

Principios de análisis instrumental

Douglas A. Skoog
F. James Holler
Stanley R. Crouch

Sexta edición

SEXTA EDICIÓN

Principios de análisis instrumental

Douglas A. Skoog

Stanford University

F. James Holler

University of Kentucky

Stanley R. Crouch

Michigan State University

Traductor:

María Bruna Josefina Anzures

Traductora profesional

Revisión técnica:

Francisco Rojo Callejas

Catedrático

Facultad de Química

Universidad Nacional Autónoma de México

Juan Alejo Pérez Legorreta

Profesor de Química Analítica

Escuela Superior de Ingeniería Química e

Industrias Extractivas

Instituto Politécnico Nacional



Australia • Brasil • Corea • España • Estados Unidos • Japón • México • Reino Unido • Singapur

Principios de análisis instrumental

Sexta edición

Douglas A. Skoog, F. James Holler y
Stanley R. Crouch

**Presidente de Cengage Learning
Latinoamérica:**

Javier Arellano Gutiérrez

**Director general México
y Centroamérica:**

Héctor Enrique Galindo Iturribarría

Director editorial Latinoamérica:

José Tomás Pérez Bonilla

Director de producción:

Raúl D. Zendejas Espejel

Editor:

Sergio Cervantes González

Editora de producción:

Abril Vega Orozco

Diseño de interiores:

Ellen Pettengell

Fotógrafo investigador:

Terri Wright

Diseño de portada:

Studio 2.0

Composición tipográfica:

Heriberto Gachuz Chávez

© D.R. 2008 por Cengage Learning Editores,
S.A. de C.V., una Compañía de Cengage
Learning, Inc.
Corporativo Santa Fe
Av. Santa Fe, núm. 505, piso 12
Col. Cruz Manca, Santa Fe
C.P. 05349, México, D.F.
Cengage Learning™ es una marca registrada
usada bajo permiso.

DERECHOS RESERVADOS. Ninguna parte de
este trabajo amparado por la Ley Federal del
Derecho de Autor, podrá ser reproducida,
transmitida, almacenada o utilizada en
cualquier forma o por cualquier medio, ya sea
gráfico, electrónico o mecánico, incluyendo,
pero sin limitarse a lo siguiente: fotocopiado,
reproducción, escaneo, digitalización,
grabación en audio, distribución en Internet,
distribución en redes de información o
almacenamiento y recopilación en sistemas de
información a excepción de lo permitido en el
Capítulo III, Artículo 27 de la Ley Federal del
Derecho de Autor, sin el consentimiento por
escrito de la Editorial.

Traducido del libro *Principles of Instrumental
Analysis*, Sixth Edition. Skoog, Holler and Crouch.
Publicado en inglés por Brooks/Cole © 2007
ISBN: 0-495-01201-7

Datos para catalogación bibliográfica:
Principios de análisis instrumental.
Sexta edición. Skoog, Douglas A., F. James Holler
y Stanley R. Crouch.

ISBN-13: 978-607-481-390-6

ISBN-10: 607-481-390-6

Visite nuestro sitio en:
<http://latinoamerica.cengage.com>

Contenido breve

Prefacio xi

CAPÍTULO UNO Introducción 1

SECCIÓN UNO

Mediciones básicas 25

CAPÍTULO DOS Componentes y circuitos eléctricos 26

CAPÍTULO TRES Amplificadores operacionales en los instrumentos químicos 59

CAPÍTULO CUATRO Electrónica digital y computadoras 80

CAPÍTULO CINCO Señales y ruido 110

Análisis instrumental en acción
El laboratorio analítico electrónico 127

SECCIÓN DOS

Espectroscopía atómica 131

CAPÍTULO SEIS Introducción a los métodos espectrométricos 132

CAPÍTULO SIETE Componentes de los instrumentos ópticos 164

CAPÍTULO OCHO Introducción a la espectrometría óptica atómica 215

CAPÍTULO NUEVE Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica 230

CAPÍTULO DIEZ Espectrometría de emisión atómica 254

CAPÍTULO ONCE Espectrometría de masas atómica 281

CAPÍTULO DOCE Espectroscopía atómica de rayos X 303

Análisis instrumental en acción
Control de mercurio 332

SECCIÓN TRES

Espectroscopía molecular 335

CAPÍTULO TRECE Introducción a la espectrometría por absorción molecular ultravioleta-visible 336

CAPÍTULO CATORCE Aplicaciones de la espectrometría por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible 367

CAPÍTULO QUINCE Espectrometría molecular por luminiscencia 399

CAPÍTULO DIECISÉIS Introducción a la espectrometría infrarroja 430

CAPÍTULO DIECISIETE Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo 455

CAPÍTULO DIECIOCHO Espectroscopía Raman 481

CAPÍTULO DIECINUEVE Espectroscopía de resonancia magnética nuclear 498

CAPÍTULO VEINTE Espectrometría de masas molecular 550

CAPÍTULO VEINTIUNO Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía 589

Análisis instrumental en acción
Evaluación de la autenticidad del mapa de Vinland: análisis de superficie al servicio de la historia, el arte y la medicina forense 624

SECCIÓN CUATRO

Química electroanalítica 627

CAPÍTULO VEINTIDÓS Introducción a la química electroanalítica 628

CAPÍTULO VEINTITRÉS Potenciometría 659

CAPÍTULO VEINTICUATRO Coulombimetría 697

CAPÍTULO VEINTICINCO Voltametría 716

Análisis instrumental en acción:
Medición de las partes para entender
el todo: el microfisiómetro 757

