

PRACTICA 6

CONOCIMIENTO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS

PARTE I: FUNDAMENTOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

I. OBJETIVO GENERAL

Conocer y aplicar los fundamentos de la espectrofotometría para la determinación de concentraciones en soluciones.

II. OBJETIVOS PARTICULARES

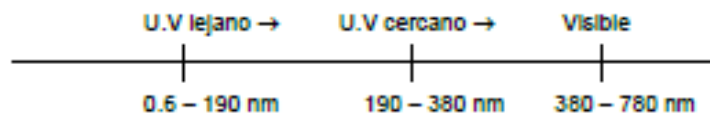
- Conocer los fundamentos de la espectrofotometría y las variables involucradas en la ley de Lambert-Beer.
- Seleccionar la longitud de onda apropiada para las mediciones de absorbancia.
- Construir una curva patrón de soluciones de yodo (serie tipo).

III. PROBLEMA

A partir del espectro de absorción, de una solución acuosa de yoduro (I_2), seleccionar la longitud de onda apropiada para determinar su coeficiente de absortividad molar a partir de una curva patrón.

IV. INTRODUCCIÓN.

La espectroscopia UV-Visible estudia el fenómeno de adsorción de la radiación UV-Visible de moléculas orgánicas e inorgánicas. La región visible, a la que es sensible el ojo humano, se localiza entre los 380 y 780 nm.



La absorción de la radiación ultravioleta o visible por moléculas, ya sean orgánicas o inorgánicas, generalmente se produce por la excitación de los electrones de enlace, por lo tanto, la longitud de onda de los máximos de absorción se puede relacionar con los enlaces de las especies absorbentes.

Los métodos espectroscópicos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber (o emitir) radiación electromagnética. Éstos se pueden emplear para determinar la concentración de un reactivo o producto durante una reacción.

El aparato detecta la cantidad de luz transmitida o absorbida a través de la solución en la celda y la compara con la que se transmite o absorbe a través de una solución de referencia denominada "blanco".

La transmitancia de la muestra se define como la relación de la radiación transmitida y la incidente ($T = I/I_0$). La disminución de la intensidad de la radiación depende de la concentración del absorbente y de la longitud del camino recorrido por el haz. Estas relaciones se recogen en la Ley de Lambert-Beer, la cual es el fundamento de la espectrofotometría.

$$A = -\log_{10} T = \epsilon b c$$

Establece una relación lineal entre la absorbancia (A) y la concentración (c), donde:

ϵ es la constante de proporcionalidad llamada coeficiente de absorción molar, absortividad molar o coeficiente de extinción ($M^{-1}cm^{-1}$). Es la característica de una sustancia que nos dice cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada.

b es el paso óptico, anchura de la celda que contiene la muestra (cm).

c es la concentración molar de la especie (M) de la cual estamos midiendo la absorbancia.

La ley de Lambert-Beer se cumple para una radiación monocromática que atraviesa una disolución diluida ($\geq 0.01M$), cuando la especie absorbente no participa en un equilibrio que dependa de su concentración.

Instrumentación:

Todo espectrofotómetro cuenta con los siguientes elementos:

Fuente de luz → selector de longitud de onda (monocromador) → Celda → detector
→ escala de medida

- **Fuente de luz:** un filamento de tungsteno que funciona mediante una fuente de alimentación estabilizada proporcionando una radiación de intensidad constante el tiempo suficiente para asegurar una buena reproducibilidad de las lecturas de absorbancia.
- **Selector de longitud de onda:** Se trata de una sencilla red de difracción, que permite separar la longitud de onda. Tras seleccionar la longitud de onda la radiación pasa a través de un controlador de luz, que consiste en una abertura en forma de V que se introduce o saca del haz para controlar la intensidad de luz que incide en la fotocelda.
- **Celda:** Que contiene a la solución, generalmente es de un material transparente que no absorbe la luz. Su longitud y capacidad varía según el equipo y diseño, pero el paso óptico es en la mayoría de los casos de 1 cm. Las hay de paredes cilíndricas o planas.
- **Detector:** A éste llega la radiación tras pasar por un filtro y por la muestra. Se trata de un fototubo de medida o transductor que recibe la señal de radiación electromagnética y la convierte en una señal eléctrica de magnitud proporcional a la intensidad de la radiación recibida. Este va acoplado a un sistema amplificador que produzca o genere una señal eléctrica mucho mayor a la señal recibida.. Se basa en el efecto fotoeléctrico de los metales que al irradiarlos generan electrones.

