I. Introducción.
   i) Fundamentos de la técnica analítica

La espectrofotometría UV-Vis es una técnica analítica ampliamente utilizada en química y bioquímica para la cuantificación de compuestos que absorben luz en las regiones ultravioleta (UV) y visible del espectro electromagnético. Esta técnica se basa en la medición de la absorción de luz por parte de una muestra a diferentes longitudes de onda, lo que permite determinar la concentración de sustancias en solución. La espectrofotometría UV-Vis es particularmente útil debido a su sensibilidad, precisión y capacidad para analizar una amplia variedad de muestras, desde compuestos orgánicos hasta biomoléculas complejas (Skoog, Holler & Crouch, 2018).

El rango visible del espectro electromagnético abarca longitudes de onda de aproximadamente 380 a 780 nm. En este rango, la luz es visible para el ojo humano, y la absorción de luz en estas longitudes de onda es responsable de los colores observados en soluciones y materiales sólidos. En la espectrofotometría UV-Vis, la medición en el rango visible se utiliza para estudiar compuestos que presentan transiciones electrónicas en sus estructuras moleculares, como los cromóforos presentes en pigmentos, indicadores de pH y ciertos complejos metálicos (Harris, 2016). Estas transiciones electrónicas pueden proporcionar información sobre la estructura electrónica y las propiedades químicas de los compuestos analizados.

El principio fundamental de la espectrofotometría UV-Vis en el rango visible se basa en la ley de Beer-Lambert, que establece una relación lineal entre la absorbancia de una solución y la concentración del analito presente en la misma. Esta relación permite cuantificar de manera precisa la concentración de compuestos desconocidos mediante la comparación con curvas de calibración obtenidas a partir de estándares conocidos (Hollas, 2004). Además, la espectrofotometría en el rango visible es esencial en aplicaciones como el monitoreo de reacciones químicas, la determinación de la pureza de sustancias y la evaluación de parámetros ambientales, como la calidad del agua (Christian & O'Reilly, 2014).

La Ley de Beer-Lambert

La ley de Beer-Lambert describe la relación entre la absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y la concentración de un cromóforo en solución. Según esta ley, la absorbancia (A) se define como $A = \text{Log}(I_o/I) = \epsilon * C * l$, donde I_o es la intensidad de la luz incidente, I es la intensidad de la luz transmitida, C es la concentración del cromóforo en la solución, l es la longitud del camino óptico a través de la solución, y ϵ es el coeficiente de extinción molar (o específico), que es una constante de proporcionalidad específica para cada cromóforo (Shriner et al., 2004).

Elaborado por: Rodriguez Pacheco Oscar Uriel, Acoltzi Amador Diego, Dra. María Teresa de J. Rodríguez Salazar
Asignatura: Analítica Experimental II (1700)
Dto. De Q. Analítica
Fecha: 25-08-24
Nota: Documento no revisado aun por el comité académico correspondiente
Agradecimiento a Proyecto PAPIME PE201324

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, lo que significa que un mayor número de moléculas en la solución resultará en una mayor interacción con la luz. Asimismo, la absorbancia depende de la distancia que recorre la luz a través de la solución; a igualdad de concentración, cuanto mayor es la distancia, más moléculas se encuentran en el camino de la luz, aumentando la absorbancia. El coeficiente de extinción molar (ϵ) se expresa generalmente en unidades de $M^{-1}\cdot cm^{-1}$, donde M es la molaridad de la solución. Si la concentración se expresa en unidades diferentes, como $g\cdot L^{-1}$, el coeficiente de extinción se denomina coeficiente de extinción específico ϵ_S y se expresa en unidades como $g^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$ (Reid & Svehla, 2004).

Es importante notar que la ley de Beer-Lambert es válida principalmente para soluciones diluidas. En concentraciones más altas, pueden surgir desviaciones de esta relación lineal debido a fenómenos como la dispersión de la luz, la agregación de moléculas y cambios en el medio circundante, lo que afecta la absorción y, por ende, la precisión de la medición (Blanco & Villarroya, 2002). Estas limitaciones deben ser consideradas durante el diseño y la interpretación de experimentos utilizando espectrofotometría UV-Vis.

En resumen, la espectrofotometría UV-Vis, y en particular la medición en el rango visible, es una técnica analítica fundamental que permite la cuantificación precisa de compuestos absorbentes de luz. Su aplicación abarca desde el análisis químico básico hasta estudios más complejos en ciencias ambientales y biológicas, haciendo de esta técnica una herramienta indispensable en laboratorios de investigación y control de calidad (Skoog, Holler & Crouch, 2018; Harris, 2016).

II. Objetivos.

a. Implementación de los fundamentos de la espectrofotometría para la determinación de Cobre, por medio de una reacción complejométrica .
b. Elaborar y utilizar una curva de calibración para cuantificar la concentración de cobre en muestras desconocidas.

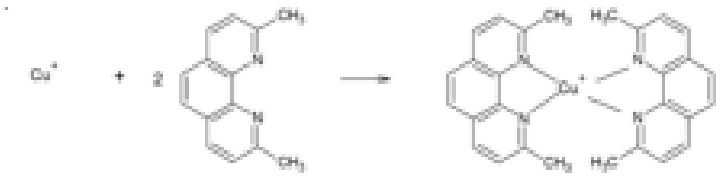
III. Materiales y reactivos.

