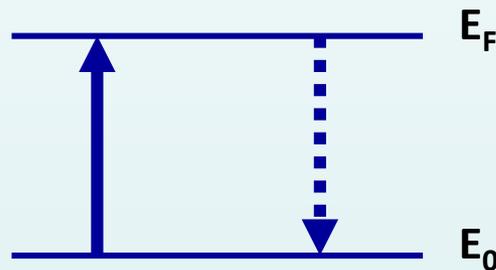


Tema 13.- Espectroscopia de absorción molecular UV-Vis

- 1. Introducción.**
- 2. Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer.**
- 3. Instrumentación.**
- 4. Aplicaciones de la Espectrofotometría UV-Vis.**

Introducción

Para moléculas, además de los **ESTADOS ELECTRÓNICOS**, también tienes **ESTADOS VIBRACIONALES**, asociados a la energía de vibraciones inter-atómicas, y **ESTADOS ROTACIONALES**, asociados a la rotación de la molécula alrededor de su centro de gravedad.



calor

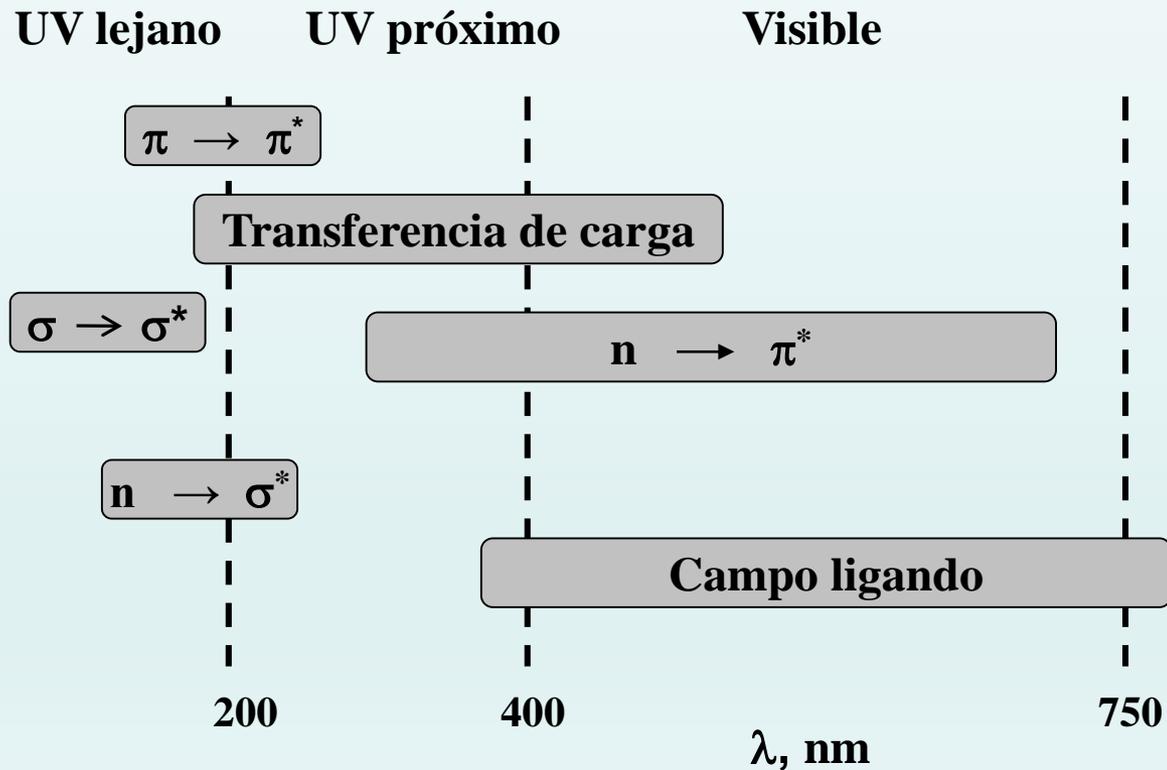
ESPECTROS DE ABSORCIÓN

Introducción

Absorción de la radiación electromagnética

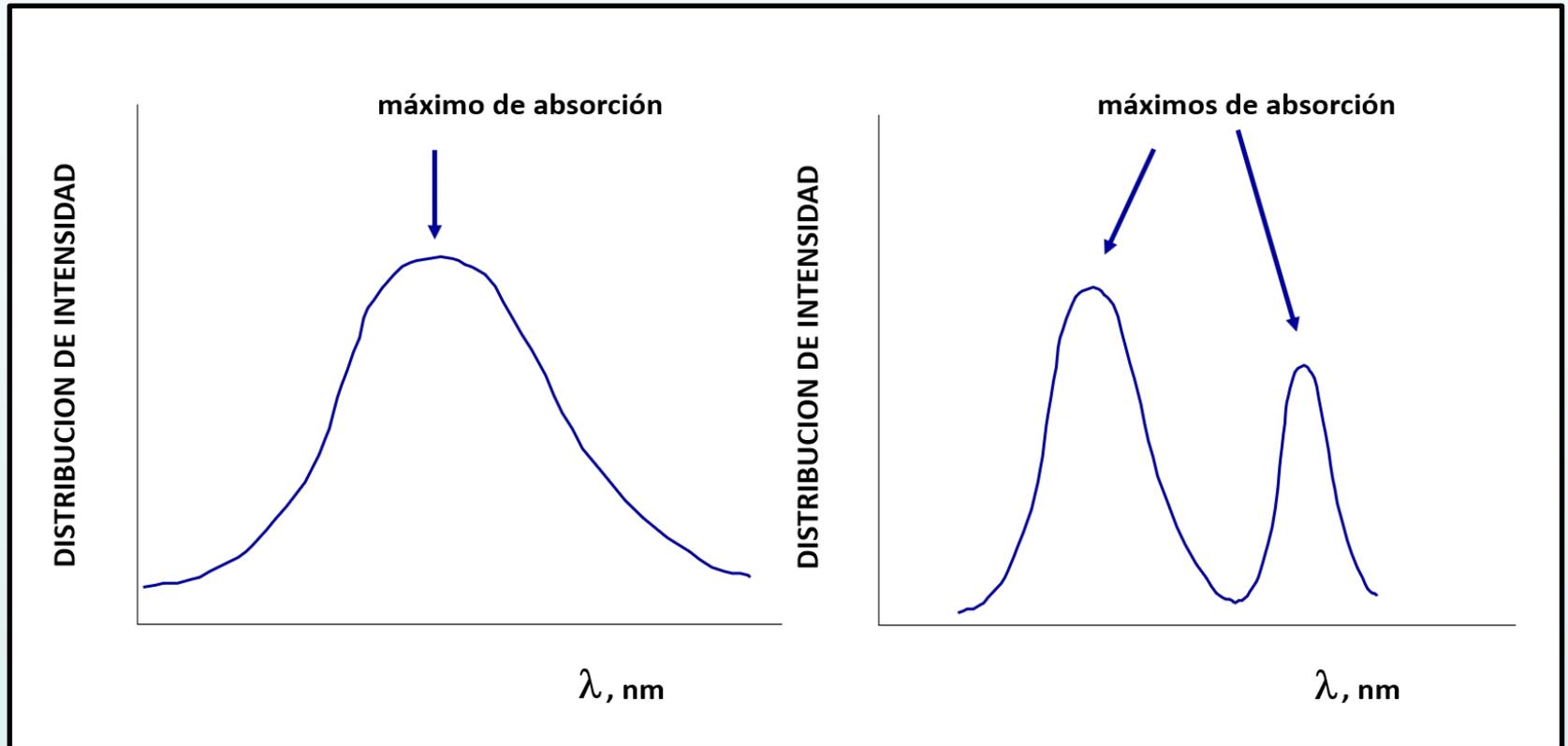
$$\Delta E = \Delta E_{\text{electrónica}} + \Delta E_{\text{vibracional}} + \Delta E_{\text{rotacional}}$$