SECCIÓN CINCO

Métodos de separación 761

CAPÍTULO VEINTISÉIS Introducción a las separaciones cromatográficas 762

CAPÍTULO VEINTISIETE Cromatografía de gases 788

CAPÍTULO VEINTIOCHO Cromatografía de líquidos 816

CAPÍTULO VEINTINUEVE Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos 856

CAPÍTULO TREINTA Electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y fraccionamiento por flujo y campo 867

Análisis instrumental en acción:
Encontrando la acrilamida 890

SECCIÓN SEIS

Métodos diversos 893

CAPÍTULO TREINTA Y UNO Métodos térmicos 894

CAPÍTULO TREINTA Y DOS Métodos radioquímicos 909

CAPÍTULO TREINTA Y TRES Métodos automatizados de análisis 929

CAPÍTULO TREINTA Y CUATRO Determinación del tamaño de partícula 950

Análisis instrumental en acción:
El caso John Vollman 964

APÉNDICE UNO Evaluación de datos analíticos 967

APÉNDICE DOS Coeficientes de actividad 994

APÉNDICE TRES Algunos potenciales estándar y formales de electrodo 997

APÉNDICE CUATRO Compuestos recomendados para la preparación de disoluciones patrón de algunos elementos comunes 1001

Respuestas a problemas seleccionados 1003

Índice 1011

Contenido

Prefacio xi

CAPÍTULO UNO

Introducción 1

- 1A Clasificación de métodos analíticos 1
- 1B Tipos de métodos instrumentales 2
- 1C Instrumentos para análisis 3
- 1D Calibración de métodos instrumentales 11
- 1E Elección de un método analítico 17
- Preguntas y problemas 22

SECCIÓN UNO

Mediciones básicas 25

CAPÍTULO DOS

Componentes y circuitos eléctricos 26

- 2A Circuitos de corriente directa y mediciones 26
- 2B Circuitos de corriente alterna 32
- 2C Semiconductores y dispositivos con semiconductores 43
- 2D Suministros de potencia y reguladores 49
- 2E Dispositivos de lectura 51
- Preguntas y problemas 54

CAPÍTULO TRES

Amplificadores operacionales en los instrumentos químicos 59

- 3A Propiedades de los amplificadores operacionales 59
- 3B Circuitos para los amplificadores operacionales 62
- 3C Amplificación y medición de las señales de los transductores 66
- 3D Aplicaciones de los amplificadores operacionales al control del voltaje y la corriente 70
- 3E Aplicación de amplificadores operacionales a operaciones matemáticas 71
- 3F Amplificadores operacionales como comparadores 74

Preguntas y problemas 74

CAPÍTULO CUATRO

Electrónica digital y computadoras 80

- 4A Señales analógicas y digitales 81
- 4B Conteo y cálculos aritméticos con números binarios 81
- 4C Circuitos digitales elementales 83
- 4D Computadoras e instrumentos computarizados 90
- 4E Componentes de una computadora 92
- 4F Programas para las computadoras 97
- 4G Aplicaciones de las computadoras 103
- 4H Redes de computadoras 104
- Preguntas y problemas 108

CAPÍTULO CINCO

Señales y ruido 110

- 5A La relación señal/ruido 110
- 5B Fuentes de ruido en análisis instrumental 111
- 5C Intensificación de la relación señal/ruido 113
- Preguntas y problemas 124
- Análisis instrumental en acción**
- El laboratorio analítico electrónico 127**

SECCIÓN DOS

Espectroscopía atómica 131

CAPÍTULO SEIS

Introducción a los métodos espectrométricos 132

- 6A Propiedades generales de la radiación electromagnética 132
- 6B Propiedades ondulatorias de la radiación electromagnética 133
- 6C Propiedades mecánico-cuánticas de la radiación 144

- 6D Aspectos cuantitativos de las mediciones espectroquímicas 157
- Preguntas y problemas 159

CAPÍTULO SIETE

Componentes de los instrumentos ópticos 164

- 7A Diseños generales de instrumentos ópticos 164
- 7B Fuentes de radiación 166
- 7C Selectores de longitud de onda 175
- 7D Recipientes para las muestras 190
- 7E Transductores de radiación 191
- 7F Procesadores de señales y sistemas de lectura 202
- 7G Fibras ópticas 202
- 7H Tipos de instrumentos ópticos 203
- 7I Principios de las mediciones ópticas de transformada de Fourier 204
- Preguntas y problemas 212

CAPÍTULO OCHO

Introducción a la espectrometría óptica atómica 215

- 8A Espectros ópticos atómicos 215
- 8B Métodos de atomización 223
- 8C Métodos de introducción de la muestra 223
- Preguntas y problemas 228

CAPÍTULO NUEVE

Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica 230

- 9A Técnicas de atomización de muestras 230
- 9B Instrumentación de absorción atómica 237
- 9C Interferencias en espectroscopía de absorción atómica 241
- 9D Técnicas analíticas de absorción atómica 247
- 9E Espectroscopía de fluorescencia atómica 249
- Preguntas y problemas 250

CAPÍTULO DIEZ

Espectrometría de emisión atómica 254

- 10A Espectroscopía de emisión con fuentes de plasma 255
- 10B Espectroscopía de emisión con fuentes de arco y chispa 269
- 10C Fuentes diversas para espectroscopía de emisión óptica 273
- Preguntas y problemas 276

CAPÍTULO ONCE

Espectrometría de masas atómica 281

- 11A Algunos aspectos generales de la espectrometría de masas atómica 281
- 11B Espectrómetros de masas 283
- 11C Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción 291
- 11D Espectrometría de masas con fuente de chispa 299
- 11E Espectrometría de masas con descarga luminiscente 300
- 11F Otros métodos espectrométricos de masas 301
- Preguntas y problemas 301

