



## Capítulo 14

### Aplicaciones de la espectrometría de absorción molecular ultravioleta/visible

**L**as medidas de absorción de radiación ultravioleta y visible tienen una gran aplicación en la identificación y determinación de una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas<sup>1</sup>. Es probable que los métodos de absorción molecular ultravioleta/visible sean los más utilizados de entre todas las técnicas de análisis cuantitativo en los laboratorios químicos y clínicos a lo largo del mundo.

<sup>1</sup> Algunas referencias útiles en métodos de absorción incluyen: E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2.<sup>a</sup> ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, Eds., Parte 1, Vol. 7, Capítulos 1-3. New York: Wiley, 1981; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; F. Grum, en *Physical Methods of Chemistry*, A. Weissberger y B. W. Rossiter, Eds., Vol. I, Parte III B, Capítulo 3. New York: Wiley-Interscience, 1972; H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; G. F. Lothian, *Absorption Spectrophotometry*, 3.<sup>a</sup> ed. London: Adam Hilger Ltd., 1969; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Capítulo 13. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.

#### 14A. LA MAGNITUD DE LAS ABSORTIVIDADES MOLARES

Empíricamente, en espectrometría de absorción molecular ultravioleta y visible se observan absorptividades molares que van desde cero hasta un máximo del orden de  $10^5$ . Para un pico particular, la magnitud de  $\epsilon$  depende de la sección transversal de captura (página 324) de las especies y de la probabilidad de que tenga lugar una transición al absorber energía. Se ha demostrado que la relación entre  $\epsilon$  y estas variables es

$$\epsilon = 8,7 \times 10^{19} PA$$

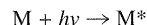
donde  $P$  es la probabilidad de la transición y  $A$  el área de la sección transversal de la molécula en centímetros cuadrados<sup>2</sup>. A partir de estudios de difracción de electrones y de rayos X se ha estimado que el área para las moléculas orgánicas típicas es aproximadamente de  $10^{-15} \text{ cm}^2$ , mientras que las probabilidades de la transición varían de cero a uno. Para las transiciones permitidas según la mecánica cuántica que dan lugar a bandas de absorción intensas ( $\epsilon_{\text{máx}} = 10^4$  a  $10^5$ ), los valores de  $P$

<sup>2</sup> E. A. Braude, *J. Chem. Soc.*, **1950**, 379.

están comprendidos entre 0,1 y 1. Los picos que tienen absorptividades molares menores de  $10^3$  se clasifican como de baja intensidad. Son el resultado de las llamadas transiciones prohibidas, que tienen una probabilidad de suceder menor de 0,01.

## 14B. ESPECIES ABSORBENTES

La absorción de radiación ultravioleta o visible por una especie atómica o molecular M se puede considerar como un proceso de dos etapas, la primera de ellas consiste en una excitación electrónica como se muestra en la ecuación



El producto de la reacción entre M y el fotón  $h\nu$  es una especie excitada electrónicamente simbolizada por  $M^*$ . El tiempo de vida de la especie excitada es breve ( $10^{-8}$  a  $10^{-9}$  s), su existencia se termina por alguno de los distintos procesos de *relajación*. La forma de relajación más común supone la conversión de la energía de excitación en calor; es decir,



La relajación puede ocurrir también por la descomposición de  $M^*$  para dar lugar a nuevas especies; dicho proceso se denomina *reacción fotoquímica*. En otros casos la relajación puede suponer la reemisión de fluorescencia o fosforescencia. Es importante destacar que el tiempo de vida de  $M^*$  es, generalmente, tan pequeño que su concentración en cualquier momento es normalmente despreciable. Además, la cantidad de energía térmica desarrollada en la relajación no es, habitualmente, detectable. Por ello, las medidas de absorción crean una mínima perturbación del sistema en estudio excepto cuando tiene lugar la descomposición fotoquímica.

La absorción de radiación ultravioleta o visible resulta, generalmente, de la excitación de los electrones de enlace; como consecuencia, los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de las especies objeto de estudio. La espectroscopia de absorción molecular es, por tanto, válida para identificar grupos funcionales en una molécula. Más importante, sin embargo, son las aplicaciones de la espectroscopia de absorción ul-

travioleta y visible en la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes.

Para los objetivos de esta discusión, es útil reconocer tres tipos de transiciones electrónicas y clasificar las especies absorbentes sobre esta base. Dichas transiciones incluyen (1) electrones  $\pi$ ,  $\sigma$  y  $n$ , (2) electrones  $d$  y  $f$ , (3) electrones de transferencia de carga.

### 14B-1. Especies absorbentes que contienen electrones $\pi$ , $\sigma$ y $n$

Las especies absorbentes que contienen electrones  $\pi$ ,  $\sigma$  y  $n$  incluyen iones y moléculas orgánicas, así como algunos aniones inorgánicos. Nuestra discusión tratará especialmente de las primeras, aunque también se hará una breve mención a la absorción por ciertos sistemas inorgánicos.

Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética porque todos contienen electrones de valencia que pueden ser excitados a niveles de energía superiores. La energía de excitación asociada con los electrones que constituyen la mayoría de los enlaces sencillos es lo suficientemente alta para que su absorción quede restringida a la región conocida como ultravioleta de vacío ( $\lambda < 185$  nm), donde también absorben intensamente los componentes de la atmósfera. Las dificultades experimentales asociadas con el ultravioleta de vacío son significativas; como resultado de ello, la mayoría de las investigaciones espectrofotométricas de compuestos orgánicos se han realizado en la región de longitudes de onda superiores a 185 nm. La absorción de radiación visible y ultravioleta de longitud de onda larga está restringida a un número limitado de grupos funcionales (llamados *cromóforos*) que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas.

Los espectros electrónicos de moléculas orgánicas que contienen cromóforos son, en general, complejos porque la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas conduce a una compleja combinación de líneas solapadas; el resultado es una banda de absorción ancha que a menudo parece ser continua. La compleja naturaleza de los espectros hace difícil o imposible el análisis teórico detallado. No obstante, a partir de consideraciones sobre los orbitales moleculares se pueden obtener conclusiones concier-

nientes a este tipo de transiciones electrónicas, responsables de un espectro de absorción dado.

### Tipos de electrones absorbentes<sup>3</sup>

Los electrones que contribuyen a la absorción por una molécula orgánica son: (1) aquellos que participan directamente en la formación del enlace entre átomos y, por tanto, se asocian con más de un átomo; (2) electrones no enlazantes o electrones que no participan en ningún enlace que están en gran parte localizados alrededor de átomos como oxígeno, halógenos, azufre y nitrógeno.

Los enlaces covalentes se forman porque los electrones que constituyen el enlace se mueven en la zona que rodea a los dos centros atómicos de tal forma que minimizan las fuerzas de repulsión de Coulomb entre estos centros. Las zonas no localizadas entre los átomos que están ocupadas por los electrones enlazantes se llaman *orbitales moleculares* y pueden considerarse como el resultado del solapamiento de los orbitales atómicos. Cuando se combinan dos orbitales atómicos se origina un *orbital molecular enlazante* de baja energía y un *orbital molecular antienlazante* de alta energía. Los electrones de la molécula en estado fundamental ocupan el primero.

Los orbitales moleculares asociados con los enlaces sencillos, en las moléculas orgánicas, se designan como *orbitales sigma* ( $\sigma$ ), y los electrones correspondientes son electrones  $\sigma$ . Como se muestra en la Figura 14-1, la distribución de la densidad de carga de un orbital sigma es rotacionalmente simétrica alrededor del eje del enlace. Aquí, la densidad de carga negativa promedio que surge del movimiento de los dos electrones alrededor de los dos núcleos positivos se indica por la intensidad del sombreado.

El doble enlace en una molécula orgánica contiene dos tipos de orbitales moleculares: un orbital *sigma* ( $\sigma$ ) correspondiente a un par de electrones enlazantes y un *orbital molecular pi* ( $\pi$ ) asociado con el otro par. Los *orbitales pi* se forman por el solapamiento paralelo de orbitales *p* atómicos. Su distribución de carga se caracteriza por un *plano*

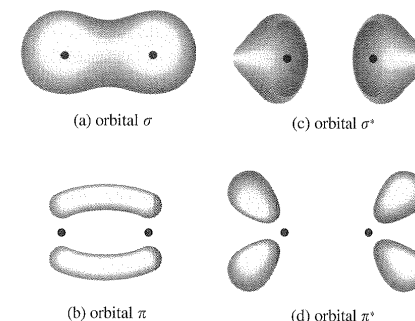


Figura 14-1. Distribución electrónica de los orbitales moleculares sigma y pi.

*nodal* (una región de baja densidad de carga) a lo largo del eje del enlace y una densidad máxima en las regiones superior e inferior al plano (véase Figura 14-1b).

También se muestran, en las Figuras 14-1c y 14-1d las distribuciones de densidad de carga de los orbitales sigma y pi antienlazantes; estos orbitales se designan por  $\sigma^*$  y  $\pi^*$ .

Además de los electrones  $\sigma$  y  $\pi$ , muchas moléculas orgánicas contienen electrones no enlazantes. Estos electrones, que no participan en ningún enlace, se designan con el símbolo  $n$ . En la Figura 14-2 se muestra un ejemplo en el que aparecen los tres tipos de electrones.

Como se muestra en la Figura 14-3, la energía para los distintos tipos de orbitales moleculares difiere significativamente. Con bastante frecuencia, el nivel de energía de un electrón no enlazante se encuentra entre niveles de energía de los orbitales  $\pi$  y  $\sigma$  enlazantes y antienlazantes. Las transiciones electrónicas entre los distintos niveles de energía se pueden producir por absorción de radiación. Como se muestra en la Figura 14-3, son posibles cuatro tipos de transiciones:  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ , y  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

**Transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .** En este caso, un electrón de un orbital  $\sigma$  enlazante de una molécula se excita



Figura 14-2. Tipos de orbitales moleculares en el formaldehído.

<sup>3</sup> Para más detalles, véase H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*. New York: Wiley, 1962; C. N. R. Rao, *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy: Chemical Applications*, 3.<sup>a</sup> ed. London: Butterworths, 1975; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*, Capítulos 6 y 8. New York: Wiley, 1962; R. M. Silverstein, G. C. Bassler, y T. C. Merrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.<sup>a</sup> ed., Capítulo 7. New York: Wiley, 1991.

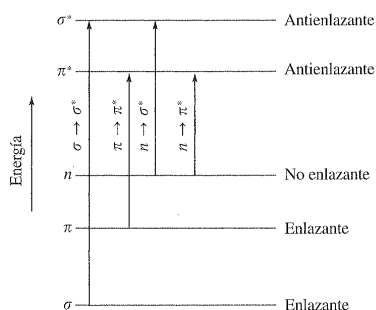


Figura 14-3. Niveles de energía electrónica de los orbitales moleculares

al correspondiente orbital antienlazante mediante la absorción de radiación. Entonces se dice que la molécula se encuentra en el estado excitado  $\sigma, \sigma^*$ . Comparando con otras posibles transiciones, la energía requerida para que tenga lugar la transición  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  es grande (véase la primera flecha en la Figura 14-3), correspondiendo a una frecuencia radiante de la región ultravioleta de vacío. El metano, por ejemplo, que sólo contiene enlaces sencillos C—H y que sólo puede sufrir transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  presenta un máximo de absorción a 125 nm. El etano tiene un pico de absorción a 135 nm, que también debe de surgir del mismo tipo de transición, pero aquí los electrones del enlace C—C parecen estar involucrados. Como la fuerza del enlace C—C es menor que la del enlace C—H, se requiere menos energía para la excitación; por ello, el pico de absorción aparece a mayor longitud de onda.

Los máximos de absorción debidos a las transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  nunca se observan en la región ultravioleta comúnmente accesible; por esta razón, no se dedicará ninguna discusión adicional para este tipo de absorción.

**Transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$ .** Los compuestos saturados que contienen pares de electrones no compartidos (electrones no enlazantes) son capaces de sufrir transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$ . En general, estas transiciones requieren menos energía que las del tipo  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  y se pueden producir por radiación de la región comprendida entre 150 y 250 nm, apareciendo, la mayoría de los picos de absorción, por debajo de 200 nm. La Tabla 14-1 muestra los datos de absorción de algunas transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$  características. Se puede ver que los requerimientos energéticos para dichas transiciones dependen fundamentalmen-

TABLA 14-1. Algunos ejemplos<sup>a</sup> de absorción debidos a transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$

Compuesto	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\epsilon_{\text{máx}}$
H <sub>2</sub> O	167	1.480
CH <sub>3</sub> OH	184	150
CH <sub>3</sub> Cl	173	200
CH <sub>3</sub> I	258	365
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S <sup>b</sup>	229	140
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O	184	2.520
CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	215	600
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N	227	900

<sup>a</sup> Muestras en estado vapor.