Tipos de transiciones electrónicas



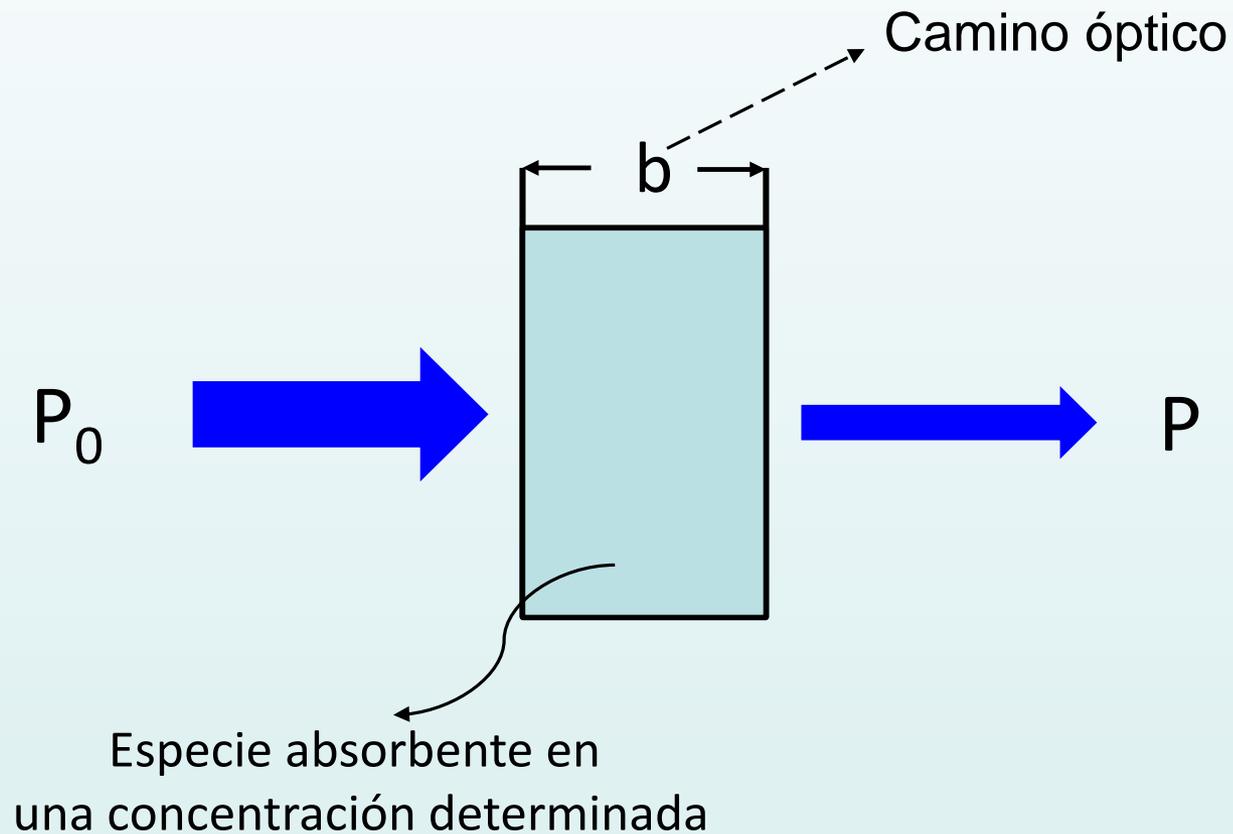
Introducción

ESPECTRO DE ABSORCIÓN MOLECULAR (espectro de bandas)



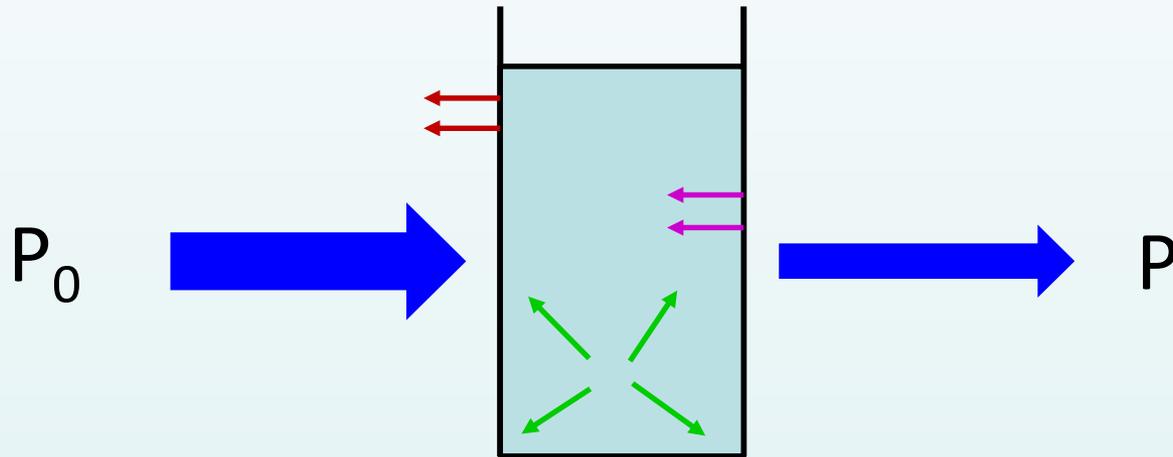
Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Transmitancia y absorbancia



Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Transmitancia y absorbancia



- ← Pérdidas por reflexión en la interfase
- ← Pérdidas por reflexión en la interfase
- ← Pérdidas por dispersión en la disolución

Para compensar estas pérdidas la potencia del haz transmitido a través de una celda que contiene el analito, se compara con la que atraviesa una celda idéntica que contiene únicamente el disolvente o un blanco de reactivos.

Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Transmitancia y absorbancia

TRANSMITANCIA, T: es la fracción de rem incidente transmitida por la disolución absorbente y se expresa generalmente en porcentaje

$$\% T = \frac{P_{\text{disolución del analito}}}{P_{\text{disolvente o blanco}}} 100 \approx \frac{P}{P_0} 100$$

ABSORBANCIA, A: es la magnitud que generalmente se mide

$$A = -\log T = -\log \frac{P}{P_0} = \log \frac{P_0}{P}$$

Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Ley de Beer

$$A = a b C \quad a: \text{absortividad}$$

$$A = \varepsilon b C \quad \varepsilon: \text{absortividad molar}$$

Magnitud aditiva:

$$\begin{aligned} A_{\text{total}}^{\lambda} &= A_B^{\lambda} + A_D^{\lambda} + A_H^{\lambda} + \dots = \\ &= \varepsilon_B^{\lambda} b C_B + \varepsilon_D^{\lambda} b C_D + \varepsilon_H^{\lambda} b C_H + \dots \end{aligned}$$

Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

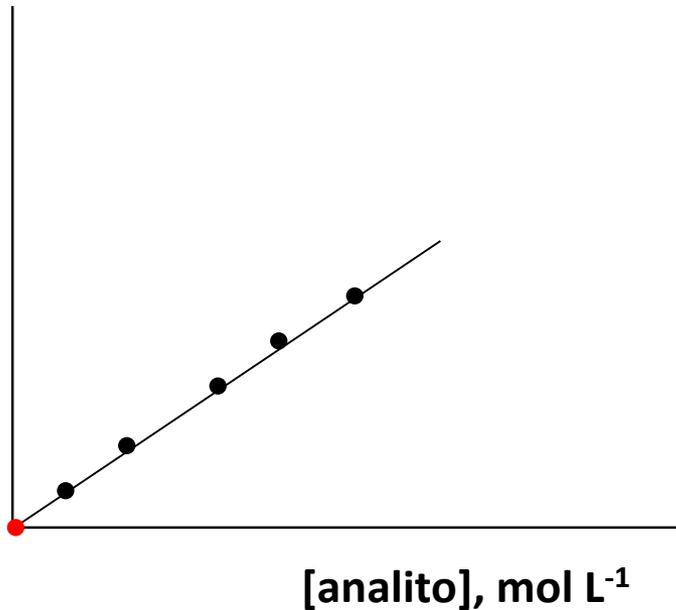
✓ Ley de Beer

$$A = a b C \quad a: \text{absortividad}$$

$$A = \varepsilon b C \quad \varepsilon: \text{absortividad molar}$$

Ecuación de una recta de ordenada
cero y pendiente εb o ab

A



Se corrige el blanco

La recta debe pasar teóricamente por
el punto (0,0)

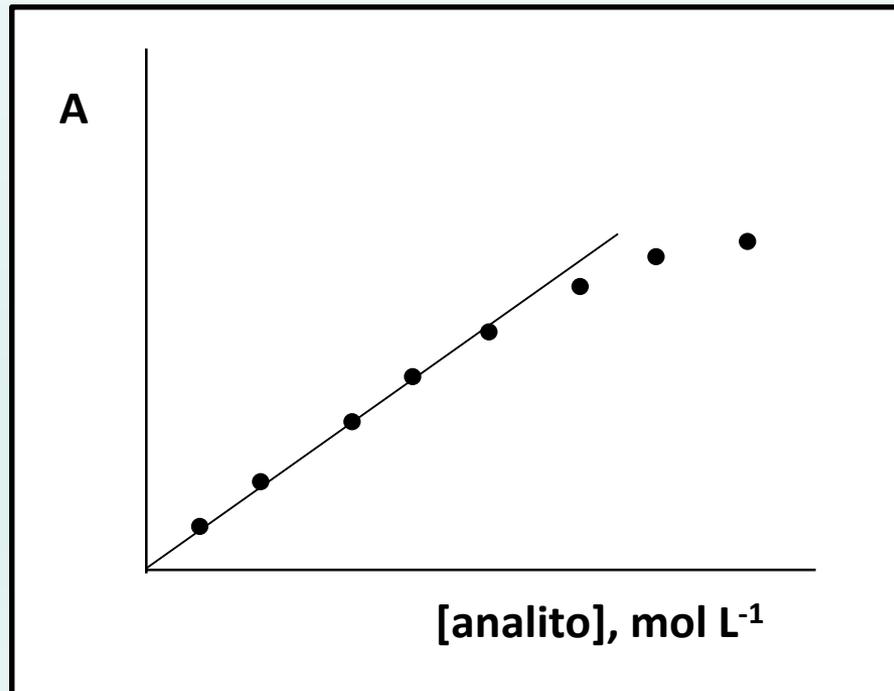
El punto (0,0) es un punto mas
de la recta al aplicar el método
de mínimos cuadrados

Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Limitaciones de la ley de Beer

1.- LIMITACIÓN REAL DE LA LEY

La ley de Beer es una ley límite, es decir sólo es válida para concentraciones de especies absorbentes bajas: disoluciones diluidas.



Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

- ✓ Limitaciones de la ley de Beer

2.- DESVIACIONES QUÍMICAS

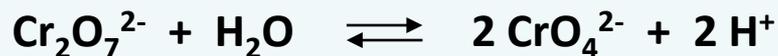
Podemos encontrar desviaciones de la ley de Beer cuando la especie absorbente experimenta procesos de disociación, asociación o reacción química, originando un producto que no absorbe de la misma manera en la zona del espectro elegida.

- Presencia de equilibrios 
 - Dimerización
 - Ácido-base
 - Complejos
- Influencia del disolvente
- Influencia de la temperatura
- Impurezas presentes, etc

Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

✓ Limitaciones de la ley de Beer

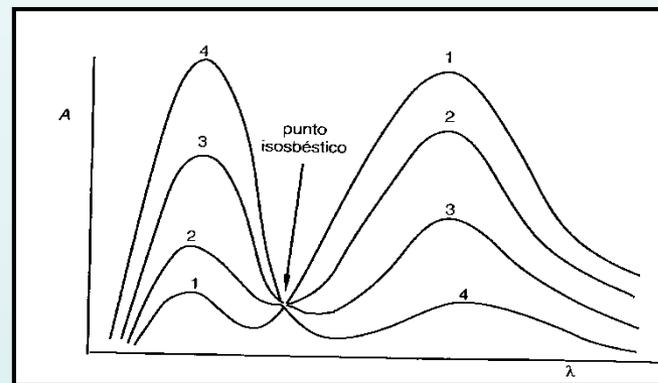
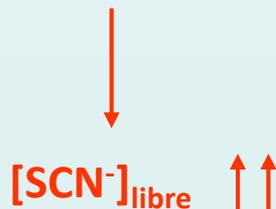
Equilibrio de dimerización:



λ_{max} : 350, 450 nm

λ_{max} : 372 nm

Equilibrio formación de complejos



Equilibrio ácido-base



Leyes de la absorción de radiación: ley de Beer

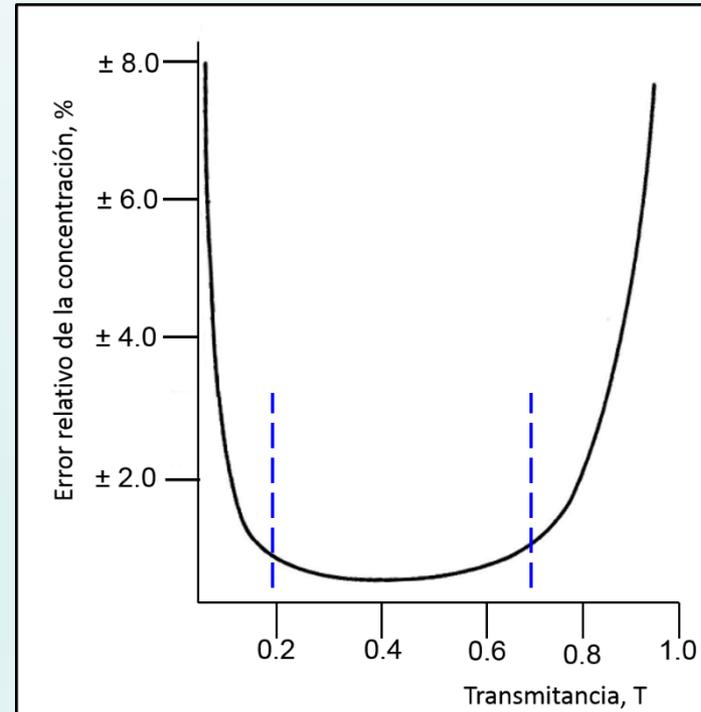
✓ Limitaciones de la ley de Beer

Presencia de radiación parásita

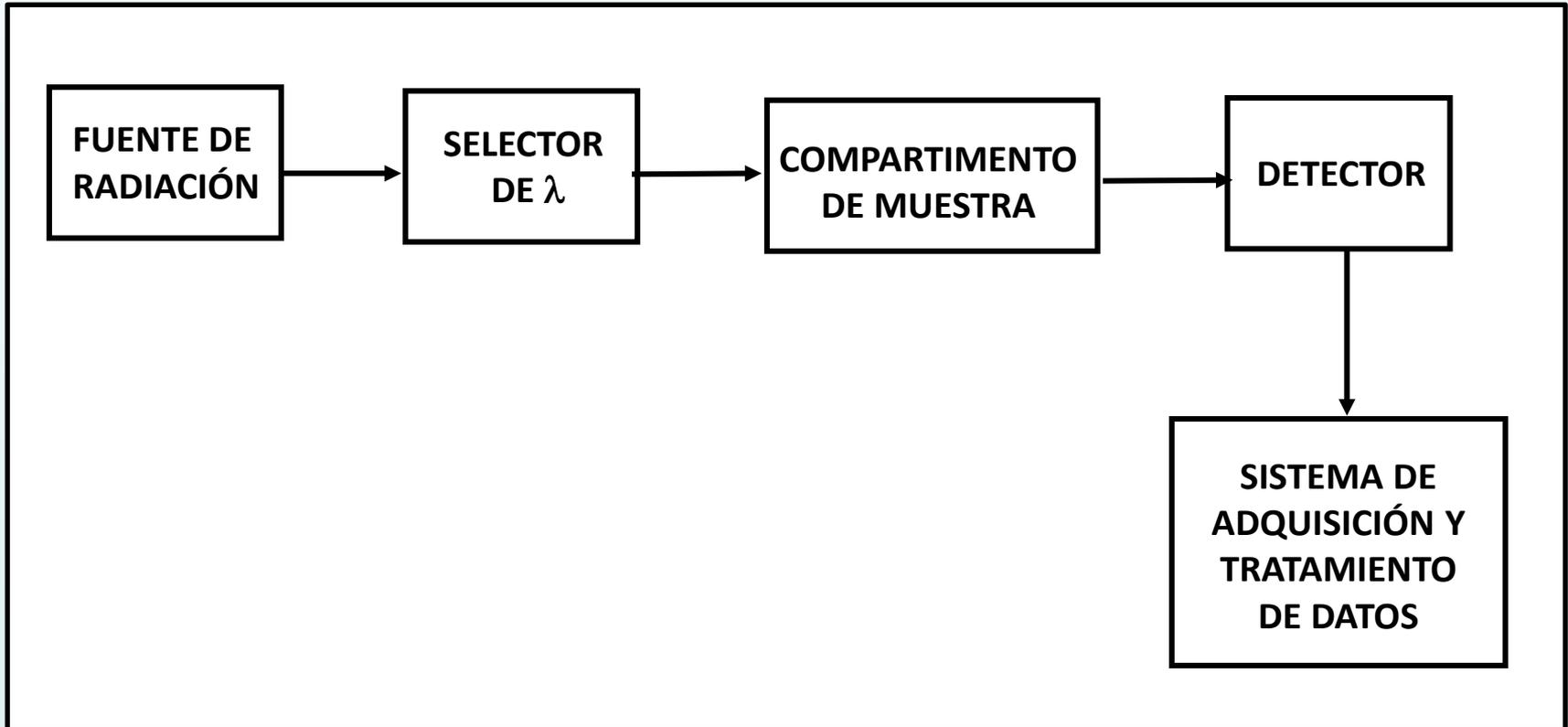
Se debe generalmente a procesos de dispersión originados por fenómenos de reflexión óptica

Error de lectura

$$0,150 < A < 0,700$$



Instrumentación



Instrumentación

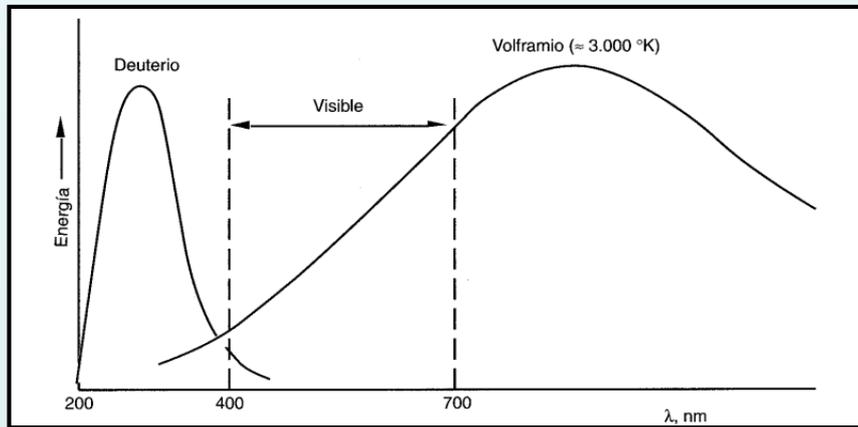
Fuentes de radiación

Fuentes continuas

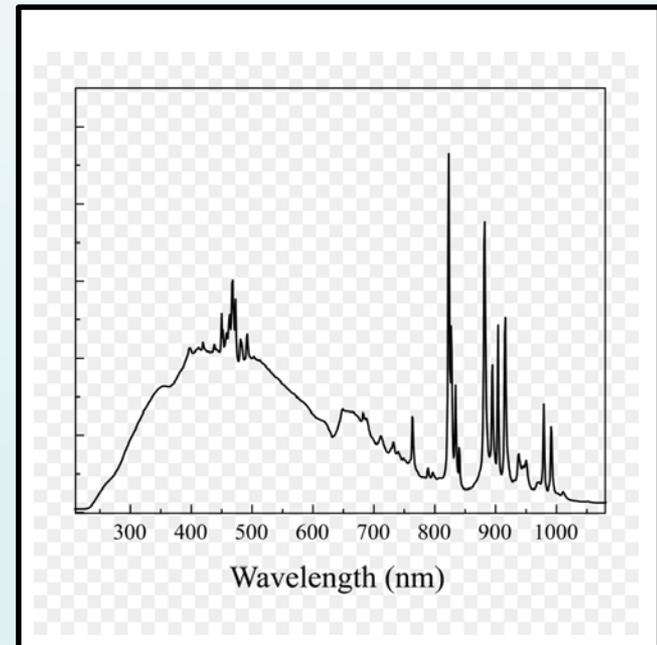
Fuentes térmicas: lámpara de filamento de W o Xe

