concentración, nos aportan información tanto **cualitativa** como **cuantitativa**.

- **Cualitativa**, porque las posiciones de las líneas o bandas de emisión o absorción en el espectro electromagnético indican la presencia de una especie determinada.
- **Cuantitativa**, porque midiendo las intensidades de dichas líneas o bandas de emisión o de absorción puede determinarse la concentración de un analito.

El gráfico resultante del estudio de longitud de onda con la absorción o transmitancia se denomina **espectro de absorción** (o como decimos en el laboratorio, simplemente **espectro**), siempre haciendo énfasis en la técnica empleada como UV, VIS, IR, etcétera.

Para analizar el fenómeno, consideremos que la cantidad total de REM debe ser igual al 100 %; por lo tanto, cuando una especie es irradiada, se puede medir la cantidad de radiación que ha sido re-flejada o transmitida y podemos determinar la cantidad absorbida.

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

$$A = a \cdot b \cdot C$$

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

donde :

**a** : Absortividad

**b** : Longitud o espesor del medio (longitud de la cubeta)

**C** : Concentración del analito en la disolución

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

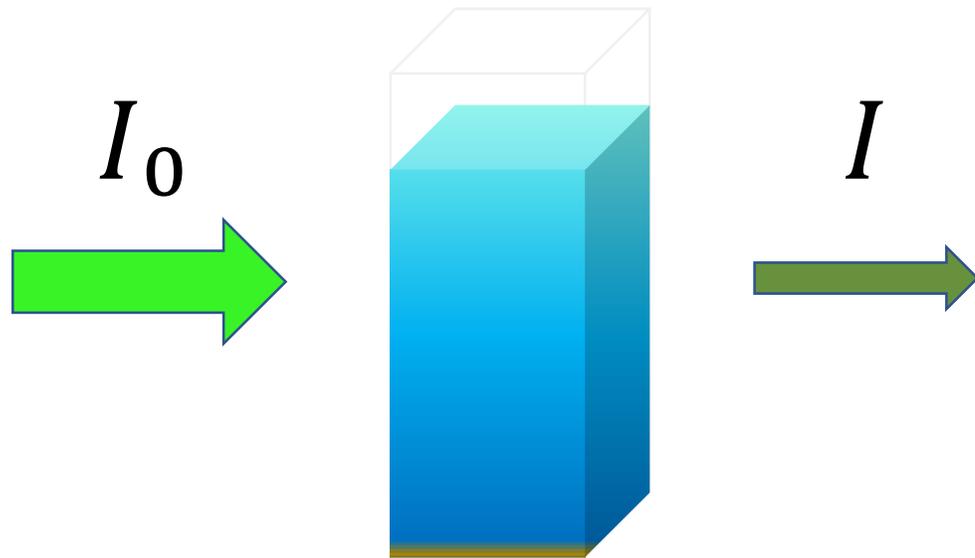
Los términos absorbancia y transmitancia son definidos a continuación:

Transmitancia ( $T$ ) : Es la razón entre la luz monocromática transmitida ( $I$ ) por una muestra y la energía o luz incidente ( $I_0$ ) sobre ella.

Tanto la energía radiante incidente como la transmitida deben ser medidas a la misma longitud de onda ( $\lambda$ ).

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-(a \cdot b \cdot c)}$$

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



La relación entre las dos intensidades  $I / I_0$  es definida como **Transmitancia  $T$** , con unidades de %

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

Se acostumbra a considerar a la transmitancia como la razón de la luz transmitida por la muestra y la luz transmitida por un patrón arbitrario.

Este estándar puede ser la disolución en que esta disuelta la muestra, aire, blanco analítico (disolución que contiene todos los componentes de la solución problema menos la sustancia problema) u otra sustancia elegida arbitrariamente.

Debido a que la transmitancia de este estándar no es necesariamente 100%, es necesario especificar el estándar con el cual la muestra es comparada.

Absorbancia (A) : Se define como la cantidad de REM absorbida por una analito en disolución. Matemáticamente, corresponde al logaritmo negativo de la transmitancia (T) expresada como porcentaje.

$$A = - \log T = 2 - (\log \% T)$$

Si relacionamos la transmitancia con la absorbancia como en la ley de Bouguer-Lambert-Beer, entonces:

$$A = - \log \frac{I}{I_0} = - \log T = - \log (10^{- (a \cdot b \cdot C)})$$

$$A = a b C$$

Esta ecuación indica que la absorbancia es una función lineal de la concentración, donde **a** es una constante de proporcionalidad llamada absorptividad. La magnitud de **a** depende de las unidades de **b** y **C**.

Si la concentración **C** está expresada en  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  y la longitud de la cubeta **b** en centímetros (cm), la constante **a** recibe el nombre de absorptividad molar ( $\epsilon$ ).

$$A = \epsilon b C$$

## Mediciones de transmitancia y absorbancia

Se hacen por comparación entre la muestra problema y un estándar o referencia.