<sup>b</sup> En etanol como disolvente.

te de la clase de enlace, y en menor medida de la estructura de la molécula. Las absorptividades molares asociadas a este tipo de absorción son de magnitud baja e intermedia y normalmente se encuentran entre 100 y 3.000 L cm<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>.

Los máximos de absorción para las transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$  tienden a desplazarse hacia longitudes de onda más cortas en presencia de disolventes polares como agua o etanol. El número de grupos funcionales orgánicos con picos  $n \rightarrow \sigma^*$  en la región ultravioleta de fácil detección es relativamente pequeño.

**Transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$ .** La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones  $n$  y  $\pi$  al estado excitado  $\pi^*$  porque la energía requerida para estos procesos produce picos de absorción dentro de una región espectral experimentalmente accesible (200 a 700 nm). Ambas transiciones requieren la presencia de grupos funcionales no saturados que aportan los electrones  $\pi$ . Estrictamente hablando, es a estos centros absorbentes no saturados a los que se les aplica el término de cromóforos.

Las absorptividades molares para los picos asociados con la excitación al estado  $n, \pi^*$  son, generalmente bajas y normalmente se encuentran entre 10 y 100 L cm<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>; por otra parte, los valores para las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  normalmente oscilan entre 1.000 y 10.000. Otra diferencia característica de los dos tipos de absorción es el efecto que ejerce el disolvente sobre la longitud de onda de los picos. Los picos asociados con transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  generalmente se desplazan hacia longitudes de onda más cortas (*desplazamiento hipsocrómico o hacia*

*el azul*), cuando aumenta la polaridad del disolvente. Normalmente, aunque no siempre, se observa la tendencia opuesta en las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  (*desplazamiento batocrómico o hacia el rojo*). El efecto hipsocrómico surge, aparentemente, de una mayor solvatación del par de electrones no enlazantes que disminuye la energía del orbital  $n$ . Los efectos de este tipo más drásticos (desplazamiento hacia el azul de 30 nm o más) se observan con disolventes polares próticos, como agua o alcohol, en los cuales es frecuente la formación de enlaces de hidrógeno entre los protones del disolvente y el par de electrones no enlazantes. En este caso, la energía de los orbitales  $n$  desciende en una cantidad aproximadamente igual a la energía del enlace de hidrógeno. Sin embargo, cuando tiene lugar una transición  $n \rightarrow \pi^*$ , el único electrón  $n$  que queda no puede mantener el enlace de hidrógeno; así, la energía del estado excitado  $n, \pi^*$ , no se ve afectada por este tipo de interacción con el disolvente. Por tanto, se observa un desplazamiento hacia el azul, que corresponde aproximadamente a la energía del enlace de hidrógeno.

Un segundo efecto del disolvente que indudablemente influye en ambas transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  y  $n \rightarrow \pi^*$  lleva a un desplazamiento batocrómico cuando aumenta la polaridad del disolvente. Este efecto es pequeño (normalmente menor de 5 nm) y como resultado, está completamente solapado por el efecto hipsocrómico, ya discutido, en el caso de las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$ . Con el efecto batocrómico, las fuerzas de polarización atractivas entre el disolvente y el absorbente tienden a disminuir los niveles de energía de ambos estados, excitado y no excitado. Sin embargo, el efecto sobre el estado excitado es mayor y, como consecuencia, las diferencias de energía se hacen menores cuando aumenta la polaridad del disolvente; resultando pequeños desplazamientos batocrómicos.

### Cromóforos orgánicos

La Tabla 14-2 enumera los cromóforos orgánicos comunes y la localización aproximada de sus máximos de absorción. Estos datos pueden servir sólo como orientación para la identificación de grupos funcionales, porque las posiciones de los máximos se ven afectadas por el disolvente y la estructura de las moléculas que contienen los cromóforos. Además, los picos son normalmente anchos debido a los efectos vibracionales; la determinación precisa de la posición de un máximo es, por tanto, difícil.

Los espectros que aparecen en la Figura 14-4 son típicos de muchos compuestos orgánicos.

### Efecto de la conjugación de los cromóforos

En la teoría de los orbitales moleculares, se considera que los electrones  $\pi$  están deslocalizados por conjugación; los orbitales, por tanto, incluyen cuatro (o más) centros atómicos. El efecto de esta deslocalización es el descenso del nivel de energía del orbital  $\pi^*$ , dotándole de menos carácter antienlazante. Como consecuencia, los máximos de absorción se desplazan hacia longitudes de onda más largas.

Como se ve en la Tabla 14-3 la absorción de los multicromóforos en una molécula orgánica sencilla, es aproximadamente aditiva, siempre que los cromóforos estén separados entre sí por más de un enlace sencillo. Sin embargo, la conjugación de cromóforos tiene un profundo efecto sobre las propiedades espectrales. Por ejemplo, en la Tabla 14-3 se ve que el 1,3-butadieno, CH<sub>2</sub>=CHCH=CH<sub>2</sub>, tiene una banda de absorción intensa que se desplaza 20 nm hacia longitudes de onda más largas si se compara con el pico correspondiente a un dieno no conjugado. Cuando los dobles enlaces conjugados son tres, el efecto batocrómico es aún mayor.

La conjugación entre el doble enlace del oxígeno de los aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos y un doble enlace olefínico da lugar a un comportamiento similar (véase Tabla 14-3). También se observan efectos análogos cuando dos grupos carbonilos o carboxilatos están conjugados entre sí. Para los aldehídos y cetonas  $\alpha, \beta$  insaturados, el débil pico de absorción correspondiente a las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  se desplaza 40 nm o más hacia longitudes de onda más largas. Además, aparece un pico de absorción intenso correspondiente a la transición  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Este último pico sólo aparece en la región ultravioleta de vacío si el grupo carbonilo no está conjugado.

Las longitudes de onda de los picos de absorción para los sistemas conjugados son sensibles a la naturaleza de los grupos unidos a los átomos que forman el doble enlace. Se han desarrollado varias reglas empíricas para predecir el efecto de dichos sustituyentes en los máximos de absorción que han demostrado su utilidad para las determinaciones estructurales<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> Para un resumen de estas reglas, véase R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.ª ed., págs. 295-315. New York: Wiley, 1991.

TABLA 14-2. Características de absorción de algunos cromóforos comunes

Cromóforo	Ejemplo	Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$	Tipo de transición
Alqueno	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptano	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alquino	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	<i>n</i> -Heptano	178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2.000	—
			225	160	—
Carbonilo	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$	<i>n</i> -Hexano	186	1.000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{OH}$	<i>n</i> -Hexano	180	grande	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{OH}$	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$	Agua	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	$\text{CH}_3\text{NO}_2$	Isooctano	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Etil éter	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrato	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxano	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

### Absorción por sistemas aromáticos

Los espectros ultravioleta de los hidrocarburos aromáticos se caracterizan por tres grupos de bandas cuyo origen son las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Por ejemplo, el benceno presenta un pico de absorción intenso a 184 nm ( $\epsilon_{\text{máx}} \approx 60.000$ ), una banda débil, llamada la banda  $E_2$ , a 204 nm ( $\epsilon_{\text{máx}} = 7.900$ ) y un pico aún más débil, denominado banda B, a 256 nm ( $\epsilon_{\text{máx}} = 200$ ). Las bandas de las longitudes de onda largas del espectro del vapor de benceno, de la 1,2,4,5-tetracina en fase vapor (véase Fig. 14-5a), y de muchos otros compuestos aromáticos contienen una serie de picos agudos que se deben a la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas básicas. Como se muestra en la Figura 14-5, los disolventes tienden a reducir (o a eliminar, a veces) esta estructura fina como lo hacen ciertos tipos de sustitución.

Las tres bandas características del benceno se ven muy afectadas por la sustitución del anillo; los efectos sobre las bandas de las dos longitudes de onda más largas tienen un interés especial porque pueden estudiarse con un equipo espectrofotométrico común. La Tabla 14-4 ilustra los efectos de algunos sustituyentes del anillo bencénico habituales.

Por definición, un *auxocromo* es un grupo funcional que no absorbe en la región ultravioleta pero que tiene el efecto de desplazar los picos del cromóforo hacia longitudes de onda más largas, así como de incrementar sus intensidades. En la Tabla 14-4 se ve que  $-\text{OH}$  y  $-\text{NH}_2$  tienen un efecto auxocrómico sobre el cromóforo benceno, particularmente en relación con la banda B. Los sustituyentes auxocrómicos tienen, al menos, un par de electrones  $n$  capaces de interactuar con los electrones  $\pi$  del anillo. Esta interacción tiene, aparentemente, el efecto de estabilizar el estado  $\pi^*$ , dismi-

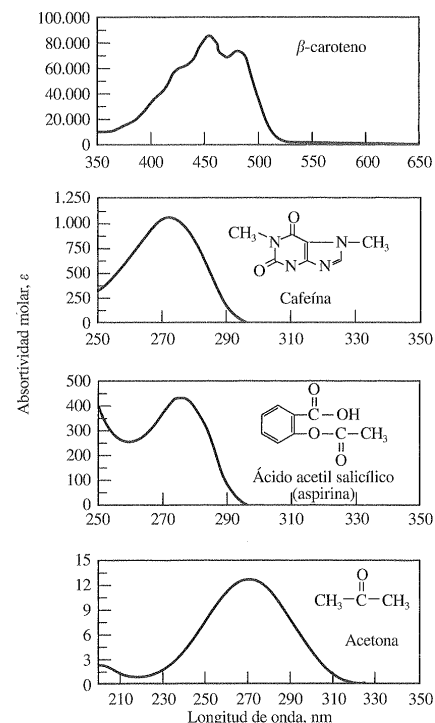


Figura 14-4. Espectros ultravioleta de compuestos orgánicos representativos.

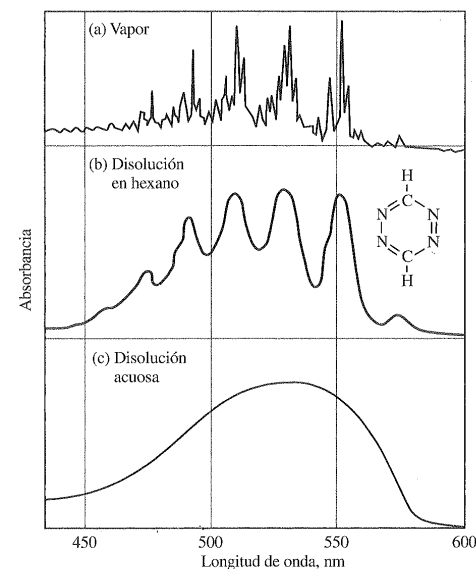


Figura 14-5. Espectros de absorción ultravioleta para la 1,2,4,5-tetracina (a) vapor, (b) disuelto en hexano y (c) en disolución acuosa. (De S. F. Mason, J. Chem. Soc., 1959, 1265. Con permiso.)

### 14B-2. Absorción en la que participan los electrones $d$ y $f$

La mayoría de los iones de los metales de transición absorben en la región ultravioleta o visible del espectro. Para la serie de lantánidos y actínidos, los procesos de absorción son el resultado de transiciones electrónicas de los electrones  $4f$  y  $5f$ ; para los elementos de la primera y segunda serie de los metales de transición, los electrones responsables son los  $3d$  y  $4d$ .

#### Absorción por iones lantánidos y actínidos

Los iones de la mayoría de los elementos lantánidos y actínidos absorben en las regiones ultravioleta y visible. A diferencia del comportamiento de la mayoría de los absorbentes inorgánicos y orgánicos, sus espectros están formados por picos de absorción característicos, bien definidos y estrechos, que se ven muy poco afectados por el tipo de ligando asociado con el ion metálico. En la Figura 14-6

nuyendo, de ese modo, su energía; el resultado es un desplazamiento batocrómico. Obsérvese que el efecto auxocrómico es más pronunciado para el anión fenolato que para el propio fenol, probablemente debido a que el anión tiene un par extra de electrones no compartidos que contribuyen en la interacción. Por otra parte, con la anilina, los electrones no enlazantes se han perdido al formarse el catión anilinio, y, como consecuencia, el efecto auxocrómico desaparece.

#### Absorción por aniones inorgánicos

Algunos aniones inorgánicos presentan picos de absorción ultravioleta que son consecuencia de las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$ . Como ejemplos se incluyen los iones nitrato (313 nm), carbonato (217 nm), nitrito (360 y 280 nm), azida (230 nm) y tritiocarbonato (500 nm).