Fuentes de descarga eléctrica

lámpara de hidrógeno
lámpara de deuterio



Espectros de emisión de las lámparas de deuterio y tungsteno (W)



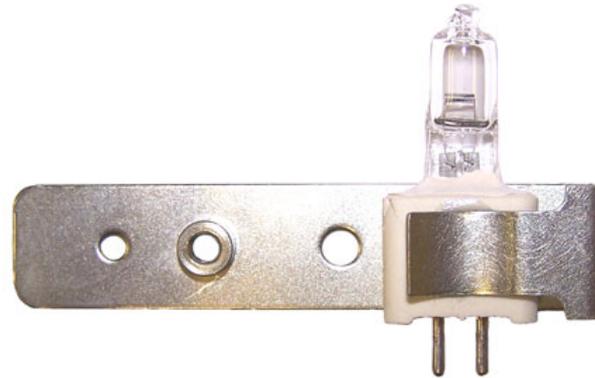
Espectro de emisión de la lámpara de Xe

Instrumentación

Fuentes de radiación



Lámpara de W



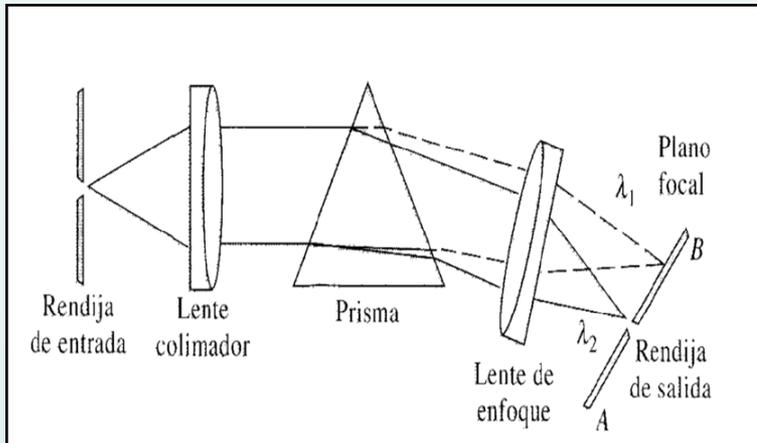
Lámpara de deuterio

Perkin Elmer

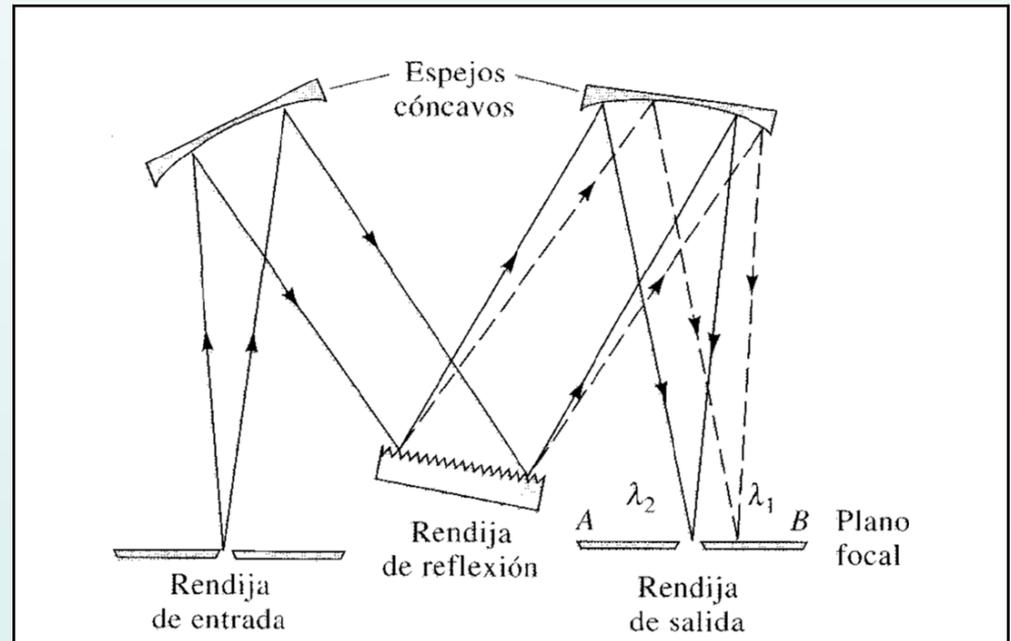
Instrumentación

Selectores de λ

Monocromadores { Prisma
Red de difracción



Monocromador de prisma



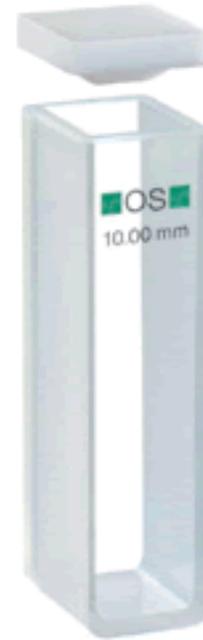
Monocromador de red

Instrumentación

Compartimento de muestras



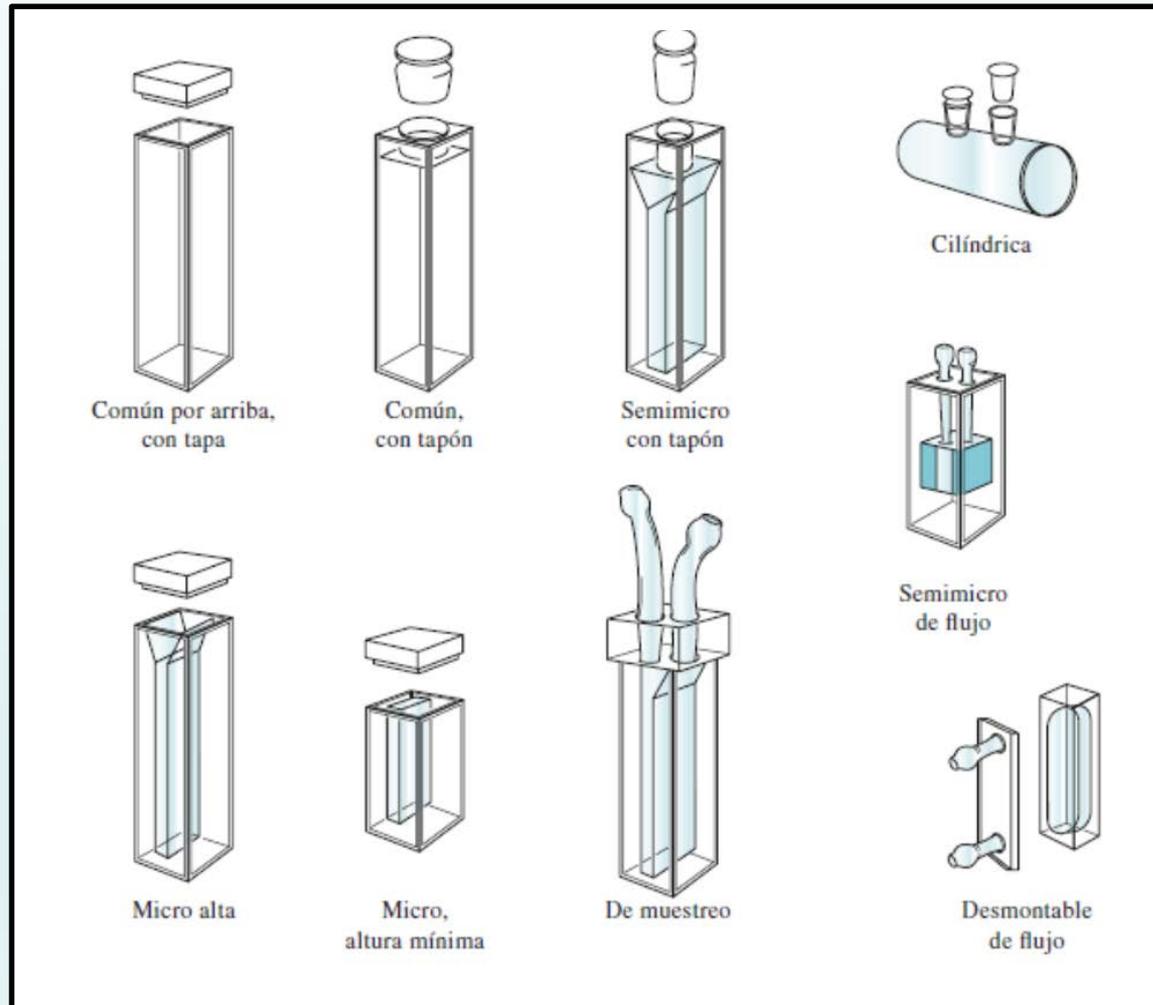
**CUARZO
(UV)**



**VIDRIO o PLÁSTICO
(VIS)**

Instrumentación

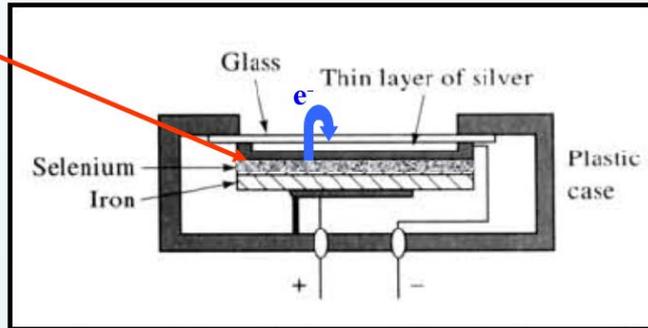
Compartimento de muestras



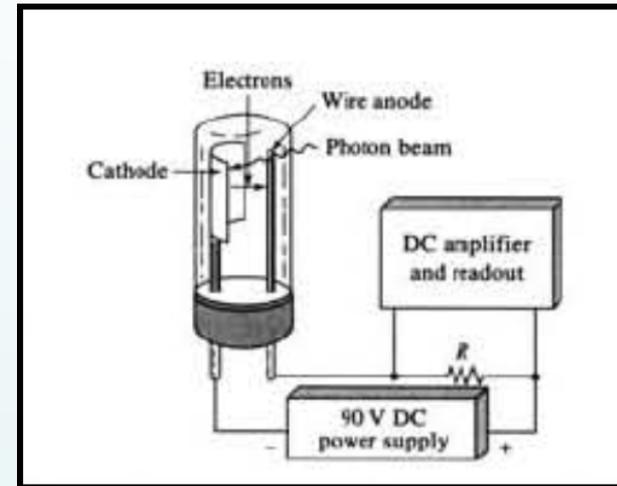