CAPÍTULO DOCE

Espectroscopía atómica de rayos X 303

- 12A Principios fundamentales 303
- 12B Componentes de los instrumentos 310
- 12C Métodos de fluorescencia de rayos X 317
- 12D Métodos de absorción de rayos X 325
- 12E Microsonda de electrones 328
- Preguntas y problemas 328
- Análisis instrumental en acción
- Control de mercurio 332

SECCIÓN TRES

Espectroscopía molecular 335

CAPÍTULO TRECE

Introducción a la espectrometría por absorción molecular ultravioleta y visible 336

- 13A Medición de la transmitancia y la absorbancia 336
- 13B Ley de Beer 337
- 13C Efectos del ruido instrumental en los análisis espectrofotométricos 343
- 13D Instrumentación 348
- Preguntas y problemas 362

CAPÍTULO CATORCE

Aplicaciones de la espectrometría por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible 367

- 14A La magnitud de las absorptividades molares 367
- 14B Especies absorbentes 367

- 14C Aplicaciones cualitativas de la espectroscopía de absorción en las regiones ultravioleta y visible 372
- 14D Análisis cuantitativo mediante mediciones de absorción 374
- 14E Titulaciones fotométricas y espectrofotométricas 379
- 14F Métodos espectrofotométricos cinéticos 381
- 14G Estudios espectrofotométricos de iones complejos 384
- Preguntas y problemas 390

CAPÍTULO QUINCE

Espectrometría molecular por luminiscencia 399

- 15A Teoría de la fluorescencia y la fosforescencia 400
- 15B Instrumentos para medir fluorescencia y fosforescencia 411
- 15C Aplicaciones de los métodos fotoluminiscentes 418
- 15D Quimioluminiscencia 422
- Preguntas y problemas 426

CAPÍTULO DIECISÉIS

Introducción a la espectrometría infrarroja 430

- 16A Teoría de la espectrometría de absorción en el infrarrojo 431
- 16B Instrumentos para el infrarrojo 438
- 16C Fuentes y transductores de infrarrojo 449
- Preguntas y problemas 452

CAPÍTULO DIECISIETE

Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo 455

- 17A Espectrometría de absorción en el infrarrojo medio 455
- 17B Espectrometría de reflexión en el infrarrojo medio 469
- 17C Espectroscopía fotoacústica en el infrarrojo 472
- 17D Espectroscopía en el infrarrojo cercano 473
- 17E Espectroscopía en el infrarrojo lejano 476
- 17F Espectroscopía de emisión en el infrarrojo 476
- 17G Microespectrometría en el infrarrojo 477
- Preguntas y problemas 477

CAPÍTULO DIECIOCHO

Espectroscopía Raman 481

- 18A Teoría de la espectroscopía Raman 481
- 18B Instrumentos 487

- 18C Aplicaciones de la espectroscopía Raman 492
- 18D Otros tipos de espectroscopía Raman 493
- Preguntas y problemas 495

CAPÍTULO DIECINUEVE

Espectroscopía de resonancia magnética nuclear 498

- 19A Teoría de la resonancia magnética nuclear 499
- 19B Efectos del entorno en los espectros de resonancia magnética nuclear 510
- 19C Espectrómetros de resonancia magnética nuclear 521
- 19D Aplicaciones de la RMN de protones 526
- 19E Resonancia magnética nuclear del carbono 13 529
- 19F Aplicación de la resonancia magnética nuclear a otros núcleos 533
- 19G Impulsos múltiples y resonancia magnética nuclear multidimensional 534
- 19H Estudios de imágenes por resonancia magnética 537
- Preguntas y problemas 542

CAPÍTULO VEINTE

Espectrometría de masas molecular 550

- 20A Espectros de masas molecular 551
- 20B Fuentes de iones 551
- 20C Espectrómetros de masas 563
- 20D Aplicaciones de la espectrometría de masas molecular 577
- 20E Aplicaciones cuantitativas de la espectrometría de masas 583
- Preguntas y problemas 585

CAPÍTULO VEINTIUNO

Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía 589

- 21A Introducción al estudio de las superficies 589
- 21B Métodos espectroscópicos para superficies 590
- 21C Espectroscopía de electrones 591
- 21D Técnicas espectroscópicas con iones 602
- 21E Métodos espectroscópicos de fotones para superficies 604
- 21F Métodos de microanálisis estimulados por electrones 607
- 21G Microscopios de sonda de barrido 613
- Preguntas y problemas 622
- Análisis instrumental en acción**
- Evaluación de la autenticidad del mapa de Vinland: los análisis de las superficies al servicio de la historia, el arte y las ciencias forenses 624**

SECCIÓN CUATRO**Química electroanalítica 627****CAPÍTULO VEINTIDÓS****Introducción a la química electroanalítica 628**

- 22A Celdas electroquímicas 628
- 22B Potenciales en celdas electroanalíticas 633
- 22C Potenciales de electrodo 635
- 22D Cálculo de potenciales de celda a partir de potenciales de electrodo 645
- 22E Corrientes en celdas electroquímicas 647
- 22F Tipos de métodos electroanalíticos 653
- Preguntas y problemas 653

CAPÍTULO VEINTITRÉS**Potenciometría 659**

- 23A Principios generales 659
- 23B Electrodo de referencia 660
- 23C Electrodo indicadores metálicos 662
- 23D Electrodo indicadores de membrana 664
- 23E Transistores de efecto de campo selectivos de iones 675
- 23F Sistemas de electrodo sensible a moléculas 677
- 23G Instrumentos para medir potenciales de celda 684
- 23H Medidas potenciométricas directas 686
- 23I Titulaciones potenciométricas 691
- Preguntas y problemas 692