TABLA 14-3. Efecto de los multicromóforos en la absorción

Compuesto	Tipo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Olefina	184	$\approx 10.000$
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Diolefina (no conjugada)	185	$\approx 20.000$
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Diolefina (conjugada)	217	21.000
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Triolefina (conjugada)	250	—
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$	Cetona	282	27
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$	Cetona insaturada (no conjugada)	278	30
$\text{CH}_2=\text{CHC}(=\text{O})\text{CH}_3$	$\alpha,\beta$ -cetona insaturada (conjugada)	324	24
		219	3.600

se muestran los espectros característicos de cuatro lantánidos.

Las transiciones responsables de la absorción de los elementos de la serie de los lantánidos parecen involucrar los distintos niveles de energía de los electrones  $4f$ , mientras que en la serie de los actínidos son los electrones  $5f$  los que interactúan con la radiación. Estos orbitales internos están muy protegidos de las influencias externas por los orbitales ocupados por electrones con mayores números cuánticos principales. Como consecuencia, las bandas son estrechas y no se ven relativamente

afectadas por la naturaleza del disolvente o de las especies unidas a los electrones externos.

#### Absorción por los elementos de la primera y la segunda serie de los metales de transición

Los iones y complejos de los 18 elementos de la primera de las dos series de transición tienden a absorber radiación visible en uno, si no en todos, sus estados de oxidación. Sin embargo, al contrario que en los elementos de los lantánidos y actínidos, las bandas de absorción son, con frecuencia, an-

TABLA 14-4. Características de absorción de los compuestos aromáticos

Compuesto		Banda E <sub>2</sub>		Banda B	
		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
Benceno	$\text{C}_6\text{H}_6$	204	7.900	256	200
Tolueno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	207	7.000	261	300
<i>m</i> -Xileno	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$	—	—	263	300
Clorobenceno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$	210	7.600	265	240
Fenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	211	6.200	270	1.450
Ion fenolato	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$	235	9.400	287	2.600
Anilina	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$	230	8.600	280	1.430
Ion anilinio	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_3^+$	203	7.500	254	160
Tiofenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$	236	10.000	269	700
Naftaleno	$\text{C}_{10}\text{H}_8$	286	9.300	312	289
Estireno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CH}_2$	244	12.000	282	450

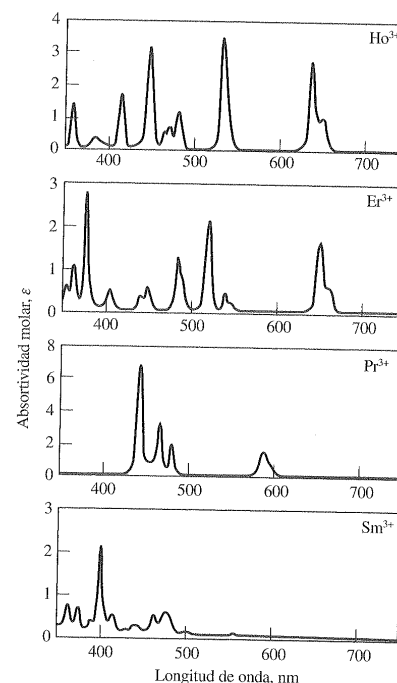


Figura 14-6. Espectros de absorción característicos de iones lantánidos.

chas (Fig. 14-7) y están enormemente influenciadas por los factores químicos del entorno. Un ejemplo del efecto del entorno se encuentra en el color azul pálido del ion cobre(II) acuoso y el color azul, mucho más oscuro, del complejo del cobre con amoníaco.

La serie de los metales de transición se caracteriza por tener cinco orbitales  $d$  parcialmente ocupados ( $3d$  en la primera serie y  $4d$  en la segunda), cada uno de ellos capaces de alojar a un par de electrones. Las características espectrales de los metales de transición suponen transiciones entre los distintos niveles de energía de estos orbitales  $d$ .

Se han propuesto dos teorías para explicar los colores de los iones de los metales de transición y la profunda influencia del entorno químico sobre estos colores. La *teoría del campo cristalino*, que se analizará brevemente, es la más sencilla de las dos teorías y es adecuada para una comprensión cualitativa. Sin embargo, el tratamiento, más com-

plejo, de los orbitales moleculares, proporciona un tratamiento cuantitativo del fenómeno más adecuado<sup>5</sup>.

Ambas teorías se basan en la premisa de que las energías de los orbitales  $d$  de los iones de los metales de transición en disolución no son iguales y que la absorción supone la transición de los electrones de un orbital  $d$  de menor energía a otro de mayor energía. En ausencia de un campo eléctrico o magnético externo (como en el estado gaseoso diluido), las energías de los cinco orbitales  $d$  son idénticas y, un electrón, para pasar de un orbital a otro, no necesita absorber radiación. Por otra parte, cuando tiene lugar la formación de un complejo en disolución entre el ion metálico y el agua o algún otro ligando, surge el desdoblamiento de las energías de los orbitales  $d$ . Este efecto se debe a las diferentes fuerzas de repulsión electrostáticas entre el par de electrones del donador y los electrones en los distintos orbitales  $d$  del ion metálico central. Para entender este desdoblamiento de energías, es necesario considerar la distribución espacial de los electrones en los distintos orbitales  $d$ .

En la Figura 14-8 se muestra la distribución de la densidad electrónica de los cinco orbitales  $d$  alrededor del núcleo. Tres de los orbitales, denominados  $d_{xy}$ ,  $d_{yz}$  y  $d_{zx}$ , son similares en todos los aspectos excepto en su orientación espacial. Obsérvese que estos tres orbitales ocupan los espacios *entre* los tres ejes; como consecuencia, tienen una densidad electrónica mínima a lo largo de los ejes y una densidad máxima en la diagonal entre los ejes. Por el contrario, las densidades electrónicas de los orbitales  $d_{x^2-y^2}$  y  $d_{z^2}$  están dirigidas a lo largo de los ejes.

Consideremos ahora un ion de un metal de transición unido por enlaces de coordinación a seis moléculas de agua. Se puede imaginar que estas moléculas ligandos están distribuidas de forma simétrica alrededor del átomo central, cada ligando localizado al final de los tres ejes que se muestra en la Figura 14-8; la estructura octaédrica resultante es la orientación más común para los complejos de los metales de transición. Los extremos negativos de los dipolos del agua están orientados hacia el ion metálico y los campos eléctricos de estos dipolos tienden a ejercer un efecto repulsivo sobre todos los orbitales  $d$ , de este modo aumentan su energía; entonces se dice que los orbitales han sido

<sup>5</sup> Para una discusión no matemática de estas teorías, véase L. E. Orgel, *An Introduction to Transition Metal Chemistry, Ligand-Field Theory*. New York: Wiley, 1960.

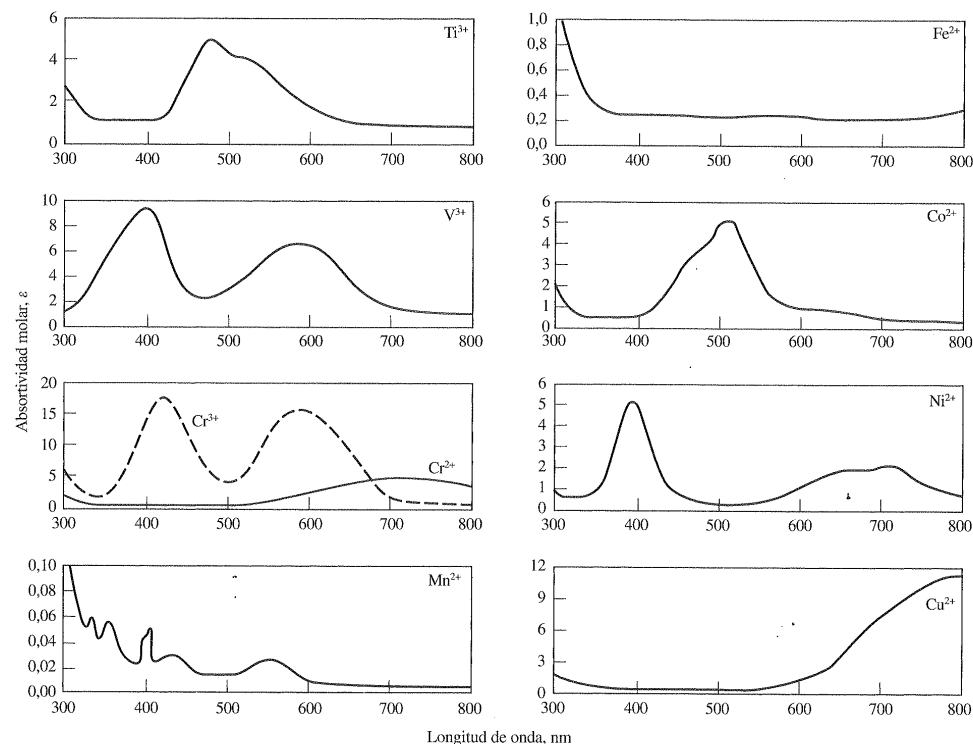


Figura 14-7. Espectros de absorción de algunos iones de metales de transición.

*desestabilizados*. La densidad de carga máxima de los orbitales  $d_{z^2}$  está situada a lo largo de los ejes de unión. El campo negativo de un ligando unido tiene además un efecto mayor sobre este orbital que sobre los orbitales  $d_{xy}$ ,  $d_{xz}$  y  $d_{yz}$ , cuyas densidades de carga no coinciden con los ejes de unión. Estos últimos orbitales se desestabilizarán de la misma forma, puesto que difieren uno de otro sólo en lo que respecta a la orientación. El efecto del campo eléctrico sobre los orbitales  $d_{x^2-y^2}$ , es menos obvio, pero cálculos cuánticos han demostrado que está igualmente desestabilizado que el orbital  $d_{z^2}$ . Así, el diagrama de niveles de energía para la configuración octaédrica (Fig. 14-9) muestra que las energías de todos los orbitales  $d$  aumentan en presencia de un campo ligando pero, además, que los orbitales  $d$  se desdoblan en niveles que difieren en un  $\Delta$  de energía. También se muestran diagramas de energía para complejos con cuatro enlaces coordi-

nados. Se encuentran dos configuraciones; la *tetraédrica*, en la que los cuatro grupos se distribuyen simétricamente en el espacio alrededor del ion metálico, y la *plano cuadrada*, en la que los cuatro ligandos se encuentran en el mismo plano que el ion metálico y equidistantes al mismo. Los modelos de desdoblamiento de los orbitales  $d$  correspondientes a cada configuración se pueden deducir a partir de argumentos similares a los utilizados en la estructura octaédrica.

La magnitud del  $\Delta$  (Fig. 14-9) depende de varios factores, que incluyen la carga del ion metálico y la posición del elemento en el sistema periódico. Una variable importante atribuible al ligando es la *fuerza del campo ligando*, que es una medida de la intensidad con que un grupo complejante desdoblará la energía de los electrones  $d$ ; es decir, un agente complejante con una fuerza de campo ligando alta provocará un  $\Delta$  grande.

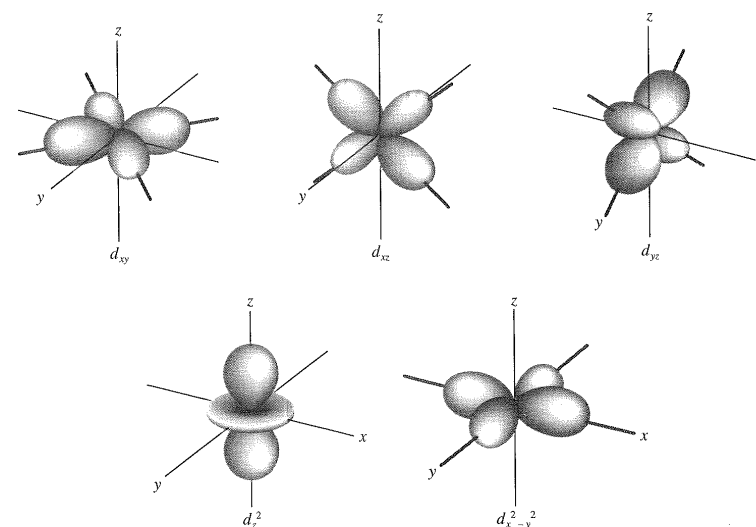


Figura 14-8. Distribución de la densidad electrónica en los cinco orbitales  $d$ .