Instrumentación

Tipos de detectores

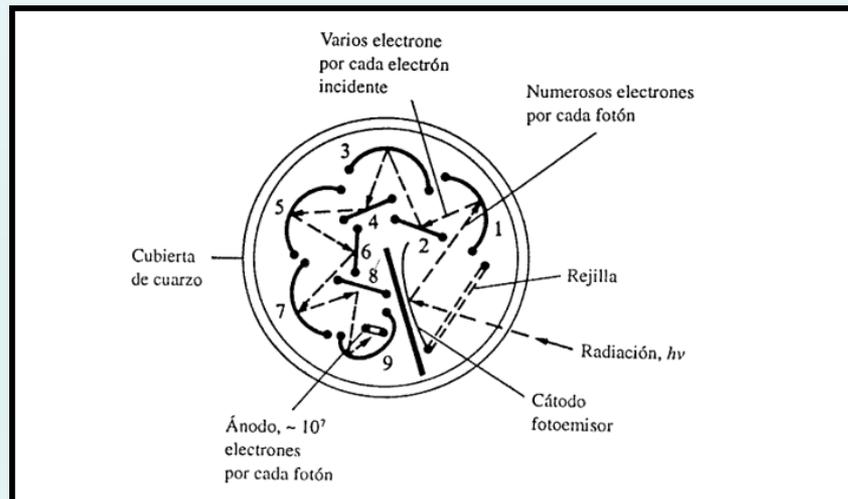
rem



CÉLULA FOTOVOLTAICA



FOTOTUBO



✓ **TUBO FOTOMULTIPLICADOR**

Instrumentación

Tipos de instrumentos

FOTOMETRO: Cualquier dispositivo utilizado para medir la radiación transmitida, en forma de absorbancia. Normalmente se utiliza para designar un instrumento sencillo provisto de **filtros** para seleccionar una banda de longitudes de onda y de una **fotocélula o un fototubo** para medir la intensidad de radiación. No se pueden obtener espectros.

ESPECTROFOTOMETRO: Instrumento que posee un **monocromador** para seleccionar la longitud de onda en lugar de filtros. Además, el sistema de detección normalmente es un **tubo fotomultiplicador**, más sensible que una fotocélula. Es posible obtener los espectros.