CAPÍTULO VEINTICUATRO**Coulombimetría 697**

- 24A Relaciones corriente-voltaje durante la electrólisis 697
- 24B Introducción a los métodos coulombimétricos de análisis 701
- 24C Coulombimetría a potencial controlado 703
- 24D Titulaciones coulombimétricas 707
- Preguntas y problemas 712

CAPÍTULO VEINTICINCO**Voltametría 716**

- 25A Señales de excitación en voltametría 717
- 25B Instrumentos en voltametría 718
- 25C Voltametría hidrodinámica 723
- 25D Voltametría cíclica 737
- 25E Voltametría de pulsos 742

- 25F Voltametría de alta frecuencia y alta velocidad 745
- 25G Aplicaciones de la voltametría 746
- 25H Métodos de redisolución 748
- 25I Voltametría con microelectrodos 751
- Preguntas y problemas 753
- Análisis instrumental en acción**
- Medición de las partes para entender el todo: el microfisiómetro 757**

SECCIÓN CINCO**Métodos de separación 761****CAPÍTULO VEINTISÉIS****Introducción a las separaciones cromatográficas 762**

- 26A Descripción general de la cromatografía 762
- 26B Velocidades de migración de los solutos 765
- 26C Ensanchamiento de banda y eficiencia de la columna 768
- 26D Mejoramiento del rendimiento de la columna 775
- 26E Resumen de las ecuaciones cromatográficas 781
- 26F Aplicaciones de la cromatografía 781
- Preguntas y problemas 785

CAPÍTULO VEINTISIETE**Cromatografía de gases 788**

- 27A Principios de la cromatografía gas-líquido 788
- 27B Instrumentos para la cromatografía gas-líquido 789
- 27C Columnas para cromatografía de gases y fases estacionarias 800
- 27D Aplicaciones de la cromatografía de gases 806
- 27E Innovaciones en cromatografía de gases 808
- 27F Cromatografía gas-sólido 810
- Preguntas y problemas 811

CAPÍTULO VEINTIOCHO**Cromatografía de líquidos 816**

- 28A Campo de aplicación de la cromatografía de líquidos de alta resolución 816
- 28B Eficiencia de la columna en la cromatografía de líquidos 817
- 28C Instrumentos para cromatografía de líquidos 818
- 28D Cromatografía de reparto 828
- 28E Cromatografía de adsorción 837

- 28F Cromatografía iónica 839
- 28G Cromatografía de exclusión por tamaño 844
- 28H Cromatografía por afinidad 848
- 28I Cromatografía en capa fina 848
- Preguntas y problemas 851

CAPÍTULO VEINTINUEVE

Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos 856

- 29A Propiedades de los fluidos supercríticos 856
- 29B Cromatografía de fluidos supercríticos 857
- 29C Extracción con fluidos supercríticos 862
- Preguntas y problemas 865

CAPÍTULO TREINTA

Electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y fraccionamiento por flujo y campo 867

- 30A Panorama de la electroforesis 867
- 30B Electroforesis capilar 868
- 30C Aplicaciones de la electroforesis capilar 875
- 30D Electrocromatografía en columna empacada 883
- 30E Fraccionamiento por flujo y campo 884
- Preguntas y problemas 888
- Análisis instrumental en acción**
- Encontrando la acrilamida 890**

SECCIÓN SEIS

Métodos diversos 893

CAPÍTULO TREINTA Y UNO

Métodos térmicos 894

- 31A Análisis termogravimétrico 894
- 31B Análisis térmico diferencial 898
- 31C Calorimetría de barrido diferencial 900
- 31D Análisis microtérmico 904
- Preguntas y problemas 906

CAPÍTULO TREINTA Y DOS

Métodos radioquímicos 909

- 32A Núclidos radiactivos 909
- 32B Instrumentos 916
- 32C Métodos de activación de neutrones 918

- 32D Métodos de dilución isotópica 924
- Preguntas y problemas 925

CAPÍTULO TREINTA Y TRES

Métodos automatizados de análisis 929

- 33A Panorama general 929
- 33B Análisis por inyección en flujo 931
- 33C Microflujos 940
- 33D Sistemas automáticos discretos 942
- Preguntas y problemas 948

CAPÍTULO TREINTA Y CUATRO

Determinación del tamaño de partícula 950

- 34A Introducción al análisis del tamaño de partícula 950
- 34B Dispersión de luz láser de ángulo bajo 951
- 34C Dispersión dinámica de luz 955
- 34D Fotosedimentación 958
- Preguntas y problemas 962

Análisis instrumental en acción

El caso John Vollman 964

APÉNDICE 1 Evaluación de datos analíticos 967

- a1A Precisión y exactitud 967
- a1B Tratamiento estadístico de los errores aleatorios 971
- a1C Pruebas de hipótesis 983
- a1D Método de mínimos cuadrados 985
- Preguntas y problemas 988

APÉNDICE 2 Coeficientes de actividad 994

- a2A Propiedades de los coeficientes de actividad 994
- a2B Evaluación experimental de los coeficientes de actividad 995
- a2C La ecuación de Debye-Hückel 995

APÉNDICE 3 Algunos potenciales estándar y formales de electrodo 997

APÉNDICE 4 Compuestos recomendados para la preparación de disoluciones patrón de algunos elementos comunes 1001

Respuestas a problemas seleccionados 1003

Índice 1011

Prefacio

En la actualidad hay una gran cantidad de instrumentos impresionantes e ingeniosos con los que se puede obtener información cualitativa y cuantitativa acerca de la composición y estructura de la materia. Los estudiantes de química, bioquímica, física, geología y ciencias naturales deben adquirir un conocimiento de estas herramientas instrumentales y de sus aplicaciones con el fin de resolver importantes problemas analíticos en estos campos. Este libro pretende satisfacer estas necesidades de los estudiantes y de otros usuarios de los instrumentos analíticos.