Es posible ordenar los ligandos más comunes en orden creciente de fuerzas del campo ligando:  $I^- < Br^- < Cl^- < F^- < OH^- < C_2O_4^{2-} \approx H_2O < SCN^- < NH_3 < \text{etilendiamina} < o\text{-fenantrolina} < NO_2^- < CN^-$ . Con sólo pocas excepciones, este orden se aplica a todos los iones de los metales de transición y permite realizar predicciones cualitativas sobre las posiciones relativas de los picos de absorción para los diversos complejos de un ion metálico de transición dado. Puesto que el  $\Delta$  aumenta al aumentar la fuerza del campo, la longitud de onda del máximo de absorción disminuye. Este efecto se demuestra en los datos de la Tabla 14-5.

### 14B-3. Absorción por transferencia de carga

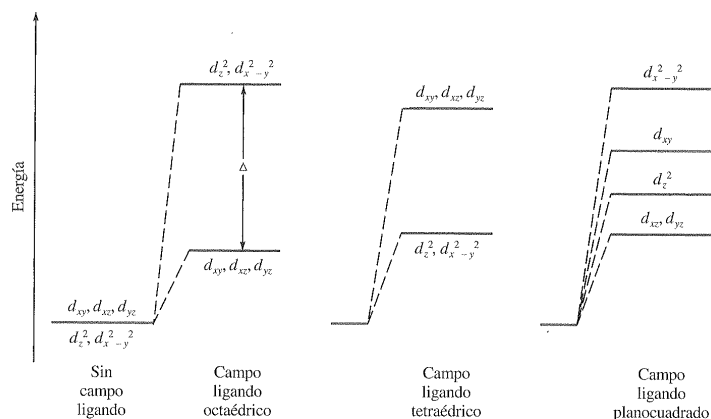
Desde el punto de vista analítico, las especies que presentan *absorción por transferencia de carga*<sup>6</sup> tienen particular importancia, ya que sus absorptividades molares son muy altas ( $\epsilon_{\text{máx}} > 10.000$ ). Así, estos complejos proporcionan unos medios de muy elevada sensibilidad para la detección y determina-

ción de especies absorbentes. Muchos complejos inorgánicos presentan absorción por transferencia de carga y por ello se llaman *complejos de transferencia de carga*. Ejemplos comunes de tales complejos incluyen el complejo fenólico y el complejo de tiocianato con el hierro(III), el complejo de *o*-fenantrolina de hierro(II), el complejo de yoduro de yodo molecular y el complejo ferro/ferricianuro responsable del color azul de Prusia. La Figura 14-10 incluye los espectros de estos tres complejos.

Para que un complejo presente un espectro de transferencia de carga, es necesario que uno de sus componentes tenga características de dador de electrones y el otro componente tenga propiedades de aceptor de electrones. La absorción de la radiación implica, entonces, la transferencia de un electrón desde el dador hasta un orbital que está en gran parte asociado con el aceptor. Como consecuencia, el estado excitado es el resultado de un proceso tipo oxidación/reducción interno. Este comportamiento difiere del de un cromóforo orgánico, donde el electrón en el estado excitado está en un orbital molecular formado por dos o más átomos.

Un ejemplo bien conocido de absorción por transferencia de carga se observa en el complejo hierro(III)/tiocianato. La absorción de un fotón da lugar a la transferencia de un electrón del ion tiocianato a un orbital asociado con el hierro(III). El

<sup>6</sup> Para una breve discusión de este tipo de absorción, véase C. N. R. Rao, *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy: Chemical Applications*, 3.<sup>a</sup> ed., Capítulo 11. London: Butterworths, 1975.

Figura 14-9. Efecto del campo ligando en las energías de los orbitales  $d$ .

producto es, por tanto, una especie excitada formada predominantemente por el ion hierro(II) y el radical neutro tiocianato SCN. Como en otros tipos de excitación electrónica, el electrón, bajo condiciones normales, tras un breve período, vuelve a su estado original. Sin embargo, ocasionalmente, puede tener lugar la disociación del complejo excitado, originando productos de oxidación/reducción fotoquímica.

En la mayoría de los complejos de transferencia de carga que incluyen un ion metálico, el metal actúa como aceptor de electrones. Una excepción es el complejo de *o*-fenantrolina con el hierro(II) o el cobre(I), donde el ligando es el aceptor y el ion metálico es el dador. Se conocen más ejemplos de este tipo.

Los compuestos orgánicos forman complejos de transferencia de carga muy interesantes. Un ejemplo es la quinidrona (un complejo 1:1 de quinona e hidroquinona), que muestra una fuerte absorción en la región visible. Otros ejemplos incluyen complejos de yodo con aminas, compuestos aromáticos y sulfuros, entre otros.

#### 14C. APLICACIÓN DE LAS MEDIDAS DE ABSORCIÓN AL ANÁLISIS CUALITATIVO

Las aplicaciones de la espectrofotometría ultravioleta y visible en el análisis cualitativo están en cier-

ta medida limitadas, ya que el número de máximos y mínimos de absorción es relativamente pequeño. Por tanto, una identificación inequívoca es a menudo imposible.

##### 14C-1. Modalidades de registro gráfico de datos espectrales

En espectroscopia molecular cualitativa existen diferentes tipos de registros espectrales. Lo más habitual es representar en ordenadas el porcentaje de transmitancia, la absorbancia, el logaritmo de la absorbancia o la absorptividad molar. En abscisas es habitual representar la longitud de onda o el número de onda, aunque en algunas ocasiones se emplea la frecuencia. La Figura 14-11 muestra el efecto de la concentración de analito en tres de los modelos de registros más comunes. Al comparar los registros (a) y (b) se observa que en el registro de absorbancia las diferencias entre las alturas de los picos en función de la concentración son mayores que en el registro de transmitancia. Por otra parte, las diferencias entre las curvas son mayores cuando las transmitancias son elevadas. Un registro en el que en ordenadas se representa el logaritmo de absorbancia, conduce a una pérdida de detalle espectral, pero es conveniente para comparar espectros de disoluciones de distintas concentraciones, ya que las curvas se desplazan la misma magnitud a lo largo del eje vertical para múltiplos iguales de concentración.

TABLA 14-5. Efecto de los ligandos sobre los máximos de absorción asociados a transiciones  $d \rightarrow d$

Ion central	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) para los ligandos indicados				
	Aumento de la fuerza del campo ligando				
	6Cl <sup>-</sup>	6H <sub>2</sub> O	6NH <sub>3</sub>	3en <sup>a</sup>	6CN <sup>-</sup>
Cr(III)	736	573	462	456	380
Co(III)	—	538	435	428	294
Co(II)	—	1.345	980	909	—
Ni(II)	1.370	1.279	925	863	—
Cu(II)	—	794	663	610	—

<sup>a</sup> en = etilendiamina, un ligando dentado = NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

##### 14C-2. Disolventes

Al elegir un disolvente no sólo se tiene que tener en cuenta su transparencia sino también sus posibles efectos sobre el sistema absorbente. Con bastante frecuencia, los disolventes polares como el agua, alcoholes, ésteres y cetonas tienden a borrar la estructura fina del espectro que resulta de los cambios vibracionales; es más probable obtener espectros parecidos a los originados en fase gaseosa (véase Fig. 14-12) cuando se utilizan disolventes no polares como los hidrocarburos. Además, las posiciones de los máximos de absorción se ven afectadas por la naturaleza del disolvente. Es imprescindible utilizar el mismo disolvente cuando se comparan espectros de absorción con fines de identificación.

En la Tabla 14-6 se enumeran algunos disolventes comunes y la longitud de onda aproximada por debajo de la cual no pueden usarse debido a la absorción. Este mínimo depende en gran medida de la pureza del disolvente<sup>7</sup>. Entre los disolventes habituales para espectrofotometría ultravioleta se incluyen agua, etanol del 95 por 100, ciclohexano y 1,4-dioxano. Para la región visible, cualquier disolvente incoloro es útil.

<sup>7</sup> La gran mayoría de los proveedores de reactivos químicos en los Estados Unidos ofrecen los grados espectroquímicos de los disolventes; éstos satisfacen o superan los requisitos publicados en *Reagent Chemicals, American Chemical Society Specifications*, 8.<sup>a</sup> ed. Washington, DC: American Chemical Society, 1993. Un suplemento de 1996 está disponible en un fichero Adobe Acrobat® PDF en el World Wide Web en: <http://pubs.acs.org/books/reagents/index@.html>.

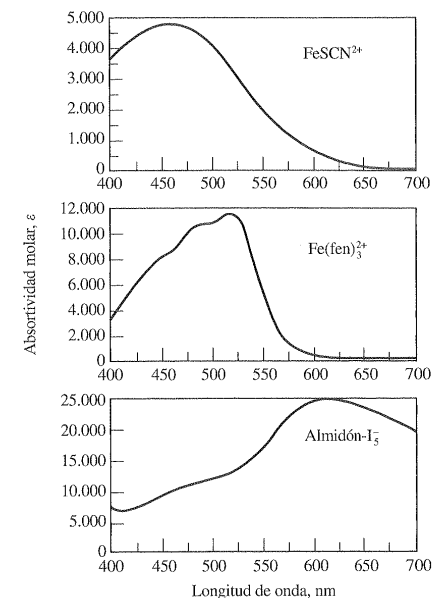
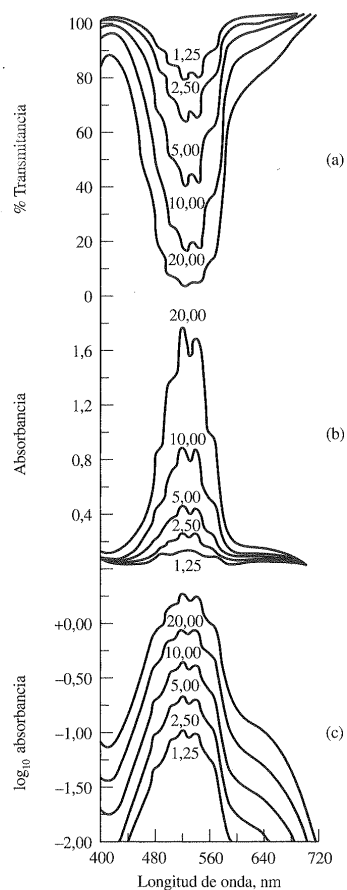


Figura 14-10. Espectros de transferencia de carga de tres especies.

##### 14C-3. Detección de grupos funcionales

Aunque esta técnica no puede proporcionar la identificación inequívoca de un compuesto orgánico, el espectro de absorción en las regiones del ultravioleta y visible es, sin embargo, útil para detectar la presencia de ciertos grupos funcionales que actúan como cromóforos<sup>8</sup>. Por ejemplo, una banda de absorción débil en la región de 280 a 290 nm, que se desplaza hacia longitudes de onda más cortas cuando aumenta la polaridad del disolvente, indica firmemente la presencia de un grupo carbonilo. Una banda de absorción débil próxima a 260 nm con indicios de estructura fina vibracional constituye una evidencia de la existencia de un anillo aromático. Para confirmar la presencia de una amina aromática o de una estructura fenólica se pueden comparar los efectos del pH en los espectros de las

<sup>8</sup> Véase R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5.<sup>a</sup> ed., Capítulo 6. New York: Wiley, 1991.

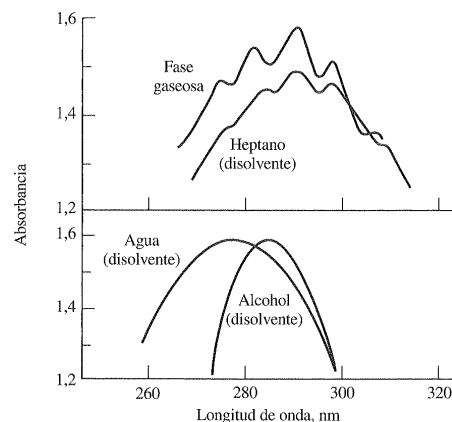


**Figura 14-11.** Modalidades de registro de los datos espectrales. Los números bajo las curvas indican la concentración en ppm del  $\text{KMnO}_4$  en la disolución;  $b = 2,00$  cm.

disoluciones de la muestra con los que se indican en la Tabla 14-4 para el fenol y la anilina.