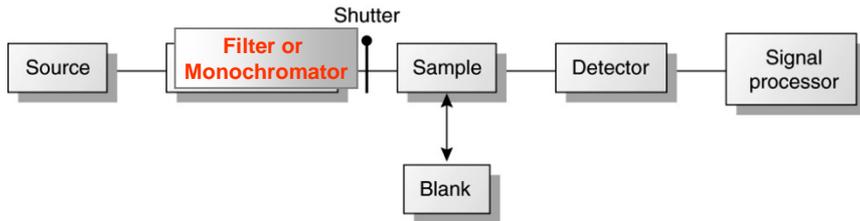
ESPECTROMETRO: Denominación general que se aplica a instrumentos que poseen sistemas de detección eléctricos. Así, un espectrofotómetro es un espectrómetro que mide fotones.

Instrumentación

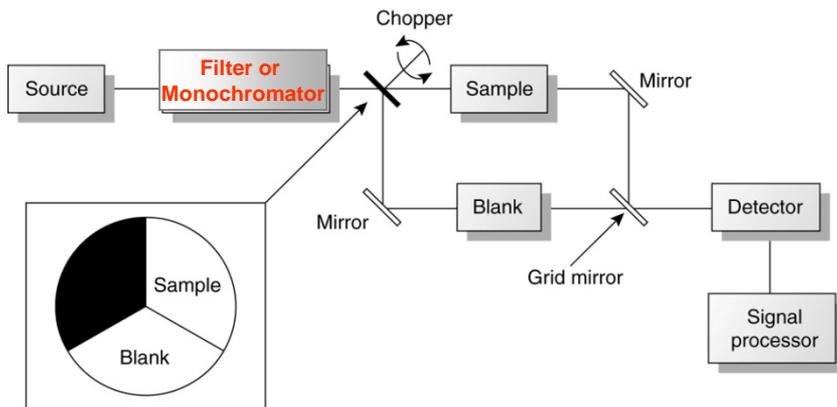
Tipos de instrumentos

FOTÓMETROS Y ESPECTROFOTÓMETROS

- Haz sencillo

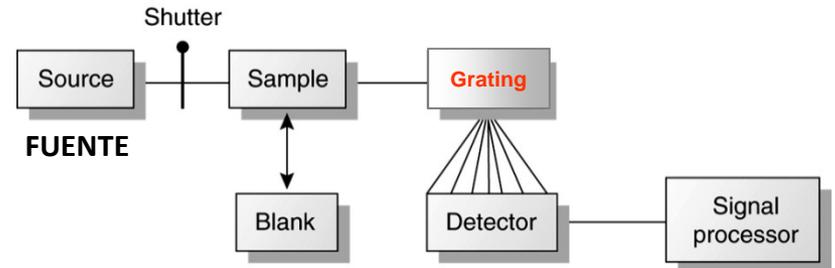


- Doble haz



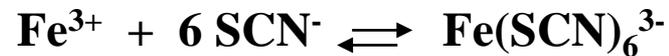
ESPECTRÓMETROS MULTICANAL

- Detección con filas de fotodiodos (Diode Array)



QUE ESPECIES ABSORBEN RADIACIÓN UV-VIS?

Para que un determinado compuesto sea capaz de absorber luz en esta región del espectro debe poseer la estructura de un **grupos cromóforos**, responsables de las transiciones electrónicas. Si las moléculas no poseen grupos cromóforos, pueden convertirse en especies absorbentes por **métodos de derivatización** (reacciones químicas). Cambios de disolvente, pH, etc, producen desplazamientos de los espectros de absorción de acuerdo a la siguiente terminología:



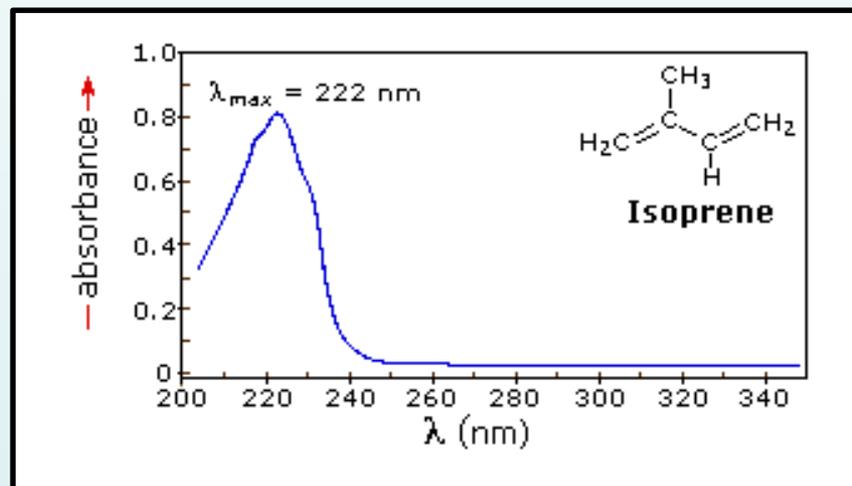
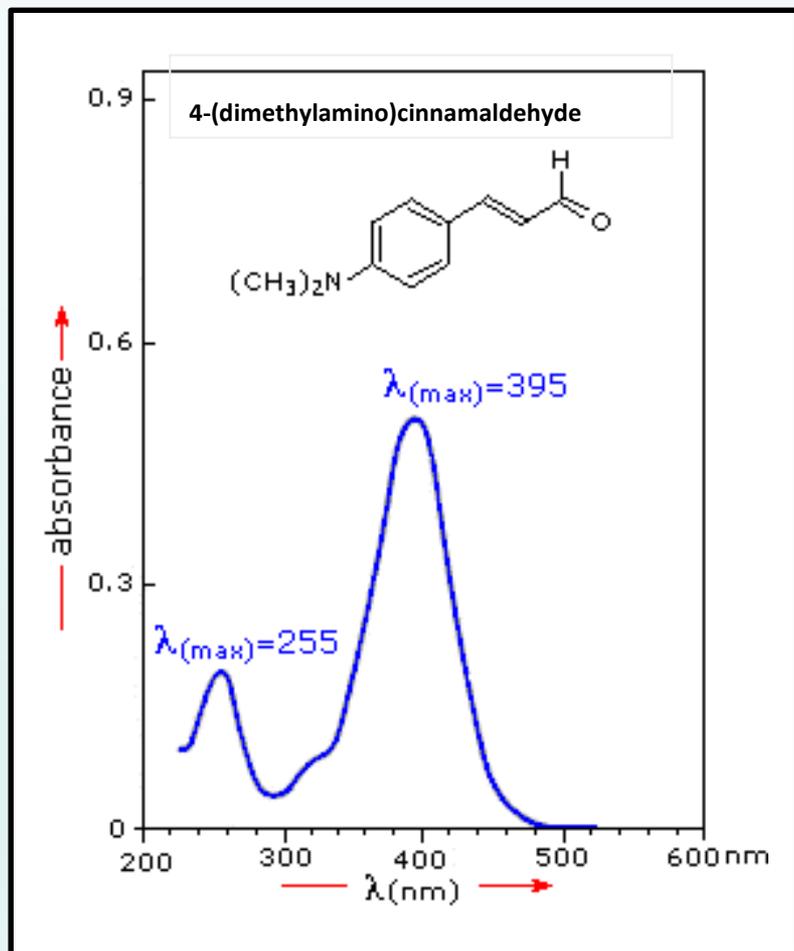
- *Efecto batocrómico*: desplazamiento de los máximos de absorción a longitudes de onda mayores.
- *Efecto hipsocrómico*: desplazamiento de los máximos de absorción a longitudes de onda menores.