Materiales	**Reactivos**
Micropipeta	HNO_3 1%
Matraz volumétrico de 250,0 mL	NH2OH*HCL 0.05 M
Matraz volumétrico de 25,0 mL	Neucoprina 98%
Matraz volumétrico de 10,0 mL	
Balanza analítica	Agua desionizada
Equipo de espectrofotometría UV-Visible)	
Celdas de plástico	
Tubos de ensayo	
Espátula de cromo-níquel	

Agradecimiento a Proyecto PAPIME PE201324

Nave de pesado	
Piseta con agua desionizada	
Piseta con agua desionizada	

Reacción



IV. Procedimiento experimental.

Preparación de los estándares:

Tomar 500 µL y 1 mL de un estándar de Cobre (1000 ppm) y llevar cada uno a un volumen de 25.0 mL con agua desionizada. Ajustar el pH de ambas soluciones a 4 utilizando HNO_3 al 1%.
Reducir el Cu^{2+} a Cu^{+} agregando 5 mL de $NH_2OH{\cdot}HCl$ (0.05 M) a cada solución. Formar el complejo Cu-Neocuproína añadiendo 3 mL de Neocuproína, y extraer el complejo formado utilizando 10 mL de Alcohol Isoamílico.
Tomar alícuotas de 100 µL y 1 mL de la solución de 1 mL del estándar de cobre, y llevar cada una a un volumen de 10.0 mL con Alcohol Isoamílico.

Preparación de las muestras:

Pesar 0.91 gramos de $Cu(NO_3)_2{\cdot}3H_2O$ y disolver en agua desionizada, completando el volumen a 250.0 mL. Tomar alícuotas de 3.0 mL y 3.5 mL de la solución preparada, y llevar cada una a un volumen de 25.0 mL con agua desionizada. Ajustar el pH de ambas soluciones a 4 utilizando HNO_3 al 1%.
Reducir el Cu^{2+} a Cu^{+} agregando 5 mL de $NH_2OH{\cdot}HCl$ (0.05 M) a cada solución. Formar el complejo Cu-Neocuproína añadiendo 3 mL de Neocuproína, y extraer el complejo formado, utilizando 10 mL de Alcohol Isoamílico.
Tomar una alícuota de 400 µL de la solución de cobre de 3.5 mL, y completar el volumen a 10.0 mL con Alcohol Isoamílico.
Tomar una alícuota de 1 mL de la solución de cobre de 3.0 mL, y completar el volumen a 10.0 mL con Alcohol Isoamílico.
Analizar ambas alícuotas en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 458 nm.

V. Resultados.

VI. Gráficos.
VII. Conclusiones.
VIII. Cuestionario previo.

Elaborado por: Rodriguez Pacheco Oscar Uriel, Acoltzi Amador Diego, Dra. María Teresa de J. Rodríguez Salazar
Asignatura: Analítica Experimental II (1700)
Dto. De Q. Analítica
Fecha: 25-08-24

Nota: Documento no revisado aun por el comité académico correspondiente
Agradecimiento a Proyecto PAPIME PE201324

1.- Defina los siguientes términos: absorbancia, extinción, densidad óptica, transmitancia porcentual, absortividad, absortividad molar, coeficiente de extinción molar, espectro de absorción, curva estándar.
2.- ¿Cuál es el rango de longitudes de onda que corresponde al espectro visible de la luz?
3.- Mencione al menos dos aplicaciones prácticas de la espectrofotometría UV-Vis en el análisis de muestras químicas o biológicas.
4.- Describa brevemente el proceso de preparación de un estándar de cobre para análisis espectrofotométrico.
5.- ¿Qué factores podrían causar desviaciones de la ley de Beer-Lambert en una muestra real?
6.- ¿Por qué es importante la formación del complejo Cu-Neocuproína para el análisis espectrofotométrico?
7.- ¿Qué sucede a nivel molecular cuando el Cu^{2+} se reduce a Cu^{+} en presencia de $NH_2OH \cdot HCl$, y por qué es este paso crucial para la formación del complejo con Neocuproína?

IX. Referencias.

- Blanco, M., & Villarroya, I. (2002). UV-visible spectroscopy: Its versatility in analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 74(12), 2801-2811.
- Christian, G. D., & O'Reilly, J. E. (2014). *Instrumental Analysis*. Oxford University Press.
- Harris, D. C. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (9th ed.). W. H. Freeman and Company.
- Hollas, J. M. (2004). *Modern Spectroscopy* (4th ed.). John Wiley & Sons.
- Reid, R. C., & Svehla, G. (2004). *Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis* (6th ed.). Prentice Hall.
- Shriner, R. L., Hermann, C. K. F., Morrill, T. C., Curtin, D. Y., & Fuson, R. C. (2004). *The Systematic Identification of Organic Compounds* (8th ed.). John Wiley & Sons.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). Cengage Learning.

Elaborado por: Rodriguez Pacheco Oscar Uriel, Acoltzi Amador Diego, Dra. María Teresa de J. Rodríguez Salazar

Asignatura: Analítica Experimental II (1700)
Dto. De Q. Analítica
Fecha: 25-08-24

Nota: Documento no revisado aun por el comité académico correspondiente
Agradecimiento a Proyecto PAPIME PE201324