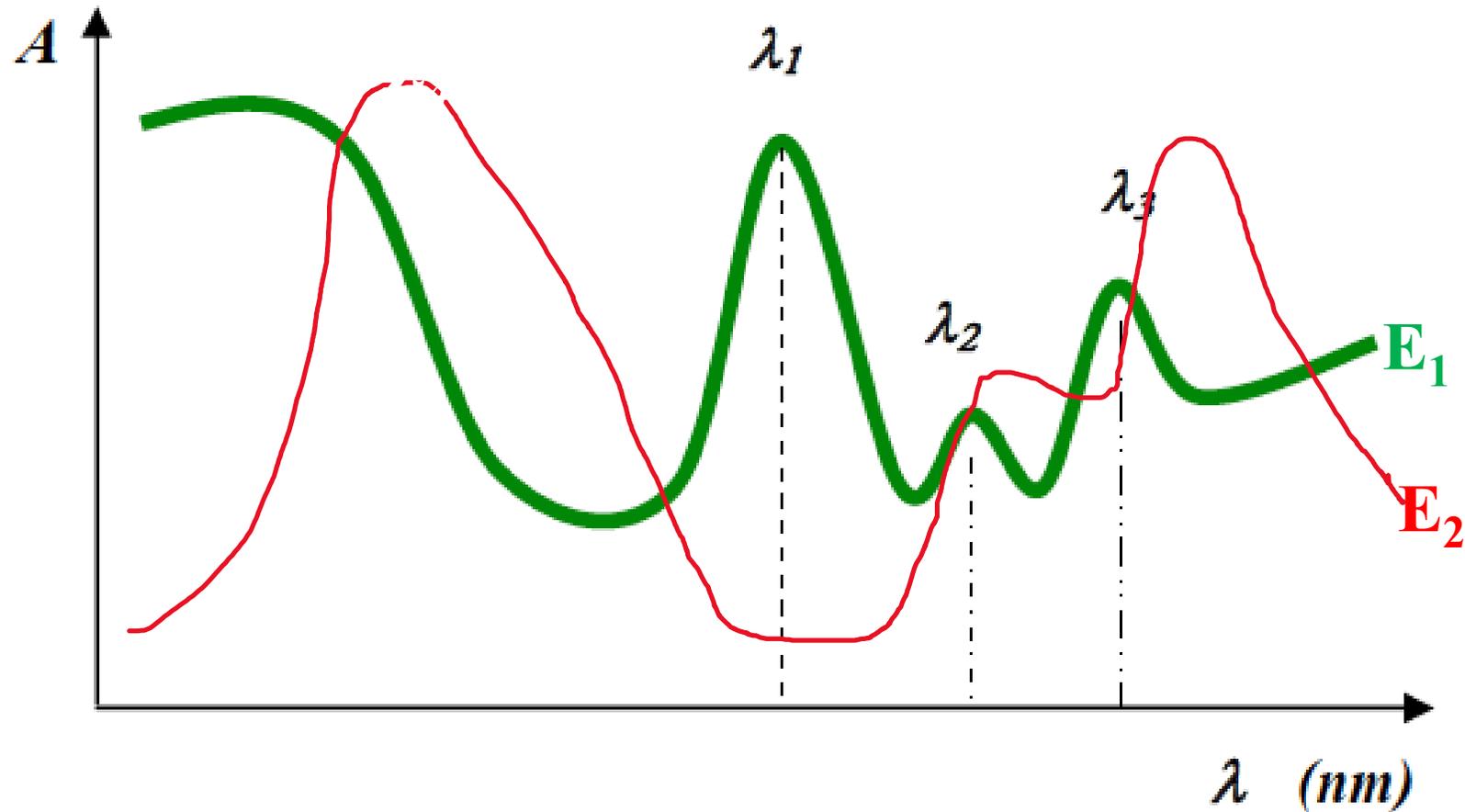
## Selección de longitud de onda de trabajo

La longitud de onda de trabajo corresponde, generalmente, a la longitud de onda en la cual la absorbancia del analito (sustancia a analizar) es máxima ( $\lambda_{\max}$ ).

Para seleccionar  $\lambda_{\text{max}}$ , se hace un espectro de absorción o curva espectral, que consiste en una gráfica de la absorbancia de una disolución de la especie absorbente de concentración adecuada, medida a distintas longitudes de onda ( $\lambda$ ).

Dependiendo del comportamiento de la especie en el medio donde se analizará, se selecciona la longitud de onda donde se observe el máximo más pronunciado, de preferencia sin interferencia de señales de otras especies. En ella se determina  $\lambda_{\max}$  con la que se trabajará el análisis

De los dos espectros  $E_1$  y  $E_2$  siendo la especie de interés  $E_1$ , se ejemplifica como se aplica el criterio de elección de  $\lambda_{\max}$ .



La radiación electromagnética, luz, energía radiante o espectro electromagnético ha estado siendo estudiada por mucho tiempo.

El estudio de la REM, en cuanto a su comportamiento se ha definido por las teorías corpuscular y ondulatoria.

Hasta que se unificó en una teoría donde se le brinda a la REM la dualidad de onda y partícula.

# Teoría copuscular

La teoría corpuscular se debe a Isaac Newton (1642-1726). Estipuló que la luz está compuesta por diminutas partículas materiales emitidas a gran velocidad en línea recta por cuerpos luminosos. La dirección de propagación de estas partículas recibe el nombre de rayo luminoso.

La teoría de Newton se fundamenta en tres características:

- **Propagación rectilínea.** La luz se propaga en línea recta porque los corpúsculos que la forman se mueven a gran velocidad.

- **Reflexión.** se sabe que la luz al chocar contra un espejos se refleja. Newton explicaba este fenómeno diciendo que las partículas luminosas son perfectamente elásticas y por tanto la reflexión cumple las leyes del choque elástico.
- **Refracción.** El hechos de que la luz cambie la velocidad en medios de distinta densidad, cambiando la dirección de propagación, tiene difícil explicación con la teoría corpuscular. Sin embargo Newton supuso que la superficie de separación de dos medios de distinto índice de refracción ejercía una atracción sobre las partículas luminosas, aumentando así la componente normal de la velocidad mientras que la componente tangencial permanecía invariable.