Si quienes usan los instrumentos conocen los principios de operación de los equipos modernos, podrán hacer elecciones apropiadas y usar con eficacia dichas herramientas de medición. A menudo hay una cantidad sorprendente de métodos diferentes para resolver un problema analítico, pero si se entienden las ventajas y limitaciones de las herramientas, es posible elegir los instrumentos más adecuados y estar al tanto de sus restricciones de sensibilidad, precisión y exactitud. Además, es necesario tener conocimiento de los principios de medición para calibrar, estandarizar y validar los métodos instrumentales. Por tanto, el objetivo de los autores es presentar a los lectores una introducción completa de los principios del análisis instrumental, sin olvidar los métodos analíticos espectroscópicos, electroquímicos, cromatográficos, radioquímicos, térmicos y de superficie. Mediante el estudio cuidadoso de esta obra, los lectores descubrirán los tipos de instrumentos disponibles comercialmente y sus posibilidades de uso y limitaciones.

ORGANIZACIÓN DE LA OBRA

El texto está organizado en secciones, en forma similar a la quinta edición. Después de un breve capítulo como introducción, el libro se divide en seis secciones.

- La sección 1 contiene cuatro capítulos que tratan sobre los circuitos eléctricos básicos, amplificado-

res operacionales, aparatos electrónicos digitales y computadoras, señales, ruido e intensificación de la razón señal-ruido.

- En la sección 2 se encuentran siete capítulos dedicados a los métodos espectrométricos atómicos, incluso una introducción a la espectroscopía y los instrumentos espectroscópicos, absorción atómica, emisión atómica, espectrometría de masas atómica y espectrometría de rayos X.
- En la sección 3 se trata la espectroscopía molecular en nueve capítulos que explican la absorción, emisión, luminiscencia, infrarrojo, Raman, resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas y métodos de superficie analíticos.
- La sección 4 está conformada por cuatro capítulos que tratan sobre la química electroanalítica, potenciometría, coulombimetría y voltametría.
- La sección 5 consta de cinco capítulos en los que se estudian los métodos de separación analítica como la cromatografía de gases y de líquidos, la cromatografía de fluidos supercríticos, la electroforesis y el fraccionamiento de flujo del campo.
- Para finalizar, la sección 6 consta de cuatro capítulos que estudian diversos métodos instrumentales, pero se destacan los térmicos, radioquímicos y automáticos. También está incluido un capítulo sobre análisis del tamaño de partícula en la sección final.

Puesto que la primera edición de esta obra apareció en 1971, el campo del análisis instrumental se ha vuelto tan vasto y diverso que es imposible tratar todas las técnicas instrumentales modernas en un curso de uno o dos semestres. Además, los maestros tienen diferentes opiniones sobre cuáles técnicas tratar y cuáles omitir en sus cursos. Por esta razón, en este texto se ha incluido más material del que se puede tratar en un solo curso de análisis instrumental y, como resultado, la obra también será una referencia invaluable en los años por venir. Una gran ventaja de la organización en secciones del material es que los maestros gozan de

amplia flexibilidad para elegir los temas que desean incluir en sus cursos. Por tanto, como en la edición anterior, las secciones de espectroscopía atómica y molecular, electroquímica y cromatografía inician con capítulos introductorios que preceden a los capítulos que se dedican a los métodos específicos de cada tipo. Después de estudiar el capítulo introductorio en una sección, el maestro puede seleccionar los capítulos que seguirán en el orden que prefiera. Para ayudar al estudiante a usar este libro, al final se proporcionan las respuestas a los problemas numéricos.

NOVEDADES EN ESTA EDICIÓN

- Se ha incluido un nuevo capítulo sobre la determinación del tamaño de las partículas (capítulo 34). Las propiedades físicas y químicas de muchos materiales de investigación y productos para el consumidor y la industria están relacionadas estrechamente con su distribución de tamaño de las partículas. Como resultado, los análisis para determinar las dimensiones de las partículas se convirtió en una técnica importante en muchos laboratorios de investigación e industriales.
- Se añadieron nuevas e impresionantes características al *Análisis instrumental en acción* al final de cada una de las seis secciones. Estos estudios explican la manera en que algunos de los métodos que se presentan en las secciones se pueden aplicar a un problema analítico específico. Estos ejemplos estimulantes se seleccionaron de las áreas forense, ambiental y biomédica.
-  En toda la obra se han incluido aplicaciones de las hojas de cálculo para ilustrar cómo estos ingeniosos programas se pueden aplicar a los métodos instrumentales. Los problemas acompañados por este símbolo  estimulan el uso de las hojas de cálculo. En caso de que se requiera un enfoque más detallado o que sean apropiadas otras lecturas complementarias se recomienda a los lectores que consulten el libro, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry* (Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004), con el propósito de que obtengan ayuda para entender las aplicaciones.
- La obra está impresa en diferentes tonos de gris para ayudar a entender las figuras y los esquemas del libro. El tono más claro de gris ayuda en el seguimiento del flujo de la información en los diagramas, aclara las gráficas; proporciona claves para correlacionar datos que aparecen en gráficas, diagramas y esquemas, y hace agradable el aspecto de toda la obra.