## 14D. ANÁLISIS CUANTITATIVO MEDIANTE MEDIDAS DE ABSORCIÓN

La espectroscopia de absorción es una de las herramientas más útiles y más utilizadas por el químico



**Figura 14-12.** Efecto del disolvente sobre el espectro de absorción del acetaldehído.

en el análisis cuantitativo<sup>9</sup>. Las importantes características de los métodos espectrofotométricos y fotométricos incluyen: (1) gran aplicabilidad tanto para sistemas orgánicos como inorgánicos, (2) sensibilidades características de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  M (con frecuencia este intervalo puede ampliarse de  $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  M con ciertas modificaciones)<sup>10</sup>, (3) selectividad, de moderada a alta, (4) buena precisión (normalmente, se encuentran incertidumbres relativas de 1 a 3 por 100, aunque, con precauciones especiales, los errores se pueden reducir a algunas décimas por ciento) y (5) adquisición de datos fácil y adecuada.

### 14D-1. Campo de aplicación

Las aplicaciones de los métodos de absorción ultravioleta/visible cuantitativos no sólo son numerosas sino que abarcan todos los campos en los que se demanda información química cuantitativa. Por ejemplo, se ha estimado que solamente en el cam-

<sup>9</sup> Para más información práctica y detallada sobre prácticas espectrofotométricas, véase *Techniques in Visible and Ultraviolet Spectrometry*, Vol. 1, *Standards in Absorption Spectroscopy*, C. Burgess y A. Knowles, Eds. London: Chapman and Hall, 1981; J. R. Edisbury, *Practical Hints on Absorption Spectrometry*. New York: Plenum Press, 1968.

<sup>10</sup> Véase, por ejemplo: T. D. Harris, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 741A.

**TABLA 14-6.** Disolventes para las regiones ultravioleta y visible

Disolvente	Mínimo aproximado <sup>a</sup> de transparencia (nm)
Agua	190
Etanol	210
<i>n</i> -Hexano	195
Ciclohexano	210
Benceno	280
Dietil éter	210
Acetona	330
1,4-Dioxano	220

<sup>a</sup> Para cubetas de 1 cm.

po de la sanidad, un 95 por 100 de las determinaciones cuantitativas se llevan a cabo por espectrofotometría ultravioleta/visible y este número representa muchos más de los 3 millones de ensayos diarios llevados a cabo en los Estados Unidos<sup>11</sup>.

El lector puede hacerse una idea del campo de aplicación de la espectrofotometría consultando la serie de artículos de revisión publicados periódicamente en *Analytical Chemistry*<sup>12</sup> y las monografías que tratan de este tema<sup>13</sup>.

### Aplicaciones a especies absorbentes

Las Tablas 14-2, 14-3 y 14-4 muestran los grupos cromóforos orgánicos más comunes. La determinación espectrofotométrica de cualquier compuesto orgánico que contiene uno o más de estos grupos es

<sup>11</sup> R. W. Birke y R. Mavrodineanu, *Accuracy in Analytical Spectrophotometry*, NBS Special Publication 260-81, pág. 1. Washington, DC: National Bureau of Standards, 1983.

<sup>12</sup> Véase J. A. Howell y L. G. Hargis, *Anal. Chem.*, **1996**, *68*, 169R; **1994**, *66*, 445R; **1992**, *64*, 66R; **1990**, *62*, 155R; **1988**, *60*, 131R; **1986**, *58*, 108R; **1984**, *56*, 225R.

<sup>13</sup> Por ejemplo, véase E. B. Sandell y H. Onishi, *Colorimetric Determination of Traces of Metals*, 4.<sup>a</sup> ed. New York: Interscience, 1978; *Colorimetric Determination of Nonmetals*, 2.<sup>a</sup> ed., D. F. Boltz y J. A. Howell, Eds. New York: Wiley, 1978; Z. Marczenko, *Separation and Spectrophotometric Determination of Elements*. New York: Halsted Press, 1986; M. Pisez y J. Bartos, *Colorimetric and Fluorometric Analysis of Organic Compounds and Drugs*. New York: Marcel Dekker, 1974; F. D. Snell, *Photometric and Fluorometric Method of Analysis*, Partes 1 y 2, «Metals»; Parte 3, «Nonmetals». New York: Wiley, 1978-1981.

potencialmente posible; en la bibliografía se encuentran muchos ejemplos de este tipo de determinaciones.

También absorben numerosas especies inorgánicas y son, por tanto, susceptibles de determinación directa; ya se han enumerado diversos metales de transición. Pero además existen otras especies que también presentan absorción característica. Como ejemplos se pueden citar los iones nitrito, nitrato y cromato; los tetróxidos de osmio y rutenio; el yodo molecular y el ozono.

### Aplicaciones a especies no absorbentes

Numerosos reactivos reaccionan selectivamente con especies no absorbentes y generan productos que absorben fuertemente en las regiones ultravioleta y visible<sup>14</sup>. El éxito de la aplicación de tales reactivos en el análisis cuantitativo requiere, normalmente, que la reacción de formación de color sea prácticamente completa. Hay que señalar que los reactivos que generan color también se utilizan, a menudo, para la determinación de especies absorbentes, como los iones de los metales de transición; la absorptividad molar del producto es, con frecuencia, varios órdenes de magnitud superior a la de las especies no combinadas.

Un gran número de agentes complejantes encuentran aplicación en la determinación de especies inorgánicas. Los reactivos inorgánicos típicos incluyen el ion tiocianato para el hierro, cobalto y molibdeno; el anión de peróxido de hidrógeno para el titanio, vanadio y cromo; y el ion yoduro para el bismuto, paladio y telurio. Los agentes quelantes orgánicos, que forman complejos coloreados estables con los cationes, son incluso más importantes. Como ejemplos se pueden incluir la *o*-fenantrolina para la determinación de hierro, la dimetilglioxima para el níquel, el dietilditiocarbamato para el cobre y la difenilditiocarbazona para el plomo.

### 14D-2. Detalles del procedimiento

Las primeras etapas de un análisis fotométrico o espectrofotométrico incluyen el establecimiento de las condiciones de trabajo y la preparación de una curva de calibrado que relacione la absorbancia con la concentración.

<sup>14</sup> Por ejemplo, véase la primera referencia en la nota 13 a pie de página.



### Selección de la longitud de onda

Las medidas de absorbancia espectrofotométricas se hacen, normalmente, a una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción, ya que el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto, consiguiéndose, así, la máxima sensibilidad. Además, la curva de absorción es, a menudo, plana en esta región; bajo estas circunstancias, se puede esperar una buena observancia de la ley de Beer (Fig. 13-5). Finalmente, las medidas son menos sensibles a las incertidumbres que surgen de las limitaciones del instrumento para reproducir con precisión la longitud de onda seleccionada.

### Variables que influyen en la absorbancia

Las variables que suelen influir en el espectro de absorción de una sustancia incluyen la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las concentraciones de electrólito y la presencia de sustancias interferentes. Los efectos de estas variables deben conocerse; y deben elegirse las condiciones para el análisis de manera que la absorbancia no se vea prácticamente afectada por las pequeñas e incontroladas variaciones en sus magnitudes.

### Limpieza y manipulación de las cubetas

Para que el análisis espectrofotométrico sea exacto es necesario el uso de cubetas contrastadas de buena calidad. Éstas deben calibrarse con regularidad, una frente a la otra, para detectar las diferencias que pueden surgir por ralladuras, ataques por ácidos y desgaste por el uso. Es igualmente importante el uso de técnicas de limpieza y secado de las cubetas adecuadas. Erickson y Surles<sup>15</sup> recomiendan la siguiente secuencia de limpieza para las caras externas de las cubetas. Antes de la medida, las superficies de la cubeta se limpian con un papel para lentes empapado con metanol de calidad para espectrometría. El papel se coge con una pinza; después de la limpieza, el metanol se evapora, dejando las superficies de la cubeta libres de contaminantes. Los autores mostraron que este método era muy superior al procedimiento usual de limpieza de las superficies de la cubeta con papel para lentes seco, el cual aparentemente deja pelusas y películas en la superficie.

### Determinación de la relación entre absorbancia y concentración

Después de decidir las condiciones para el análisis, es necesario preparar la curva de calibrado a partir de una serie de disoluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras. Rara vez, o nunca, es seguro asumir el cumplimiento de la ley de Beer y utilizar sólo un único patrón para determinar la absortividad molar. Los resultados de un análisis *nunca* deberían basarse en los valores de absortividad molar encontrados en la literatura.

Lo ideal es que los patrones de calibración tengan una composición parecida a la de las muestras a analizar, no sólo en cuanto a la concentración del analito sino también con respecto a la concentración de las otras especies presentes en la matriz de la muestra, para minimizar los efectos de los distintos componentes de la muestra en la absorbancia medida. Por ejemplo, la absorbancia de muchos complejos de iones metálicos muy coloreados disminuye en distinto grado en presencia de iones sulfato o fosfato como consecuencia de la tendencia de estos iones a formar complejos no coloreados con los iones metálicos. Como consecuencia, la reacción de formación de color suele ser menos completa, dando como resultado menores absorbtividades. El efecto matriz del sulfato y fosfato puede contrarrestarse añadiendo a los estándares cantidades de estas dos especies similares a las encontradas en las muestras. Desafortunadamente, cuando se analizan materiales complejos como suelos, minerales y plantas fósiles, la preparación de patrones semejantes a las muestras suele ser imposible o extremadamente difícil. En estos casos, el *método de adición estándar* suele ser útil para contrarrestar los efectos de la matriz.

### Método de adición estándar

Se pueden aplicar distintas modalidades del método de adición estándar<sup>16</sup>. La que se selecciona con mayor frecuencia para los análisis fotométricos y espectrofotométricos, y que se ha discutido con detalle en el Apartado 1E-2, supone la adición de uno o más volúmenes iguales de disolución estándar a alícuotas de la muestra del mismo tamaño. Después cada disolución se diluye hasta un volumen fijo antes de medir su absorbancia. El Ejemplo 1-3 (página 18) ilustra la aplicación de este método a los datos de la determinación fotométrica del hie-

ro(III) basada en la formación del complejo rojo con tiocianato (véase Fig. 14-13).

Cuando interesa ahorrar tiempo o muestra, es posible realizar un análisis de adición estándar utilizando sólo dos volúmenes de muestra. En este caso, se haría una única adición de  $V_x$  mL de patrón a una de las dos muestras. Esta modalidad se basa en la ecuación (véase página 19)

$$c_x = \frac{A_1 c_s V_s}{(A_2 - A_1) V_x} \quad (14-1)$$

### EJEMPLO 14-1

2,00 mL de una muestra de orina se trataron con un reactivo que genera color con el fosfato, a continuación la muestra se diluyó hasta 100 mL. A otros 2,00 mL de la misma muestra se añadieron exactamente 5,00 mL de una disolución de fosfato que contenía 0,0300 mg de fosfato/mL y fue tratada de la misma forma que la muestra original. La absorbancia de la primera disolución fue 0,428, la de la segunda fue 0,538. Calcular la concentración de la muestra problema en miligramos de fosfato por mililitro.

Aquí se sustituye en la Ecuación 14-1 y se obtiene

$$\begin{aligned} c_x &= \frac{0,428 \times 0,0300 \text{ (mg PO}_4^{3-}\text{/mL)} \times 5,00 \text{ mL}}{(0,538 - 0,428) \times 2,00 \text{ mL muestra}} \\ &= 0,292 \text{ mg PO}_4^{3-}\text{/mL muestra} \end{aligned}$$

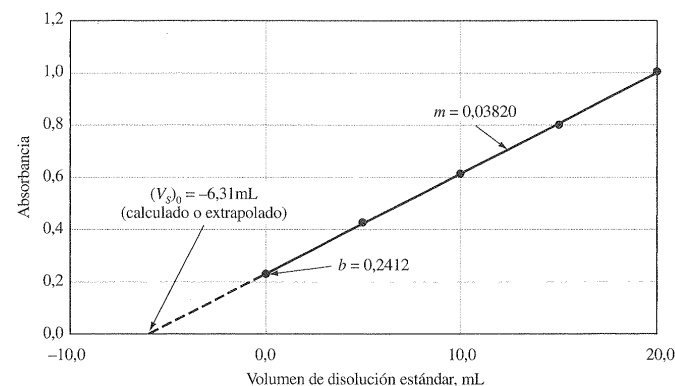


Figura 14-13. Datos del método de adición estándar para la determinación de  $\text{Fe}^{3+}$  como complejo con  $\text{SCN}^-$ .