- **Escala de medida:** La señal eléctrica del detector una vez amplificada se registra bien en una escala analógica o en una pantalla digital que proporcionan los valores de Transmitancia y/o Absorbancia.

V. CUESTIONARIO PREVIO

1. ¿Cómo se determina el espectro de absorción una solución colorida?
2. ¿Cómo se selecciona la longitud de onda apropiada en un espectro para la aplicación en la determinación de concentraciones por espectrofotometría?
3. ¿Qué establece la ley de Lambert-Beer?
4. ¿Qué es, para qué sirve y cómo se construye una curva patrón?
5. ¿Explica porque se requiere adicionar KI a la mezcla I_2 /agua?
6. ¿Cuál es la formula que relaciona la absorbancia con % transmitancia?

VII. DISEÑO EXPERIMENTAL

REACTIVOS

Solución de Yodo-Yodurado (I_2 -KI) 0.002M – 0.2 M
Agua destilada

Tarea	Riesgos identificados	Nivel de riesgo	Medidas de control / Trabajo seguro
Manipulación de las disoluciones	Iritación de piel, ojos y vías respiratorias.	BAJO	La manipulación de las disoluciones se puede realizar con guantes. Los estudiantes y profesor portan, en todo momento, lentes de seguridad y bata.

MATERIAL POR EQUIPO

Vaso de precipitados 50mL	5	Piseta con agua destilada	1
Espectrofotómetro	1	Propipeta	1
Celdas espectrofotométricas de poliestireno de 4.5 mL	2	Vaso de precipitados de 150 mL	1
Pipeta graduada de 10 mL	1		
Pipeta Pasteur	1		
Tubos de ensayo de 15 mL	6		

A) Calibrar el espectrofotómetro mediante los siguientes pasos:

Recomendaciones generales.

Identifica cada uno de los componentes del espectrofotómetro que vas a usar

1. Encender el espectrofotómetro y esperar 15 min para que se acondicione la lámpara de tungsteno.
2. Seleccionar la longitud de onda girando la perilla o presionando las flechas en el tablero del equipo, según el tipo de espectrofotómetro utilizado.

Calibración del espectrofotómetro y barrido del espectro de absorción

1. Encender el espectrofotómetro y esperar 15 minutos.
2. Seleccionar la longitud de onda más baja (se sugiere 330 nm). Ajustar con los botones de nm▲ y ▼nm hasta llegar a la longitud de onda deseada.
3. Introducir la celda con el blanco (disolvente con un volumen hasta la marca indicada; nunca llena) en la porta-celda, oprime la tecla de calibración en Absorbancia (0A/100%T) y esperar a que se ponga en ceros la absorbancia, a continuación, sacar la celda.
4. Introducir la celda con la solución de yodo (a una concentración de 1×10^{-3} M, para lo cual se tiene que hacer una dilución de la solución original 5:10), registrar el valor de absorbancia a una longitud de onda seleccionada (λ nm).
5. Incrementar en 10 nm la longitud de onda y repetir el procedimiento a partir del punto 3 y realizar lecturas hasta llegar a 520 nm. Registrar los datos de absorbancia en la tabla 1.

Analizar los resultados de la Tabla 1 con el fin de determinar el intervalo en el que el valor de la absorbancia no cambia como función de la longitud de onda. A partir de este intervalo seleccionar la λ de trabajo.