# Teoría ondulatoria

Fue idea del físico holandés C. Huygens. La luz se propaga mediante ondas mecánicas emitidas por un foco luminoso. La luz para propagarse necesitaba un medio material de gran elasticidad, impalpable que todo lo llena, incluyendo el vacío, puesto que la luz también se propaga en él. A este medio se le llamó éter.

La energía luminosa no está concentrada en cada partícula, como en la teoría corpuscular sino que está repartida por todo el frente de onda. El frente de onda es perpendicular a las direcciones de propagación.

La teoría ondulatoria explica perfectamente los fenómenos luminosos mediante una construcción geométrica llamada **principio de Huygens**. Según esta teoría, la REM se propaga con mayor velocidad en medios menos densos. A pesar de esto, la teoría de Huygens fue olvidada durante un siglo debido a la gran autoridad de Newton.

# Principio de Huygens

Alrededor de 1660 el físico danés Huygens propuso un mecanismo simple para trazar la propagación de ondas. Su construcción es aplicable a onda mecánicas en un medio material.

Un **frente de onda** es una superficie que pasa por todos los puntos del medio alcanzados por el movimiento ondulatorio en el mismo instante. La perturbación en todos esos puntos tiene la misma fase. Podemos trazar una serie de líneas perpendiculares a los sucesivos frentes de onda. Estas líneas se denominan **rayos** y corresponden a las líneas de propagación de la onda. La relación entre rayos y frente de ondas es similar a la de líneas de fuerza y superficies equipotenciales. El tiempo que separa puntos correspondientes de dos superficies de onda es el mismo para todos los pares de puntos correspondientes (teorema de Malus).

# Principio de Huygens

Huygens visualizó un método para pasar de un frente de onda a otro. Cuando el movimiento ondulatorio alcanza los puntos que componen un frente de onda, cada partícula del frente se convierte en una fuente secundaria de ondas, que emite ondas secundarias (indicadas por semicircunferencias) que alcanzan la próxima capa de partículas del medio. Entonces estas partículas se ponen en movimiento, formando el subsiguiente frente de onda con la envolvente de estas semicircunferencias. El proceso se repite, resultando la propagación de la onda a través del medio. Esta representación de la propagación es muy razonable cuando la onda resulta de las vibraciones mecánicas de las partículas del medio, es decir una onda elástica pero no tendría significado físico en las ondas electromagnéticas donde no hay partículas que vibren.

# Teoría dual

En 1801 el inglés T. Young dio un gran impulso a la teoría ondulatoria explicando el fenómeno de las interferencias y midiendo las longitudes de onda correspondientes a los distintos colores del espectro.

La teoría corpuscular era inadecuada para explicar el hecho de que dos rayos luminosos, al incidir en un punto pudieran originar oscuridad.

A finales del siglo XIX se sabía ya que la velocidad de la luz en el agua era menor que la velocidad de la luz en el aire contrariamente a las hipótesis de la teoría corpuscular de Newton. En 1864 Maxwell obtuvo una serie de ecuaciones fundamentales del electromagnetismo y predijo la existencia de ondas electromagnéticas. Maxwell supuso que la luz representaba una pequeña porción del espectro de ondas electromagnéticas. Hertz confirmó experimentalmente la existencia de estas ondas.

# Espectro electromagnético

**La radiación electromagnética esta formada por la combinación de campos eléctricos y magnéticos que se propagan en forma de ondas portadoras de energía.**

**Las ondas electromagnéticas tienen las vibraciones perpendiculares a la dirección de propagación de la onda. Por tal motivo, se las clasifica entre las ondas transversales.**