- Un *Problema de reto* con final abierto provee una experiencia orientada hacia la investigación en cada capítulo, la cual requiere leer el trabajo original de química analítica, derivaciones, análisis extensos de datos experimentales reales y la solución de problemas creativos.
- Todos los capítulos se revisaron y actualizaron con referencias a trabajos recientes de química analítica. Entre los capítulos que se cambiaron ampliamente están los de espectrometría de masas (capítulos 11 y 20), caracterización de las superficies (capítulo 21), voltametría (capítulo 25), cromatografía (capítulos 26 y 27) y análisis térmicos (capítulo 31). A lo largo de todo el libro se describen métodos y técnicas nuevos y actualizados, y se agregaron fotografías de instrumentos comerciales específicos donde así convino. Entre algunos de los temas modernos están la espectrometría de plasma, la compensación por fluorescencia y las mediciones del tiempo de vida, la espectrometría de masas en tándem y los biosensores.
- Muchas gráficas, diagramas y esquemas nuevos y revisados contienen datos, curvas y ondas calculadas mediante la teoría u obtenidos a partir de los trabajos originales para proporcionar una representación exacta y real.
- En todo el libro se intentó presentar el material en un estilo que le resulte accesible al estudiante y de una manera activa y cautivadora a la vez. Los ejemplos están distribuidos por todos los capítulos con el fin de ayudar a resolver problemas pertinentes e interesantes. Las soluciones a los problemas en cada ejemplo están marcadas de tal modo que los estudiantes pueden separar el planteamiento del problema de la solución.

MATERIAL AUXILIAR

-  El sitio que asesora al estudiante que usa el libro es <http://latinoamerica.cengage.com/skoog> e incluye más de 100 asesorías interactivas sobre métodos instrumentales, simulaciones de técnicas analíticas, ejercicios y animaciones para ayudar al estudiante a visualizar conceptos importantes. Además, se pueden bajar los archivos en Excel que contienen información y hojas de cálculo de muestra. También están disponibles en archivos PDF trabajos seleccionados de las publicaciones sobre química, con el fin de captar el interés del estudiante y proporcionar información básica para el estudio. En todo el libro, esta viñeta  alerta y anima al

estudiante a incorporar el sitio de la red en sus estudios.

Material de apoyo para el profesor

Este libro cuenta con una serie de recursos para el profesor, los cuales están disponibles en inglés y sólo se proporcionan a los docentes que lo adopten como texto en sus cursos. Para mayor información, póngase en contacto con el área de servicio a clientes en las siguientes direcciones de correo electrónico:

Cengage Learning México y centroamérica
clientes.mexicoca@cengage.com

Cengage Learning Caribe
clientes.caribe@cengage.com

Cengage Learning Cono Sur
clientes.conosur@cengage.com

Cengage Learning Paraninfo
clientes.paraninfo@cengage.com

Cengage Learning Pacto Andino
clientes.pactoandino@cengage.com

Los recursos disponibles se encuentran en el sitio web del libro:

<http://latinoamerica.cengage.com/skoog>

Las direcciones de los sitios web referidas en el texto no son administradas por Cengage Learning Latinoamérica, por lo que ésta no es responsable de los cambios o actualizaciones de las mismas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer todas las contribuciones de los revisores y las críticas de todas las partes del manuscrito. Entre los que ofrecieron numerosas y útiles recomendaciones y correcciones están:

Larry Bowman, University of Alaska en Fairbanks
John Dorsey, Florida State University
Constantinos E. Efstathiou, University of Athens
Dale Ensor, Tennessee Tech University
Doug Gilman, Louisiana State University
Michael Ketterer, Northern Arizona University
Robert Kiser, University of Kentucky
Michael Koupparis, University of Athens
David Ryan, University of Massachusetts-Lowell
Alexander Scheeline, University of Illinois at Urbana-Champaign
Dana Spence, Wayne State University

Apryll Stalcup, University of Cincinnati
Greg Swain, Michigan State University
Dragic Vukomanovic, University of Massachusetts-Dartmouth

Mark Wightman, University of North Carolina
Charles Wilkins, University of Arkansas
Steven Yates, University of Kentucky

Los autores expresan su gratitud por la ayuda experta de David Zeilmer, de la California State University en Fresno, quien revisó la mayor parte de los capítulos y fungió como revisor acucioso de todo el manuscrito. Apreciamos sus esfuerzos de todo corazón.

Agradecemos en especial a Janette Carver, jefa de la biblioteca de física de la University of Kentucky Chemistry, quien además de ser una excelente bibliotecónoma nos proporcionó servicios valiosos en la biblioteca y ayuda técnica para poder usar los recursos electrónicos en nuestro provecho.

Numerosos fabricantes de instrumentos analíticos y otros productos y servicios relacionados con la química analítica contribuyeron con diagramas, notas de aplicación y fotografías de sus productos. Agradecemos en forma especial a Agilent Technologies, Bioanalytical Systems, Beckman Coulter, Inc., Brinkman Instruments, Caliper Life Sciences, Hach Co., Hamamatsu Photonics, InPhotonics, Inc., Kaiser Optical Systems, Leeman Labs, LifeScan, Inc., Mettler Toledo, Inc., National Instruments Corp., Ocean Optics, Inc., Perkin-Elmer Corp., Postnova Analytics, Spectro Analytical Instruments, T. A. Instruments, Thermo-Electron Corp. y Varian, Inc. por proporcionarnos fotografías.