### Análisis de mezclas de sustancias absorbentes

La absorbancia total de una disolución, a una longitud de onda dada, es igual a la suma de las absorbtividades que presentan los componentes individuales (Ecuación 13-9). Esta relación hace posible la determinación cuantitativa de los constituyentes individuales de una mezcla, incluso si su espectro se solapa. Considérese, por ejemplo, los espectros de M y de N, que se muestran en la Figura 14-14. Obsérvese que no existe ninguna longitud de onda en la cual la absorbancia de esta mezcla se deba exclusivamente a uno de los componentes; así, la determinación bien de M o de N es imposible con una única medida. Sin embargo, las absorbtividades de la mezcla a las dos longitudes de onda;  $\lambda'$  y  $\lambda''$  se pueden expresar como sigue:

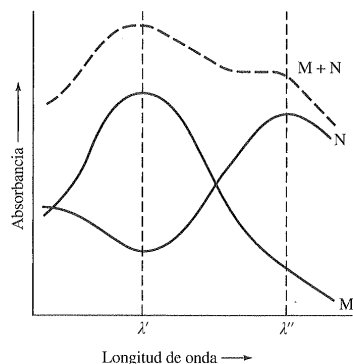
$$A' = \epsilon'_M b c_M + \epsilon'_N b c_N \quad (\text{a } \lambda')$$

$$A'' = \epsilon''_M b c_M + \epsilon''_N b c_N \quad (\text{a } \lambda'')$$

Las cuatro absorbtividades molares  $\epsilon'_M$ ,  $\epsilon'_N$ ,  $\epsilon''_M$ , y  $\epsilon''_N$ , pueden calcularse a partir de disoluciones estándar individuales de M y de N, o mejor, a partir de las pendientes de sus representaciones gráficas de la ley de Beer. Las absorbtividades de la mezcla  $A'$  y  $A''$ , se pueden medir experimentalmente, al igual que  $b$ , el espesor de la cubeta. Así, a partir de estas dos ecuaciones, se pueden calcular fácilmente las concentraciones de los constituyentes individuales,  $c_M$  y  $c_N$ . Estas relaciones son válidas sólo si se cumple la ley de Beer y si los dos componentes se comportan de manera independiente el uno del

<sup>15</sup> J. O. Erickson y T. Surles, *Amer. Lab.*, **1976**, 8 (6), 50.

<sup>16</sup> Véase M. Bader, *J. Chem. Educ.*, **1980**, 57, 703.



**Figura 14-14.** Espectro de absorción de una mezcla de dos compuestos. Las longitudes de onda óptimas  $\lambda'$  y  $\lambda''$  para la determinación de los dos compuestos se indican con líneas verticales discontinuas.

otro. La mayor exactitud en un análisis de este tipo se alcanza cuando se seleccionan longitudes de onda en las que las diferencias entre las absorptividades molares sean grandes.

Se pueden analizar mezclas que contengan más de dos especies absorbentes, al menos en principio, si se hace una medida adicional de absorbancia para cada componente añadido. Sin embargo, la incertidumbre en los datos resultantes se hace mayor cuando el número de medidas aumenta. Algunos de los espectrofotómetros más modernos, controlados por ordenador, son capaces de reducir estas incertidumbres mediante un elevado número de determinaciones del sistema. Es decir, estos instrumentos utilizan muchos más datos que incógnitas y deducen, con eficacia, el espectro completo de la mezcla desconocida, lo más fielmente posible, mediante técnicas de mínimos cuadrados que utilizan métodos de álgebra matricial. Para los análisis se necesitan los espectros de las disoluciones patrón de cada uno de los componentes.

### 14D-3. Espectrofotometría derivada y de longitud de onda dual<sup>17</sup>

En la espectrofotometría derivada, los espectros se obtienen representando gráficamente la derivada

primera o de mayor orden, de la absorbancia o de la transmitancia, con respecto a la longitud de onda, en función de la longitud de onda. A menudo estas representaciones gráficas revelan detalles espectrales que se pierden en un espectro ordinario. Además, a veces se pueden realizar las medidas de concentración de un analito en presencia de un interferente, con más facilidad y exactitud. Desafortunadamente, las ventajas de los espectros derivados se contrarrestan, al menos parcialmente, por una reducción en la relación señal/ruido que acompaña a la obtención de las derivadas. En muchas zonas de las regiones ultravioleta y visible, sin embargo, la relación señal/ruido no es un factor limitante serio; es en estas regiones donde más se utilizan los espectros derivados. Una desventaja adicional de la espectrofotometría derivada es que, generalmente, necesita un equipo más costoso.

Para obtener los espectros derivados se utilizan una variedad de métodos. Para espectrofotómetros digitales controlados por un microprocesador, la diferenciación se puede llevar a cabo numéricamente utilizando el ajuste polinomial de mínimos cuadrados derivados que se trata en el Apartado 5C-2. Con instrumentos analógicos, las derivadas de los datos espectrales se pueden obtener mediante un circuito amplificador operacional adecuado (véase Apartado 3E-4). Existe un tercer procedimiento que se logra mediante la modulación de la longitud de onda.

#### Dispositivos de modulación de la longitud de onda

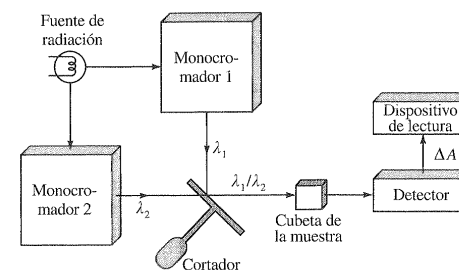
Se han desarrollado varios procedimientos para conseguir la modulación de la longitud de onda. En algunos de ellos, se barre un intervalo de longitudes de onda de unos pocos nanómetros rápida y repetitivamente mientras que se hace un barrido del espectro de la forma usual. La amplitud de la señal de corriente alterna resultante en el detector es una buena aproximación de la derivada del espectro respecto de la longitud de onda. El barrido rápido repetitivo se obtiene por algún medio mecánico, como la oscilación o la vibración de un espejo, una rendija o un elemento dispersante de un monocromador. Un segundo esquema para la modulación de la longitud de onda y que lo ofrecen

varios fabricantes de instrumentos, requiere el uso de un sistema dispersante doble ordenado de tal manera que dos haces de longitudes de onda ligeramente diferentes (normalmente 1 o 2 nm) van a incidir alternativamente en una cubeta de muestra y su detector; no se utiliza haz de referencia. El parámetro que se genera es la diferencia entre las señales alternas, que da una buena aproximación de la derivada de las absorbancias en función de la longitud de onda ( $\Delta A/\Delta \lambda$ ). La Figura 14-15 representa un esquema de un instrumento de longitud de onda dual. Obsérvese que la cubeta de referencia no se utiliza y la cubeta de la muestra se expone alternativamente a la radiación procedente de cada uno de los monocromadores. Generalmente, los instrumentos de longitud de onda dual también pueden trabajar en la modalidad de longitud de onda sencilla, con la radiación pasando alternativamente a través de la cubeta de referencia y de la muestra.

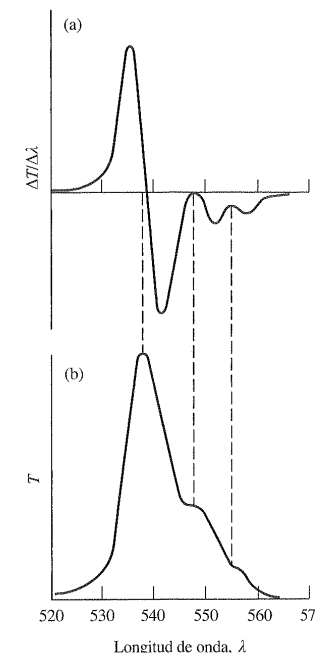
#### Aplicaciones de los espectros derivados

Muchas de las aplicaciones más importantes de la espectroscopia derivada en las regiones ultravioleta y visible han consistido en las identificaciones cualitativas de especies, en las cuales el detalle aumentado de un espectro derivado hace posible distinguir entre compuestos que tienen espectros solapados. La Figura 14-16 ilustra la manera en que una gráfica derivada puede revelar los detalles de un espectro formado por tres picos de absorción solapados.

La espectrofotometría de longitud de onda dual ha demostrado ser particularmente útil para la obtención de espectros de absorción ultravioleta/visible de analitos presentes en disoluciones turbias, donde la dispersión de la luz elimina los detalles de



**Figura 14-15.** Esquema de un espectrofotómetro de longitud de onda dual. El cortador hace pasar alternativamente a  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  a través de la muestra.



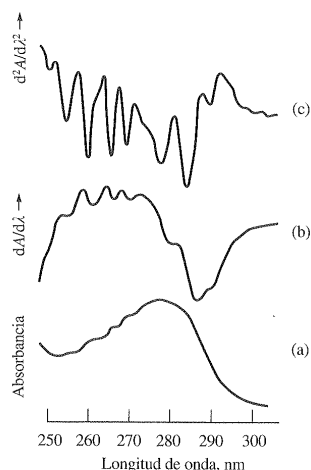
**Figura 14-16.** Comparación de un espectro derivado (a) con un espectro de transmitancia convencional (b).

un espectro de absorción. Por ejemplo, tres aminoácidos, el triptofano, la tirosina y la fenilalanina contienen cadenas aromáticas secundarias, que presentan picos de absorción agudos en la zona de 240 a 300 nm. Sin embargo, estos picos agudos no están claros en los espectros de las preparaciones de proteínas típicas, tales como la albúmina bovina o de huevo, ya que las moléculas grandes dispersan fuertemente la radiación, dando lugar sólo a un pico de absorción suave tal como el que aparece en la Figura 14-17a. La estructura fina aromática se descubre en los espectros de primera y segunda derivada, como muestran las curvas (b) y (c).

La espectrofotometría de longitud de onda dual también es útil para el análisis de un analito en presencia de una interferencia espectral. En estos casos, el instrumento trabaja en la modalidad de no barrido, midiendo las absorbancias a dos longitudes de onda en las cuales la interferencia tiene idénticas absorptividades molares. Por el contrario, el analito debe absorber con más intensidad en una de estas longitudes de onda que en la otra. Enton-

<sup>17</sup> Para más información, véase G. Talsky, *Derivative Spectrophotometry*, New York: VCH Publishers, 1994; T. C. O'Haver, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, 91A; F. Sánchez Rajas, C. Bosch

Ojeda y J. M. Cano Pavón, *Talanta*, **1988**, 35, 753; J. E. Cahill, *Amer. Lab.*, **1979**, 11 (11), 79; J. E. Cahill y F. G. Padera, *Amer. Lab.*, **1980**, 12 (4), 101; T. J. Porro, *Anal. Chem.*, **1972**, 44 (4), 93A.



**Figura 14-17.** Espectros de absorción de albúmina bovina: (a) espectro ordinario; (b) primera derivada del espectro; (c) segunda derivada del espectro.

ces, la absorbancia diferencial es directamente proporcional a la concentración de analito.

## 14E. VALORACIONES FOTOMÉTRICAS

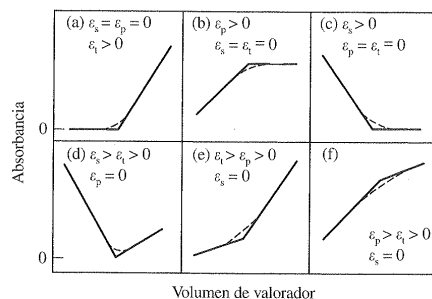
Las medidas fotométricas o espectrofotométricas pueden utilizarse provechosamente para localizar el punto de equivalencia de una valoración, siempre que el analito, el reactivo o el producto de la valoración absorban radiación<sup>18</sup>. En otros casos, un indicador absorbente puede proporcionar el cambio de absorbancia necesario para localizar el punto de equivalencia.

### 14E-1. Curvas de valoración

Una curva de valoración fotométrica es una representación gráfica de la absorbancia, corregida por los cambios de volumen, en función del volumen de valorador. Si se eligen las condiciones de mane-

ra adecuada, la curva constará de dos regiones lineales con diferentes pendientes, una tiene lugar al principio de la valoración y la otra localizada más allá de la zona del punto de equivalencia; el punto final se toma como la intersección de las dos porciones lineales extrapoladas. La Figura 14-18 muestra algunas curvas de valoración características. La valoración de una especie no absorbente con un valorador coloreado que origina un producto de reacción incoloro da lugar a una línea horizontal en las etapas iniciales, seguido de un rápido ascenso de la absorbancia pasado el punto de equivalencia (Fig. 14-18a). Por otro lado, la formación de un producto coloreado, a partir de reactivos incoloros, produce inicialmente un aumento lineal en la absorbancia, seguido de una región en la cual la absorbancia se mantiene independiente del volumen de reactivo añadido (Fig. 14-18b). Dependiendo de las características de absorción de los reactivos y de los productos, son también posibles las otras formas de curva que se muestran en la Figura 14-18.