**Las ondas electromagnéticas viajan a través del espacio, y no necesitan de un medio material para propagarse.**

RADIO

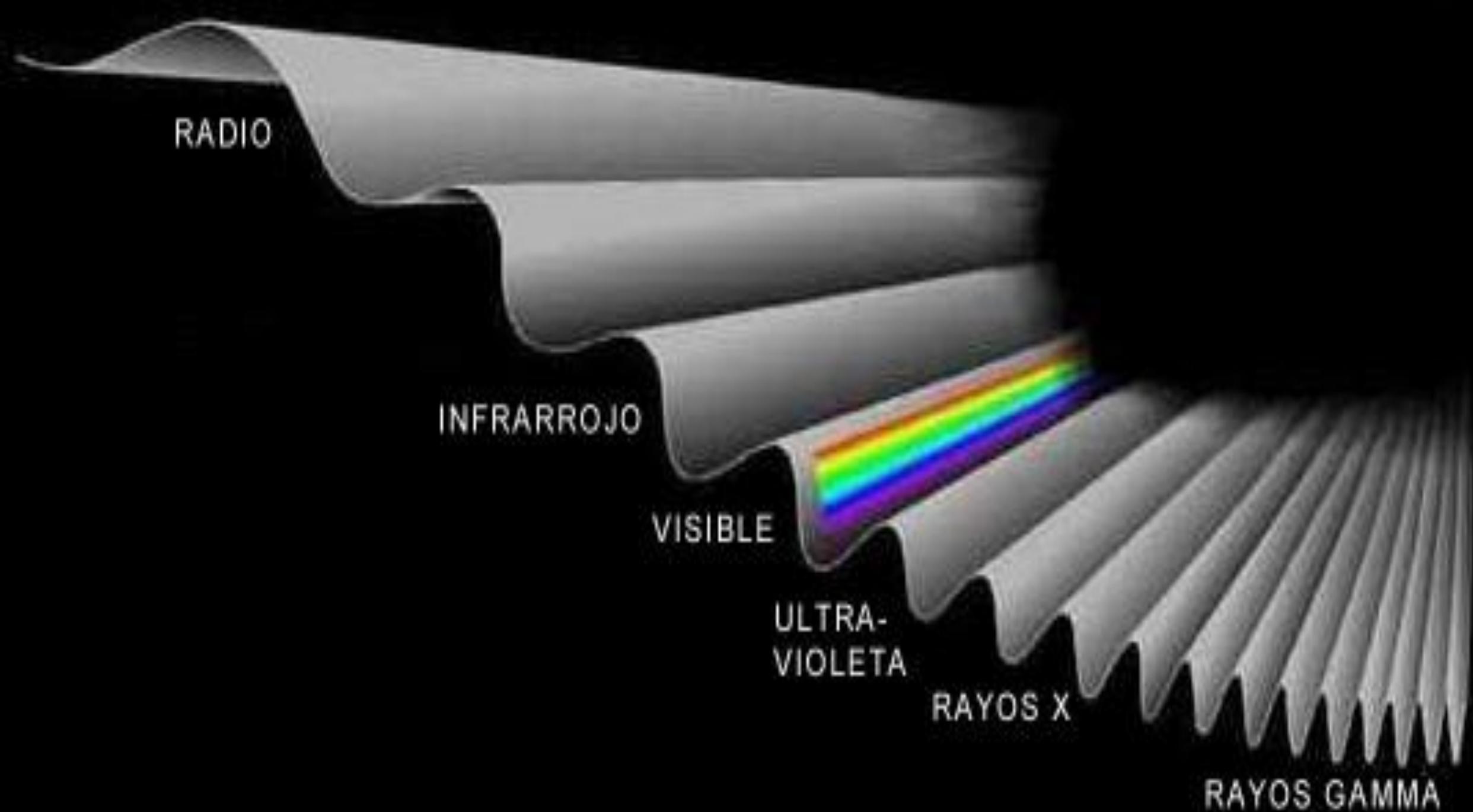
INFRARROJO

VISIBLE

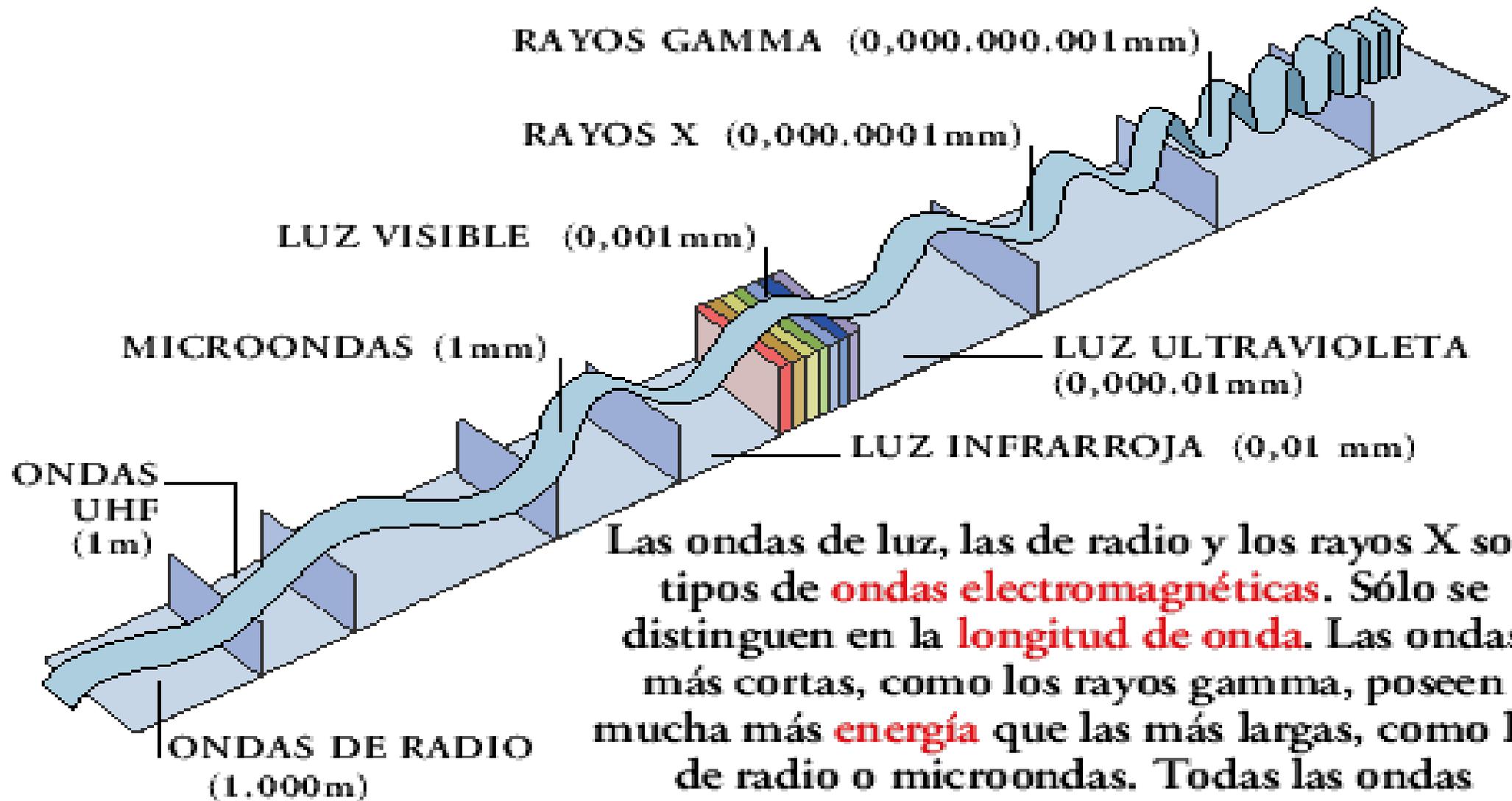
ULTRA-  
VIOLETA

RAYOS X

RAYOS GAMMA



# ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO



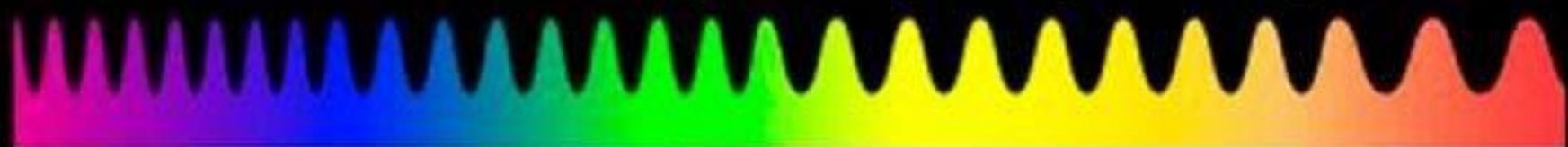
Las ondas de luz, las de radio y los rayos X son tipos de **ondas electromagnéticas**. Sólo se distinguen en la **longitud de onda**. Las ondas más cortas, como los rayos gamma, poseen mucha más **energía** que las más largas, como las de radio o microondas. Todas las ondas electromagnéticas viajan a la velocidad de la luz.

La Luz blanca se descompone al pasar por un prisma



- Rojo
- Naranja
- Amarillo
- Verde
- Azul
- Violeta

**LUZ:** Las ondas electromagnéticas que el ojo humano percibe



Violeta	Azul	Verde	Amarillo	Naranja	Rojo
380-450	450-500	500-570	570-590	590-610	610-750

(con la longitud de onda aproximada para cada color en nanómetros)

## Relación entre la luz absorbida y el color observado

$\lambda$ de la luz absorbida (nm)	Zona del espectro visible	Color observado
400-430	Violeta, añil	Amarillo
430-470	Azul	Naranja
470-500	Azul, verde	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-540	Verde, amarillo	Violeta
540-590	Amarillo	Añil
590-610	Naranja	Azul
610-700	Rojo	Verde

La radiación ultravioleta (UV) pertenece a la franja del espectro electromagnético con longitudes de onda entre 400 y 100 nm aproximadamente. Se extiende desde la parte violeta del espectro visible hasta la zona de rayos X blandos, aunque ambos límites son tomados por convención.

La región **UV** de la REM se encuentra entre 0.6 y 380 nm.