Estamos en deuda con los muchos miembros del equipo de Brooks/Cole — Thomson Learning, ahora Cengage Learning, por su excelente ayuda durante la producción de este libro. La editora de desarrollo, Sandra Kiselica, hizo un maravilloso trabajo al organizar el proyecto, estimular a los autores para que no dejaran el trabajo y hacer importantes comentarios y recomendaciones. Agradecemos a todas las personas que participaron en la producción de esta obra. También agradecemos a Katherine Bishop, quien fue la coordinadora del proyecto, y a Belinda Krohmer, la jefa del proyecto en Brooks/Cole. Para finalizar queremos reconocer el apoyo y la ayuda del editor David Harns. Su paciencia, comprensión y guía fueron invaluable para la conclusión de este proyecto.

Douglas A. Skoog
F. James Holler
Stanley R. Crouch

Introducción

La química analítica trata de los métodos para determinar la composición química de muestras de materia. Un **método cualitativo** proporciona información relacionada con la identidad de la especie atómica o molecular o de los grupos funcionales que están en la muestra. En cambio, un **método cuantitativo** proporciona información numérica como la cantidad relativa de uno o más de estos componentes.



A lo largo de todo el libro este logotipo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio de red <http://latinoamerica.cengage.com/skoog> para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

1A CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Los métodos analíticos se clasifican con frecuencia en *clásicos* o *instrumentales*. Los clásicos, a veces llamados *métodos de química húmeda*, precedieron a los métodos instrumentales por un siglo o más.

1A.1 Métodos clásicos

En la época temprana de la química la mayor parte de los análisis se ejecutaban separando los componentes de interés, los *analitos*, que se encontraban en una muestra mediante precipitación, extracción o destilación. En el caso de los análisis cualitativos, los componentes separados se trataban después con reactivos que originaban productos que se podían identificar por su color, por sus temperaturas de ebullición o de fusión, sus solubilidades en una serie de disolventes, sus olores, sus actividades ópticas o por sus índices de refracción. En el caso de los análisis cuantitativos, la cantidad de analito se determinaba mediante mediciones *gravimétricas* o *volumétricas*.

En las mediciones gravimétricas se determinaba la masa del analito o de algún compuesto producido a partir de él. En los procedimientos volumétricos, también llamados *titulométricos*, se medía el volumen o la masa de un reactivo estándar necesario para reaccionar por completo con el analito.

Estos métodos clásicos para separar y determinar analitos se usan todavía en muchos laboratorios. Sin embargo, el grado de su aplicación general está disminuyendo con el paso del tiempo y con el surgimiento de métodos instrumentales para reemplazarlos.

1A.2 Métodos instrumentales

A principios del siglo xx, los científicos empezaron a explotar fenómenos distintos de los usados en los métodos clásicos para resolver problemas analíticos. Por tanto, la medición de propiedades físicas del analito, tales como conductividad, potencial de electrodo, absorción de la luz o emisión de la luz, relación masa/carga y fluorescencia empezaron a usarse en el análisis cuantitativo. Además, técnicas cromatográficas y electroforéticas muy efectivas empezaron a reemplazar la destilación, la extracción y la precipitación para la separación de componentes de mezclas complejas antes de su determinación cualitativa o cuantitativa. Estos métodos más recientes para separar y determinar especies químicas se conocen como *métodos instrumentales de análisis*.

Muchos de los fenómenos sobre los que se apoyan los métodos instrumentales se han conocido desde hace un siglo o más. Sin embargo, su aplicación por parte de la mayoría de los científicos se retrasó por la carencia de instrumentos confiables y sencillos. De hecho, el desarrollo de los modernos métodos instrumentales de análisis es paralelo al desarrollo de la electrónica y la industria de la computación.

1B TIPOS DE MÉTODOS INSTRUMENTALES

Considere primero algunas características químicas y físicas que son útiles en el análisis cualitativo o cuantitativo. En la tabla 1.1 se enlista la mayor parte de las propiedades características que se usan en la actualidad en el análisis instrumental. La mayor parte de ellas requiere una fuente de energía para estimular una respuesta que se puede medir en un analito. Por ejemplo, en la emisión atómica se requiere un aumento de temperatura del analito para producir primero átomos de analito gaseosos y luego para excitarlos y llevarlos a estados de energía superiores. Entonces, los átomos en estado excitado emiten radiación electromagnética característica, la cual es medida por un instrumento. Las fuentes de energía pueden tomar la forma de un cambio térmico rápido como en el ejemplo anterior; la

radiación electromagnética de una región seleccionada del espectro; la aplicación de una cantidad eléctrica, como voltaje, corriente o carga; o tal vez formas intrínsecas más tenues del mismo analito.

Observe que las primeras seis entradas de la tabla 1.1 se relacionan con interacciones del analito con la radiación electromagnética. En la primera propiedad, el analito produce la energía radiante; las siguientes cinco propiedades se relacionan con cambios en la radiación electromagnética provocados por su interacción con la muestra. Luego siguen cuatro propiedades eléctricas. Para finalizar, se agrupan cinco propiedades diversas: masa, relación masa-carga, velocidad de reacción, características térmicas y radiactividad.

La segunda columna de la tabla 1.1 lista los métodos instrumentales que se basan en las propiedades físicas y químicas. Dése cuenta de que no siempre es fácil elegir el método óptimo de entre las técnicas instrumentales disponibles y sus equivalentes clásicos. Algunas técnicas instrumentales son más sensibles que las técnicas clásicas, pero otras no. Con ciertas combinaciones de elementos o de compuestos, un método instrumental puede ser más selectivo, pero con otras un método gravimétrico o volumétrico podría sufrir menos interferencia. Igualmente difíciles de plantear son las generalizaciones con base en la exactitud, la conveniencia o el tiempo necesario. No siempre es cierto que los procedimientos instrumentales emplean aparatos más complicados o más costosos.