Con objeto de obtener un punto final fotométrico satisfactorio, es necesario que el(los) sistema(s) absorbente(s) cumpla(n) la ley de Beer; de otro modo, la curva de valoración carecerá de las regiones lineales necesarias para la extrapolación al punto final. Además, como consecuencia de los cambios de volumen, es necesario corregir la absorbancia; aquí, los valores observados se multiplican por  $(V + v)/V$ , donde  $V$  es el volumen original de la disolución y  $v$  es el volumen de valorador añadido. Se introduce un pequeño error como resultado de suponer que los volúmenes  $V$  y  $v$  son aditivos.



**Figura 14-18.** Curvas de valoraciones fotométricas características. Las absorbividades molares de la sustancia a valorar, el producto y el valorador se indican como  $\epsilon_a$ ,  $\epsilon_p$  y  $\epsilon_v$ , respectivamente.

### 14E-2. Instrumentación

Las valoraciones fotométricas se llevan a cabo, normalmente, con un espectrofotómetro o un fotómetro que se ha modificado para poder intercalar el recipiente de valoración en la trayectoria de la luz. Como alternativa, se puede utilizar una cubeta tipo sonda, como la que se muestra en la Figura 13-16. Después de ajustar el cero de la escala de medida, se deja pasar la radiación a través de la disolución que contiene el analito y el instrumento se ajusta variando la intensidad de la fuente o la sensibilidad del detector hasta obtener una lectura de absorbancia adecuada. Normalmente, no se hacen grandes esfuerzos por medir la verdadera absorbancia, ya que, cuando el objetivo es detectar el punto final, los valores relativos son perfectamente válidos. Los datos de la valoración se recogen sin modificar el ajuste del instrumento.

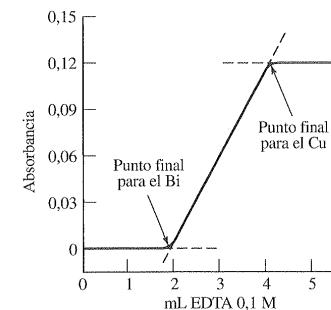
La potencia de la fuente de radiación y la respuesta del detector deben de ser razonablemente constantes durante el período requerido para una valoración fotométrica. Normalmente se utilizan recipientes cilíndricos y se debe tener cuidado de evitar cualquier movimiento del mismo que pueda alterar la longitud del paso óptico.

Para las valoraciones fotométricas se han utilizado tanto los fotómetros de filtro como los espectrofotómetros. Sin embargo, se prefieren los últimos, ya que sus anchuras de banda, más estrechas, aumentan la probabilidad de cumplimiento de la ley de Beer.

### 14E-3. Aplicación de las valoraciones fotométricas

Con frecuencia, las valoraciones fotométricas proporcionan resultados más exactos que los obtenidos mediante un análisis fotométrico directo, ya que para determinar el punto final se utilizan los datos de varias medidas. Además, la presencia de otras especies absorbentes puede no interferir, ya que sólo se mide un cambio en la absorbancia.

El punto final obtenido fotométricamente posee la ventaja sobre muchos otros métodos, normalmente utilizados para obtener el punto final, de que los datos experimentales se toman bastante lejos de la región del punto de equivalencia. Así, las reacciones de valoración no necesitan tener constantes de equilibrio tan favorables como las requie-



**Figura 14-19.** Curva de valoración fotométrica de 100 mL de una disolución  $2,0 \times 10^{-3}$  M de  $\text{Bi}^{3+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ . Longitud de onda: 745 nm.

ridas en una valoración que depende de las medidas realizadas cerca del punto de equivalencia (por ejemplo, puntos finales obtenidos potenciométricamente o con indicador). Por esta misma razón, pueden valorarse disoluciones relativamente diluidas.

El punto final obtenido fotométricamente se ha aplicado a todo tipo de reacciones<sup>19</sup>. Muchos de los reactivos utilizados en las valoraciones de oxidación/reducción tienen espectros de absorción característicos y, de este modo, producen puntos finales detectables fotométricamente. Los indicadores ácido/base se han utilizado para valoraciones fotométricas de neutralización. El punto final obtenido fotométricamente también se ha utilizado, ventajosamente, en las valoraciones con EDTA y con otros agentes complejantes. La Figura 14-19 ilustra la aplicación de este punto final en la valoración sucesiva de bismuto(III) y cobre(II). A 745 nm, ninguno de los cationes ni el reactivo absorben, tampoco lo hace el complejo más estable del bismuto, que se forma en la primera parte de la valoración; sin embargo, sí que absorbe el complejo del cobre. Por tanto la disolución no presenta absorbancia hasta que todo el bismuto se ha valorado. En el momento en que comienza a formarse el complejo de cobre tiene lugar un aumento de la absorbancia. Ésta continúa aumentando hasta que se alcanza el punto de equivalencia del cobre. Las posteriores adiciones de reactivo no producen más cambios en la absorbancia. Se obtienen dos puntos finales bien definidos.

<sup>19</sup> Véase, por ejemplo, la revisión: A. L. Underwood, *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, C. N. Reilly, Ed. Vol. 3, págs. 31-104. New York: Interscience, 1964.

<sup>18</sup> Para más información respecto a esta técnica, véase J. B. Headridge, *Photometric Titrations*. New York: Pergamon Press, 1961; M. A. Leonard, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, Ed., Vol. 8, Capítulo 3. New York: Elsevier, 1977.

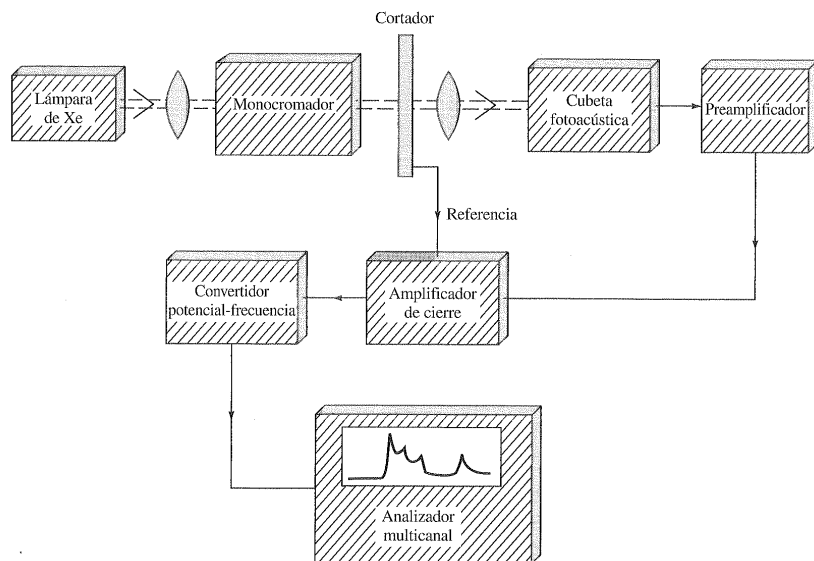


Figura 14-20. Diagrama de bloques de un espectrofotómetro fotoacústico de haz sencillo con procesador de datos digital.

El punto final detectado fotométricamente se ha adaptado también a las valoraciones de precipitación. Aquí, el producto sólido suspendido tiene el efecto de disminuir la potencia radiante por dispersión; las valoraciones se llevan a cabo hasta que se consigue alcanzar una turbidez constante.

#### 14-F. ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

La espectroscopia fotoacústica (PAS) u optoacústica, que se desarrolló a principios de los años setenta, proporciona un medio para obtener espectros de absorción ultravioleta, visible e infrarrojo, de sólidos, semisólidos y líquidos turbios. La adquisición de espectros para este tipo de muestras por métodos ordinarios es, en el mejor de los casos, normalmente difícil y, a menudo, imposible como consecuencia de la dispersión y reflexión de la luz.

##### 14F-1. El efecto fotoacústico

La espectroscopia fotoacústica se basa en el efecto de absorción de la luz que fue investigado por pri-

mera vez en 1880 por Alexander Graham Bell y otros. Este efecto se observa cuando un gas que se encuentra en el interior de una cubeta cerrada es irradiado con un haz de radiación intermitente de una longitud de onda que es absorbida por el gas. La radiación absorbida provoca calentamientos periódicos del gas, que, como consecuencia, dan lugar a fluctuaciones regulares de la presión en el interior de la cámara. Si la frecuencia de la intermitencia está dentro del intervalo de la frecuencia acústica, estos impulsos de la presión pueden detectarse con un micrófono sensible. El efecto fotoacústico se ha utilizado desde los comienzos del siglo XX para el análisis de gases absorbentes y, recientemente, con la llegada de los láseres de radiación en el infrarrojo sintonizables, como fuentes, han adquirido nueva importancia para este objetivo. De mayor importancia, sin embargo, ha sido la aplicación de este fenómeno en la obtención de los espectros de absorción de sólidos y de líquidos turbios<sup>20</sup>.

<sup>20</sup> Para una revisión de las aplicaciones, véase A. Rosencwaig, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 592A; J. W. Lin y L. P. Dubek, *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, 1627; J. F. McClelland, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 89A; D. Betteridge y P. J. Meylor, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1984**, *14*, 267; A. Rosencwaig, *Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy*. New York: Wiley, 1980.

##### 14F-2. Espectros fotoacústicos

En los estudios fotoacústicos de sólidos, la muestra se coloca en una cubeta cerrada que contiene aire o cualquier otro gas no absorbente y un micrófono sensible. El sólido es entonces irradiado con un haz intermitente procedente de un monocromador. El efecto fotoacústico se observa *siempre que la radiación incidente es absorbida por el sólido*; la potencia del sonido resultante está directamente relacionada con el grado de absorción. La radiación reflejada o dispersada por la muestra no tiene ningún efecto en el micrófono y por tanto no interfiere. Esta última propiedad es, quizás, la característica más importante del método.

La causa del efecto fotoacústico en sólidos parece ser similar a la de gases. Es decir, la relajación no radiante del sólido absorbente provoca un flujo de calor periódico desde el sólido hacia el gas que le rodea; las fluctuaciones de presión resultantes en el gas son, entonces, detectadas por el micrófono.

##### 14F-3. Instrumentos

La Figura 14-20 es un diagrama de bloques en el que se muestran los componentes de un espectrofotómetro fotoacústico de haz sencillo. En este aparato, primero se registra digitalmente el espectro de la lámpara, seguido del espectro de la muestra. Los datos de la lámpara almacenados se utilizan para eliminar, en la señal que procede de la muestra, las variaciones de la señal de salida de la lámpara, en función de la longitud de onda. Con esta técnica, es necesario asumir una ausencia de deriva en la fuente y en los sistemas de detección. Se han descrito, también, instrumentos de doble haz que eliminan en gran parte los problemas de deriva. Uno de estos instrumentos está equipado con un par de cubetas contrastadas (y detectores), una de ellas contiene la muestra y la otra un material de referencia como carbón finamente dividido. Otro instrumento comercialmente disponible se basa también en el principio de división del haz. Sin embargo, en este instrumento, alrededor del 8 por 100 de la señal que procede del monocromador de red se dirige a un detector piroeléctrico y el resto pasa por la cubeta de la muestra. La señal del detector de la muestra se compara con la del detector piroeléctrico para producir un espectro que corrige de esta manera las variaciones en la señal de salida de la

lámpara en función de la longitud de onda y del tiempo.

##### 14F-4. Aplicaciones

La Figura 14-21 ilustra una aplicación de la espectrofotometría fotoacústica ultravioleta/visible. Aquí, se muestran los espectros de frotis de sangre total, de células de sangre libres de plasma y de hemoglobina extraída de las células. La espectroscopia convencional, incluso en el caso de disoluciones de sangre total muy diluidas, no da espectros satisfactorios, debido a la gran dispersión de

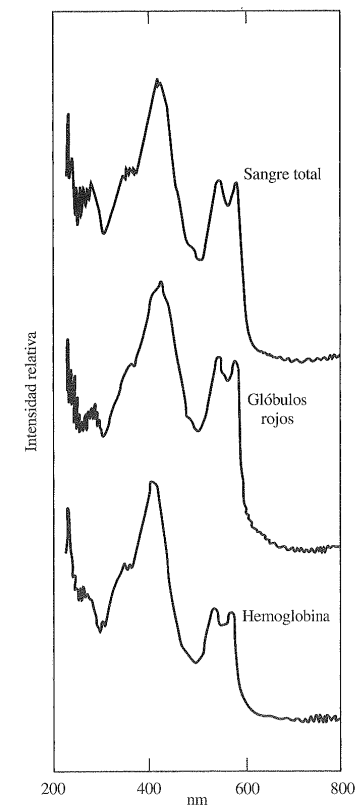


Figura 14-21. Espectros fotoacústicos de frotis de sangre y de componentes de sangre. (Reproducido con permiso de A. Rosencwaig, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 596A. Copyright 1975 American Chemical Society.)

luz que originan las células de sangre, y las moléculas de proteínas y de lípidos presentes. La espectroscopia fotoacústica permite estudios espectroscópicos de sangre sin necesidad de una separación preliminar de estas grandes moléculas.