UV lejano

0.6 – 200 nm

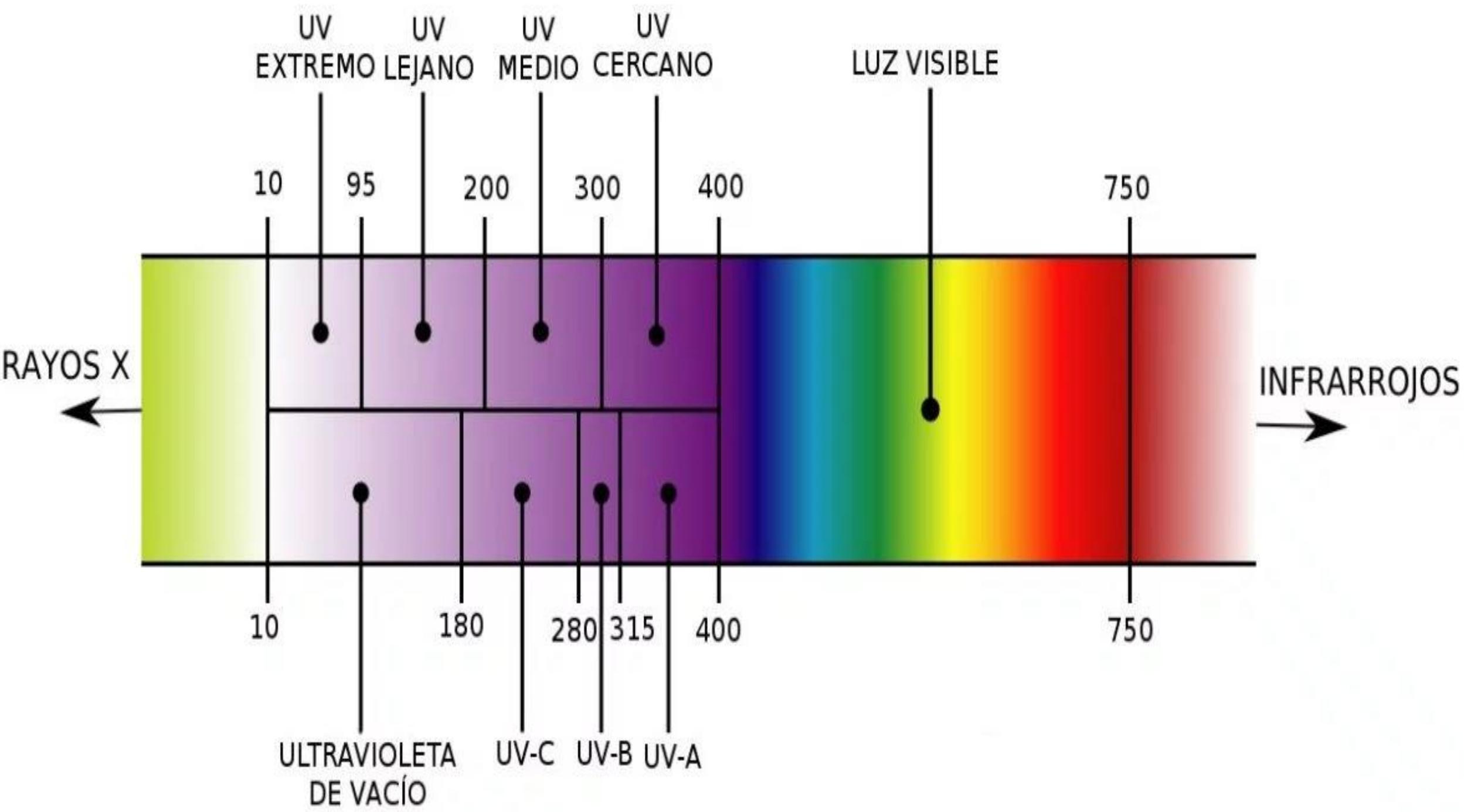
UV cercano

200 – 400 nm

Visible

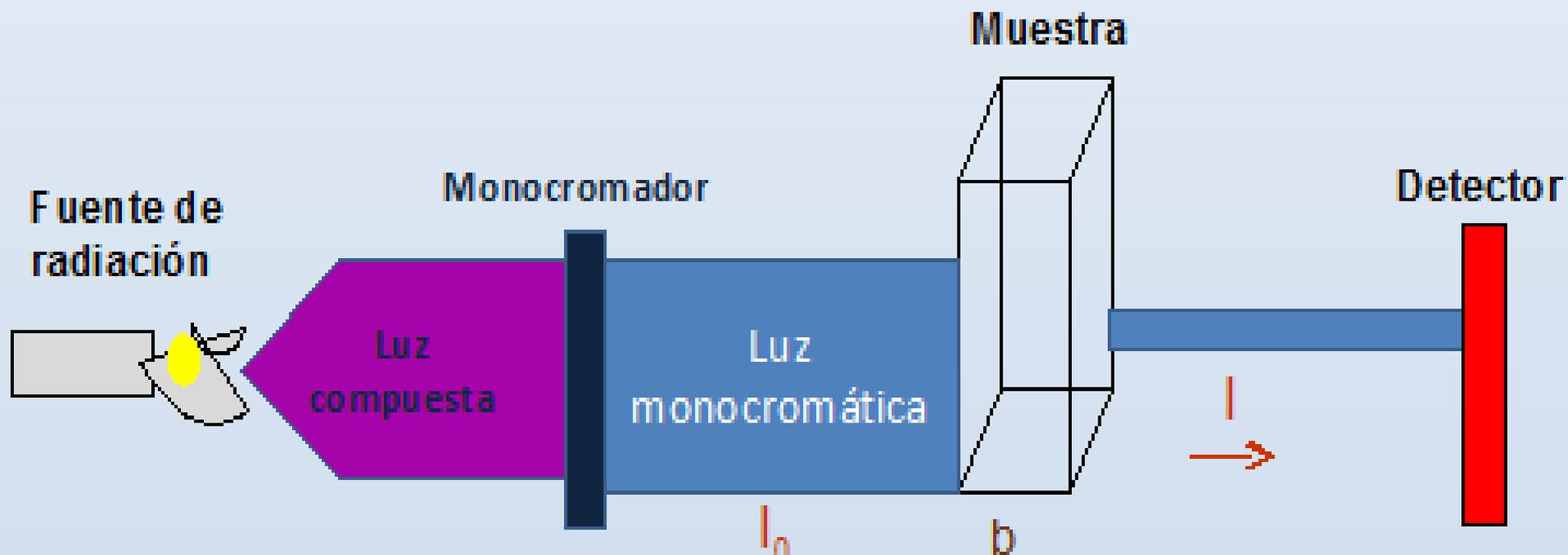
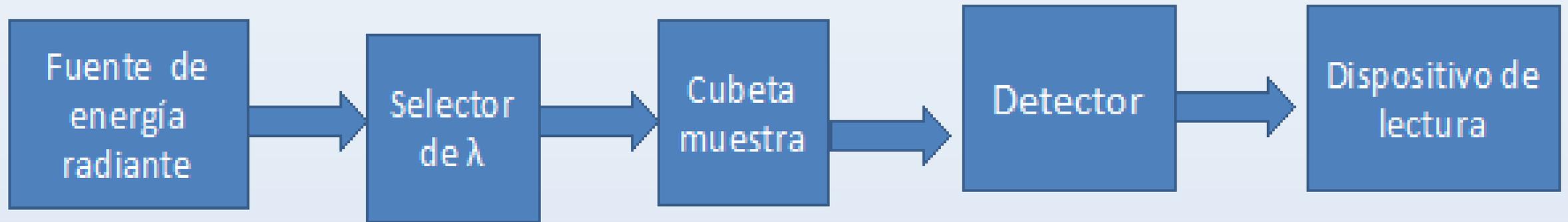
400 – 800 nm