B) Curva patrón

1. Preparar soluciones de distinta concentración (Serie tipo), a partir de la solución de referencia I_2 -KI (0.002M - 0.2M).

Mezcla	Vol. De solución (I_2) (0.002 M) (mL)	Vol. De H ₂ O (mL)
1	5	5
2	4	6
3	3	7
4	2	8
5	1	9

2. Con el valor de la longitud de onda seleccionada a partir del espectro de absorción, realizar la calibración con el blanco, posteriormente determinar la absorbancia para cada solución de la serie tipo.
3. Agregar la Mezcla 1 a una celda espectrofotométrica

4. Medir la absorbancia de las disoluciones preparadas con diferentes concentraciones de la solución yodo-yodurada, utilizando el valor de λ de trabajo del punto anterior.

5. Reportar los valores de absorbancia en la Tabla 2 del protocolo experimental.

6. Construir la curva patrón, Abs vs $[I_3^-]$, a partir de los datos de la Tabla 2.

7. Realizar la regresión lineal a la curva patrón, reportando la ecuación de la línea recta resultante; así como, el valor del coeficiente de correlación (r^2).

VIII. DATOS, CÁLCULOS Y RESULTADOS

Número del Espectrofotómetro: _____ Modelo: _____

Tipo de celda: _____ Temperatura experimental: _____

1. Registrar los datos experimentales del espectro de absorción de la solución de yodo ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$) en la tabla 1.

Tabla 1. Absorbancia de la solución de yodo a diferentes longitudes de onda

Evento	λ (nm)	Absorbancia	Evento	λ (nm)	Absorbancia
1	330		11	430	
2	340		12	440	
3	350		13	450	
4	360		14	460	
5	370		15	470	
6	380		16	480	
7	390		17	490	
8	400		18	500	
9	410		19	510	
10	420		20	520	

2.- Registrar los datos experimentales de la curva patrón en la tabla 2.

TABLA. 2. Absorbancia a diferentes concentraciones molares de yodo a la longitud de onda seleccionada.

Mezcla	Vol. De solución (I_2) (0.002 M) (mL)	Vol. De H ₂ O (mL)	$[I_2]$ mol/L	Abs
1	5	5		
2	4	6		
3	3	7		
4	2	8		
5	1	9		

3. Algoritmo de cálculo.

- Explicar cómo se calcula la concentración de yodo en las mezclas de la tabla 2.
- Calcular y registrar las concentraciones de yodo en las mezclas de la tabla 2.

IX. ELABORACIÓN DE GRÁFICOS

- Trazar la gráfica Absorbancia vs. λ (Espectro de la solución de yodo).
- Trazar la gráfica Absorbancia vs. Concentración (Curva patrón).

X. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

- ¿A qué longitud de onda se localiza el máximo de absorbancia de la solución de yodo 1×10^{-3} M?
- Justifica la aplicación de la longitud de onda de para la determinación de la absorbancia de las soluciones de la serie tipo.
- ¿Qué expresión matemática presenta la grafica patrón?
- ¿Qué relación presenta la absorbancia con la concentración en la curva patrón?
- ¿Qué representa la pendiente de la gráfica de la curva patrón?

XI. CONCLUSIONES.

La conclusión debe ser individual

XII. MANEJO DE RESIDUOS.

Residuo	Cantidad	Riesgo	Forma de disposición

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Castellan, G. (1987). Fisicoquímica. 2ª Edición, Addison-Wesley Iberoamericana, USA.
- Hewitt, P. (1997). Conceptos de física. Limusa
- Levine, I. N. (1996). Fisicoquímica, 4ª edición Mc. Graw Hill.
- Laidler, K., (1997). Fisicoquímica, 1a. Edición CECSA.
- Douglas A. & Skoog. (2009) Fundamentos de Química Analítica. 8a. Ed. Ediciones Paraninfo, S.A.