✓ Absorción por compuestos orgánicos

La absorción de la radiación por parte de las moléculas orgánicas en la región de las longitudes de onda de entre 180 y 780 nm es el resultado de las interacciones entre los fotones y electrones que participan directamente en la formación de enlaces o que están localizados alrededor de átomos como el oxígeno, azufre, nitrógeno y halógenos.

- La longitud de onda de absorción de una molécula orgánica depende de cómo están enlazados sus electrones. Los electrones compartidos en los enlaces sencillos C-C o C-H están unidos de manera tan fuerte que su excitación requiere energías correspondientes a longitudes de onda en la región ultravioleta del vacío, $\lambda < 180$ nm.
- Los electrones en enlaces dobles y triples de moléculas orgánicas no están unidos tan fuertemente y, por tanto, son más fáciles de excitar por la rem. Por lo tanto, las especies químicas con enlaces insaturados presentan bandas de absorción útiles.

✓ Absorción por compuestos orgánicos



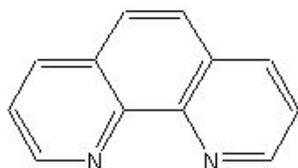
✓ **Absorción por compuestos inorgánicos**

En general, los iones y complejos de elementos de las dos primeras series de transición absorben radiación visible en al menos uno de sus estados de oxidación. Como resultado de ello, estos compuestos presentan coloración.

- *Absorción de transferencia de carga*

Un complejo de transferencia de carga es una especie química fuertemente absorbente que está formada por especies químicas donadoras de electrones que están enlazadas a una especie química aceptora de electrones.

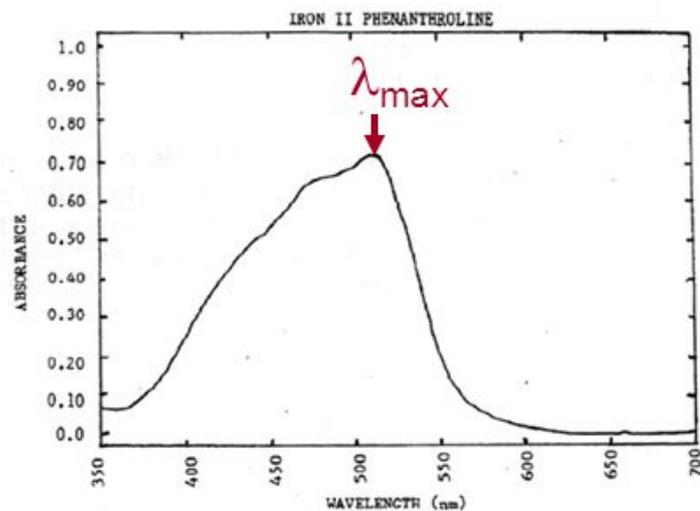
Aplicaciones de la Espectrofotometría UV-Vis



1,10-Phenanthroline



orange-red
complex



Visible spectrum of (phen)₃Fe(II)

Aplicaciones de la Espectrofotometría UV-Vis

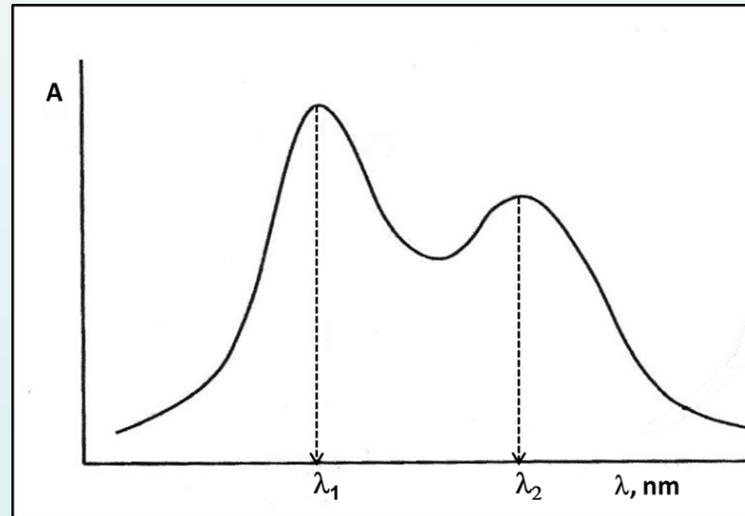
- ANÁLISIS CUALITATIVO: Identificación de grupos cromóforos, aunque con baja selectividad desde un punto de vista analítico.

- ANÁLISIS CUANTITATIVO:
 - Método del patrón externo
 - Método de adiciones patrón
 - *ANÁLISIS DE MEZCLAS*

Hoja de problemas 1

ANÁLISIS CUANTITATIVO

- Preparar una disolución patrón del analito a una determinada concentración
- Preparar la disolución del blanco
- Corregir la señal del blanco en un amplio intervalo de longitudes de onda
- Obtener el espectro de absorción molecular de la disolución patrón del analito en el mismo intervalo de λ de la etapa anterior



- De acuerdo al espectro obtenido elegir la longitud de onda de medida que, generalmente corresponderá con aquella que presente mayor valor de absorbancia

ANÁLISIS CUANTITATIVO

- Si es preciso, estudiar aquellas variables que puedan afectar al espectro de absorción, como pH, temperatura, concentración de ligandos, etc
- Mediante el método de calibración del patrón externo o recta de calibrado, obtener las características analíticas del método: sensibilidad, LOD, LOQ, intervalo lineal, robustez
- Estudiar si existen interferencias de matriz. Si estas existen la cuantificación del analito en las muestras se realizará mediante el método de adiciones patrón. En caso contrario, se podrá aplicar el método del patrón externo

¿CALIDAD DE LOS RESULTADOS? SI



¿CALIDAD DE LOS RESULTADOS? NO



ANÁLISIS CUANTITATIVO

- CAMPO DE APLICACIÓN ELEVADO: Hay muchas especies orgánicas, inorgánicas (y bioquímicas) que absorben luz en la región UV-Vis del espectro. Si no hay grupos cromóforos se realiza una derivatización por vía química.
- SENSIBILIDAD ADECUADA: LOD entre 10^{-4} y 10^{-5} mol L⁻¹
- SELECTIVIDAD MODERADA: interferencias espectrales
- BUENA EXACTITUD: errores relativos en la concentración entre 1 y 5 %.
- INSTRUMENTACIÓN “SIMPLE”.

Completar la tabla siguiente:

A	% T	ϵ L mol ⁻¹ cm ⁻¹	b cm	C mol L ⁻¹	C mg L ⁻¹
0,172		4,23x10 ³	1,00		
	39,6	1,82x10 ⁴			1,76
	83,6		1,00	8,07x10 ⁻⁶	

DATO: Mr del compuesto = 200 g mol⁻¹