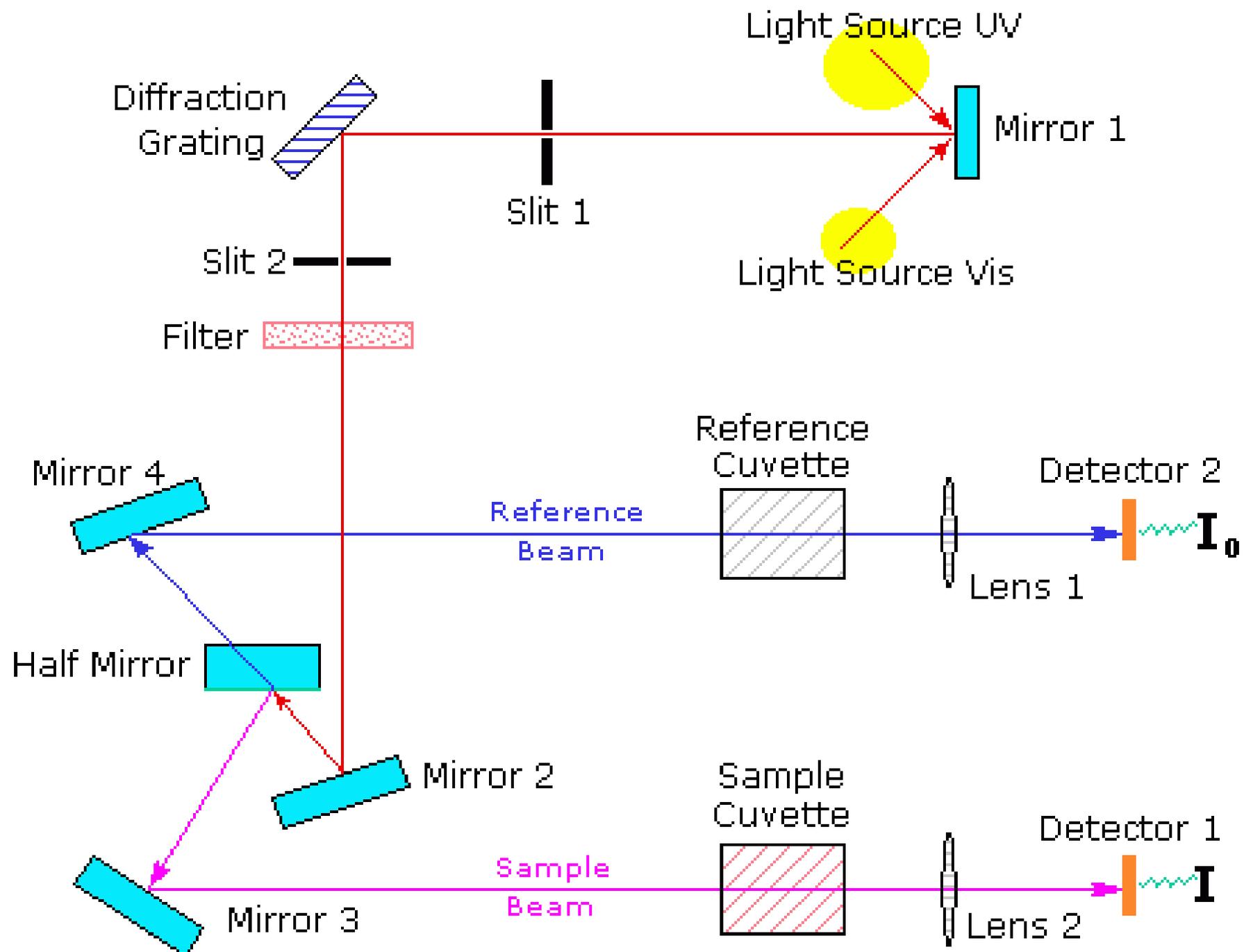
- UV “cercano o de cuarzo”. Región en la que el aire y el cuarzo son transparentes).
- UV “lejano o de vacío”. intervalo 0.6 a 200 nm.
- El UV lejano requiere técnicas especiales, ya que el aire que se encuentra en el trayecto óptico absorbe intensamente en esta región. No es útil desde un punto de vista práctico.
- La región visible, a la que es sensible el ojo humano, se localiza entre los 400 y 800 nm.