La Figura 14-22 muestra otra aplicación de la espectroscopia fotoacústica. Los cinco espectros de la izquierda corresponden a cinco compuestos orgánicos previamente separados en placas de cromatografía en capa fina (Apartado 28H). Estos espectros se obtuvieron directamente a partir de las placas de capa fina; para comparar, a la derecha se muestran los espectros de las disoluciones. La semejanza entre ambos hace posible una identificación rápida de los compuestos.

Otras aplicaciones del método incluyen el estudio de minerales; semiconductores; productos naturales, como algas marinas y tejidos animales; revestimientos de superficies; y superficies catalíticas.

Finalmente, las medidas fotoacústicas han demostrado ser útiles en la región del infrarrojo medio para la identificación cualitativa de los componentes en sólidos orgánicos e inorgánicos y en varios tipos de polímeros comerciales. Normalmente, se necesitan técnicas de transformada de Fourier para obtener relaciones S/R satisfactorias. Las cubetas fotoacústicas son, generalmente, asequibles como accesorios de los instrumentos de transformada de Fourier<sup>21</sup>.

<sup>21</sup> Para una descripción de los accesorios disponibles comercialmente para FTIR fotoacústica, véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, 757A.

14G. CUESTIONES Y PROBLEMAS

14-1. Tras las diluciones oportunas de una disolución patrón, se obtuvieron disoluciones de hierro cuyas concentraciones se muestran a continuación. Posteriormente se obtuvo el complejo de hierro(II)/1,10-fenantrolina en alícuotas de 25,0 mL de estas disoluciones, a continuación cada una de ellas se diluyó hasta 50,0 mL. Se leyeron las siguientes absorbancias, a 510 nm:

Concentración de Fe(II) en las disoluciones originales, ppm,	Absorbancia, A (cubetas de 1,00 cm)
2,00	0,164
5,00	0,425
8,00	0,628
12,00	0,951
16,00	1,260
20,00	1,582

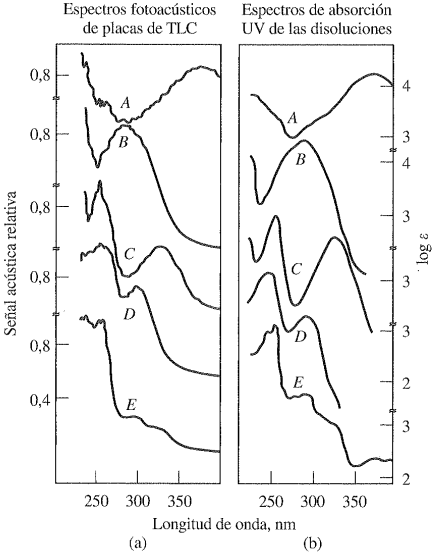


Figura 14-22. Espectros de las manchas de un cromatograma de capa fina (izquierda) y de las disoluciones de los mismos compuestos (derecha). Los compuestos son: (A) *p*-nitroanilina, (B) benzilidenacetona, (C) salicilaldehído, (D) 1-tetralona y (E) fluorenona. (Reproducido con permiso de A. Rosencwaig, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 600A. Copyright 1975 American Chemical Society.)

- (a) Construir una curva de calibrado a partir de estos datos.
- (b) Por el método de los mínimos cuadrados (Apartado a1C, Apéndice 1), obtener una ecuación que relacione la absorbancia con la concentración de hierro(II).
- (c) Calcular la desviación estándar de la regresión.
- (d) Calcular la desviación estándar de la pendiente.

14-2. El método desarrollado en el Problema 14-1 se aplicó en la determinación rutinaria de hierro en alícuotas de 25,0 mL de aguas naturales. Determinar la concentración (en ppm de Fe) de muestras que dieron los datos de absorbancia que siguen (en cubetas de 1,00 cm). Estimar las desviaciones estándar para las concentraciones calculadas. Repetir los cálculos considerando que los datos de absorbancia son la media de tres medidas.  
(a) 0,107 (b) 0,721 (c) 1,538.

14-3. Comprobar los resultados encontrados en la Tabla 13-2.

14-4. Una alícuota de 25,0 mL de una disolución acuosa de quinina se diluyó hasta 50,0 mL y se encontró una absorbancia de 0,832 a 348 nm, cuando se midió en una cubeta de 2,00 cm. Una segunda alícuota de 25,0 mL se mezcló con 10,00 mL de una disolución que contenía 23,4 ppm de quinina; después de diluir hasta 50,0 mL, esta disolución presentó una absorbancia de 1,220 (cubeta de 2,00 cm). Calcular la concentración, en partes por millón, de quinina en la muestra.

14-5. Una muestra de 5,12 g de un pesticida se descompuso mediante digestión húmeda y a continuación se diluyó hasta 200,0 mL en un matraz aforado. El análisis se completó tratando las alícuotas de esta disolución como se indica.

Volumen de muestra tomado, mL	Volúmenes de reactivo utilizados, mL			Absorbancia, A, 545 nm (cubetas de 1,00 cm)
	3,82 ppm Cu <sup>2+</sup>	Ligando	H <sub>2</sub> O	
50,0	0,00	20,0	30,0	0,512
50,0	4,00	20,0	26,0	0,844

Calcular el porcentaje de cobre en la muestra.

14-6. La determinación simultánea de cobalto y níquel se puede basar en la absorción de sus respectivos complejos con 8-hidroxiquinolinol. Las absorktividades molares correspondientes a sus máximos de absorción son las siguientes:

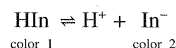
	Absortividad molar, ε,	
	365 nm	700 nm
Co	3.529	428,9
Ni	3.228	10,2

Calcular la concentración molar de níquel y cobalto en cada una de las siguientes disoluciones, basándose en los siguientes datos:

Disolución	Absorbancia, A (cubetas de 1,00 cm)	
	365 nm	700 nm
(a)	0,598	0,039
(b)	0,902	0,072

- 14-7. Cuando se midió, en una cubeta de 1,00 cm, una disolución  $8,50 \times 10^{-5}$  M de la especie A, presentó absorbancias de 0,129 y 0,764 a 475 y 700 nm respectivamente. Una disolución  $4,65 \times 10^{-5}$  M de la especie B dio absorbancias de 0,567 y 0,083 bajo las mismas condiciones. Calcular las concentraciones de A y B en disoluciones que dieron los siguientes resultados de absorbancia en una cubeta de 1,25 cm: (a) 0,502 a 475 nm y 0,912 a 700 nm; (b) 0,675 a 475 nm y 0,696 a 700 nm.

- 14-8. Una disolución acuosa diluida del indicador ácido/base HIn experimenta la siguiente reacción:



Para una disolución  $5,00 \times 10^{-4}$  M de HIn en NaOH 0,1 M y HCl 0,1 M, se obtuvieron los siguientes datos de absorbancia. Las medidas se realizaron a las longitudes de onda de 485 nm y 625 nm en cubetas de 1,00 cm.

0,1 M NaOH	$A_{485} = 0,052$	$A_{625} = 0,823$
0,1 M HCl	$A_{485} = 0,454$	$A_{625} = 0,176$

En la disolución de NaOH, prácticamente todo el indicador está presente como  $\text{In}^-$ ; en la disolución ácida, está todo prácticamente en forma de HIn.

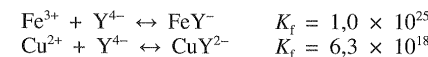
- (a) Calcular las absorptividades molares para  $\text{In}^-$  y HIn a 485 y 625 nm.
- (b) Calcular la constante de acidez del indicador si una disolución tampón de pH 5,00 que contiene una pequeña cantidad de indicador presenta una absorbancia de 0,472 a 485 nm y 0,351 a 625 nm (cubetas de 1,00 cm).
- (c) ¿Cuál es el pH de una disolución que contiene una pequeña cantidad del indicador y que presenta una absorbancia de 0,530 a 485 nm y 0,216 a 635 nm (cubetas de 1,00 cm)?
- (d) Una alícuota de 25,00 mL de una disolución de un ácido orgánico débil purificado HX necesitó exactamente 24,20 mL de una disolución patrón de una base fuerte para alcanzar el punto final con fenoftaleína. Cuando se añadieron exactamente 12,10 mL de la base a una segunda alícuota de 25,00 mL del ácido, que contenía una pequeña cantidad del mismo indicador, la absorbancia fue de 0,306 a 485 nm y 0,555 a 625 nm (cubetas de 1,00 cm). Calcular el pH de la disolución y la  $K_a$  del ácido débil.
- (e) ¿Cuál sería la absorbancia de una disolución  $2,00 \times 10^{-4}$  M de indicador que estuviese tamponada a pH 6,000 a 485 y a 625 nm (cubetas de 1,25 cm)?
- 14-9. El error absoluto en la transmitancia para un fotómetro concreto es 0,005 y es independiente de la magnitud de  $T$ . Calcular el porcentaje de error relativo en la concentración producido por esta fuente cuando
- (a)  $A = 0,585$       (c)  $A = 1,800$       (e)  $T = 99,25\%$ .  
 (b)  $T = 49,6\%$       (d)  $T = 0,0592$       (f)  $A = 0,0055$ .

- 14-10. En el espectro de absorción del complejo bismuto(III)/tiourea existe un máximo a 470 nm y en el del complejo bismuto(III)/EDTA uno a 265 nm. Predecir la forma de la curva para la valoración fotométrica de

- (a) bismuto(III) con tiourea (tu) a 470 nm.  
 (b) bismuto(III) con EDTA ( $\text{H}_2\text{Y}^{2-}$ ) a 265 nm.  
 (c) complejo de bismuto(III)/tiourea con EDTA a 470 nm. Reacción:  

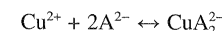
$$\text{Bi}(\text{tu})_6^{3+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightarrow \text{BiY}^- + 6\text{tu} + 2\text{H}^+$$
  
 (d) la reacción en (c) a 265 nm.

- 14-11. A partir de los siguientes datos

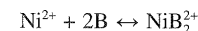


y sabiendo que entre los diferentes reactivos y productos, sólo el  $\text{CuY}^{2-}$  absorbe a 750 nm, describir cómo podría utilizarse el Cu(II) como indicador en la valoración fotométrica de Fe(III) con  $\text{H}_2\text{Y}^{2-}$ . Reacción:  $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightarrow \text{FeY}^- + 2\text{H}^+$

- 14-12. El quelato  $\text{CuA}_2^{2-}$  presenta un máximo de absorción a 480 nm. Cuando el reactivo quelante está presente en un exceso de al menos 10 veces el ion metálico, la absorbancia depende sólo de la concentración analítica de Cu(II) y se cumple la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones. Una disolución en la que la concentración analítica de  $\text{Cu}^{2+}$  es de  $2,30 \times 10^{-4}$  M y la de  $\text{A}^{2-}$  es  $8,60 \times 10^{-3}$  M tiene una absorbancia de 0,690 cuando se mide en una cubeta de 1,00 cm a 480 nm. Una disolución en la que las concentraciones analíticas de  $\text{Cu}^{2+}$  y de  $\text{A}^{2-}$  son  $2,30 \times 10^{-4}$  M y  $5,00 \times 10^{-4}$  M, respectivamente, tiene una absorbancia de 0,540 cuando se mide en las mismas condiciones. Utilizando esta información, calcular la constante de formación del proceso



- 14-13. La mezcla del reactivo quelante B con Ni(II) da lugar a la formación del complejo  $\text{NiB}_2^{2+}$ , muy coloreado, cuyas disoluciones cumplen la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones. Siempre que la concentración analítica del agente quelante exceda a la de Ni(II) en un factor de 5 (o más), el catión existe todo en forma de complejo, dentro de los límites de observación. Utilizar los datos siguientes para calcular la constante de formación  $K_f$  del proceso



Concentración analítica, M		
$\text{Ni}^{2+}$	B	Absorbancia, A, 395 nm (cubetas de 1,00 cm)
$2,50 \times 10^{-4}$	$2,20 \times 10^{-1}$	0,765
$2,50 \times 10^{-4}$	$1,00 \times 10^{-3}$	0,360