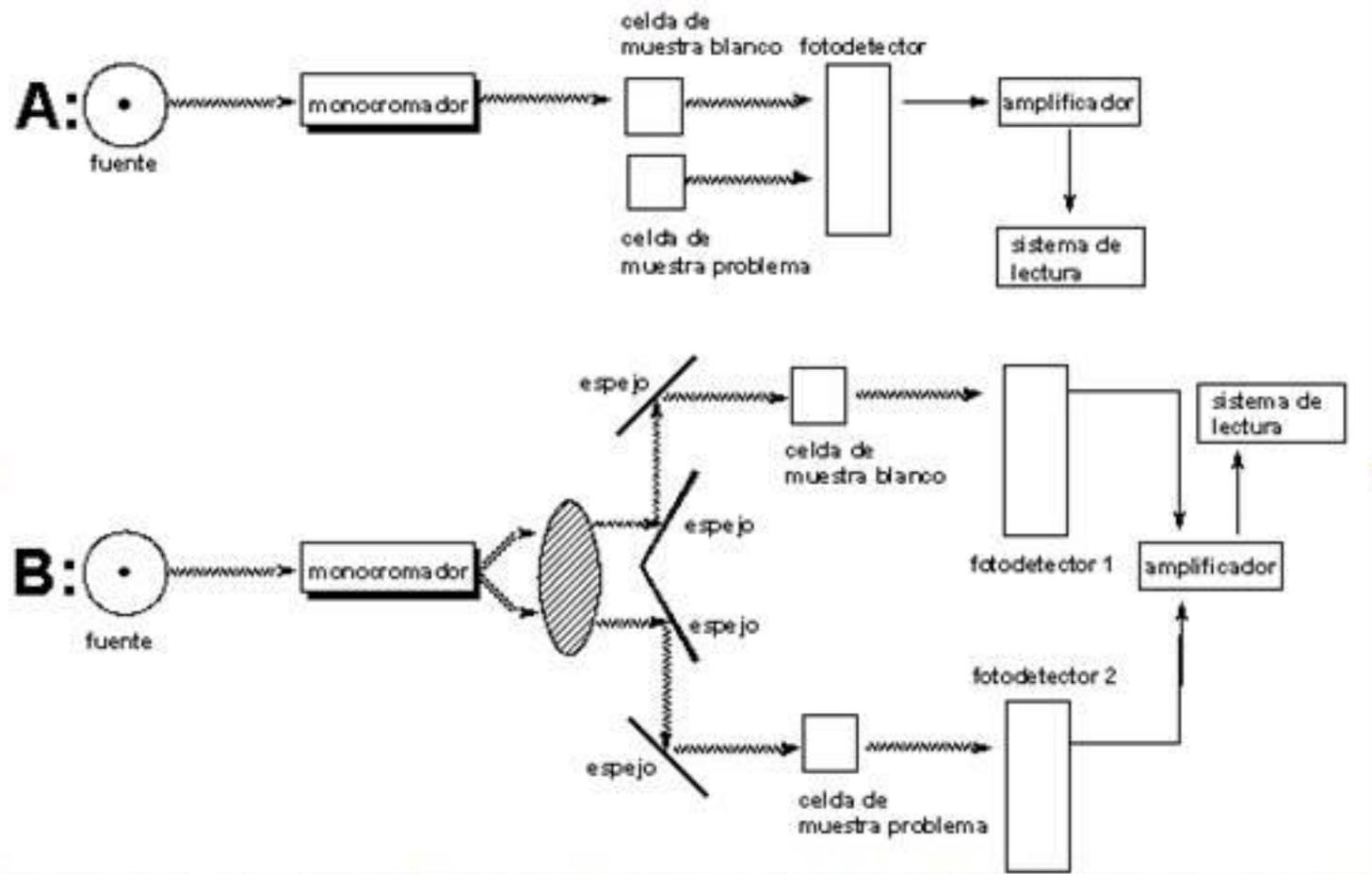
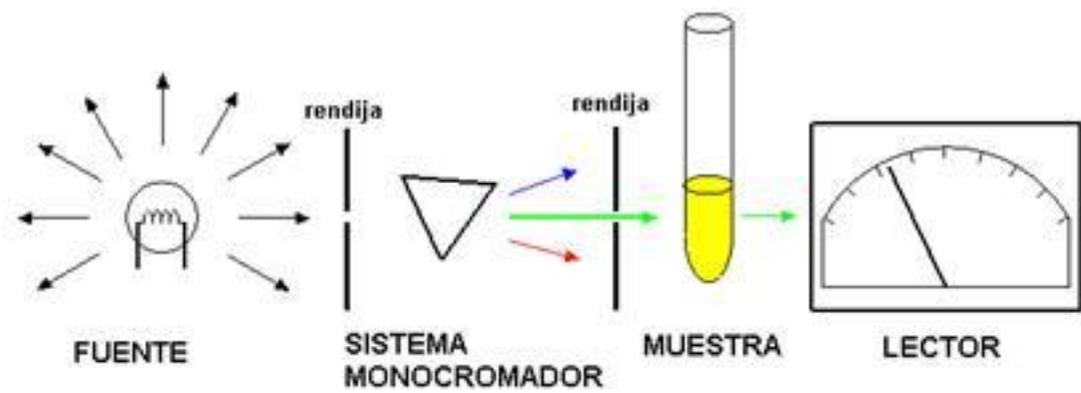


# INSTRUMENTACIÓN

# Componentes básicos de los espectrofotómetros







# Aplicaciones

- Análisis de muestras bioquímicas
- Determinación de metales en compuestos de coordinación
- Determinación simultánea de analitos
- Análisis de semiconductores
- Medidas de color
- Análisis cuantitativo
- Seguimiento de la cinética de procesos químicos y bioquímicos

## Recomendaciones para análisis de muestras

- Las muestras deben encontrarse adecuadamente etiquetadas, envasadas y acondicionadas para asegurar su identificación, integridad y conservación durante el transporte y garantizar la seguridad del personal que lo realiza.

## Recomendaciones para análisis de muestras

- El volumen mínimo de líquido a analizar es de 3 mL. Las muestras sólidas deben ser placas con dimensiones comprendidas entre 20 (altura) x 20 (anchura) x 0.5 (grosor) mm y 65 (altura) x 50 (anchura) x 25 (grosor) mm. Las muestras sólidas en polvo deben estar molidas y no ser abrasivas.
- Para el análisis en el rango NIR de muestras en disolución evitar usar agua y alcohol como disolventes.

## Recomendaciones para análisis de muestras

- Si la muestra es líquida, deberá presentarse en disolución siendo la concentración la adecuada para el análisis. Si no se cumple este requisito, el responsable del análisis podrá actuar sobre la muestra (preparando la disolución y/o obteniendo la concentración adecuada de analito) en cuyo caso, previa aceptación del usuario, se procederá a facturar un importe en concepto de preparación de la muestra

## Recomendaciones para análisis de muestras

- La disolución del analito debe ser estable en las condiciones de almacenamiento y análisis.
- Los disolventes y los amortiguadores utilizados no deben interferir en la zona de medida del analito.