TABLA 1.1 Propiedades químicas y físicas usadas en los métodos instrumentales

Propiedades características	Métodos instrumentales
Emisión de radiación	Espectroscopia de emisión (rayos X, UV, luz visible, de electrones, de Auger); fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia (rayos X, UV y luz visible)
Absorción de radiación	Espectrofotometría y fotometría (rayos X, UV, luz visible, IR); espectroscopia fotoacústica; resonancia magnética nuclear y espectroscopia de resonancia de espín electrónico
Dispersión de radiación	Turbidimetría; nefelometría; espectroscopia Raman
Refracción de radiación	Refractrometría; interferometría
Difracción de radiación	Métodos de rayos X y difracción electrónica
Rotación de radiación	Polarimetría; dispersión óptica rotatoria; dicroísmo circular
Potencial eléctrico	Potenciometría; cronopotenciometría
Carga eléctrica	Coulombimetría
Corriente eléctrica	Amperometría; polarografía
Resistencia eléctrica	Conductometría
Masa	Gravimetría (microbalanza de cristal de cuarzo)
Razón masa/carga	Espectrometría de masas
Velocidad de reacción	Métodos cinéticos
Características térmicas	Gravimetría térmica y titulometría; calorimetría de barrido diferencial; análisis térmicos diferenciales; métodos conductimétricos térmicos
Radiactividad	Métodos de activación y de dilución de isótopos

Como ya se mencionó antes, además de la gran cantidad de métodos enlistados en la segunda columna de la tabla 1.1, hay un grupo de procedimientos instrumentales que se utilizan para separar y resolver compuestos relacionados estrechamente. Muchas de estas técnicas se basan en la cromatografía, la extracción mediante disolventes o la electroforesis. Una de las características que se mencionan en la tabla 1.1 se suele usar para completar el análisis después de las separaciones cromatográficas. De esta manera, por ejemplo, la conductividad térmica, la absorción UV e IR, el índice de refracción y la conductancia eléctrica se usan con este objetivo.

Este texto trata sobre los principios, las aplicaciones y las características de rendimiento de los métodos instrumentales de la tabla 1.1, así como de los procedimientos de separación electroforética y cromatográfica. No se estudian los métodos clásicos porque se supone que el lector ya estudió antes estas técnicas.

1C INSTRUMENTOS PARA ANÁLISIS

Un instrumento para análisis químico convierte la información acerca de las características físicas o químicas de un analito en datos que puede manipular e interpretar el ser humano. Por tanto, un instrumento analítico se puede considerar como un dispositivo de comunicación entre el sistema motivo de estudio y el investigador. Para recuperar la información deseada del analito, es necesario proporcionar un estímulo, el cual está casi siempre en la forma de energía electromagnética, eléctrica, mecánica o nuclear, como se ilustra en la figura 1.1. El estímulo extrae una respuesta del sistema en estudio cuya naturaleza y magnitud están regidas por las leyes fundamentales de la química y la física. La información resultante está contenida en los fenómenos que resultan de la interacción del estímulo con el analito. Un ejemplo común es pasar una banda angosta de longitudes de onda de luz visible a través de una muestra para medir qué tanto es absorbida por el analito. La intensidad de la luz se determina antes y después de la interacción con la muestra,

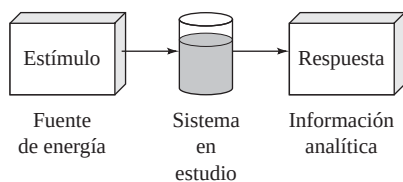


FIGURA 1.1 Diagrama de bloques en el que se muestra el proceso global de una medición con instrumentos.

y la relación de estas intensidades proporciona una medida de la concentración del analito.

En general, los instrumentos para análisis químico constan de sólo unos cuantos elementos básicos, algunos de los cuales se enlistan en la tabla 1.2. Con el fin de entender las relaciones entre las piezas de estos instrumentos y el flujo de información desde las características del analito, pasando por todos los componentes hasta los resultados numéricos o gráficas que produce el instrumento, conviene explorar cómo se puede representar y transformar la información de interés.

1C.1 Dominios de los datos

El proceso de medición se vale de una gran diversidad de dispositivos que convierten la información de una forma en otra. Antes de investigar cómo funciona el instrumento, vale la pena entender la manera en que la información se puede *codificar* o representar mediante características físicas y químicas, y en particular por medio de *señales eléctricas*, como la corriente, el voltaje y la carga. Los diversos modos de codificar la información se llaman *dominios de los datos*. Con base en este concepto se desarrolló un esquema de clasificación que simplifica en gran medida el análisis de los sistemas instrumentales y facilita la comprensión del proceso de medición.¹ Como se ilustra en el mapa del dominio de los datos de la figura 1.2, los dominios de los datos se podrían clasificar en *dominios no eléctricos* y *dominios eléctricos*.

1C.2 Dominios no eléctricos

El proceso de medición empieza y termina en los dominios no eléctricos. La información física y química que interesa en un experimento particular reside en estos dominios de datos. Entre estas características están la longitud, la densidad, la composición química, la intensidad de la luz, la presión y otras que se proporcionan en la primera columna de la tabla 1.1.

Es posible tomar una medida y hacer que la información radique del todo en los dominios no eléctricos. Por ejemplo, la determinación de la masa de un objeto mediante una balanza mecánica de brazos iguales compara la masa del objeto, el cual se coloca en uno de los platos de la balanza, y los pesos patrones que se sitúan en el otro. El experimentador codifica directamente la información que representa la masa del objeto en unidades estándar, y él mismo proporciona

¹ C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, p. 69A.

TABLA 1.2 Algunos ejemplos de partes de instrumentos.

Instrumento	Fuente de energía (estímulo)	Información analítica	Clasificador de la información	Transductor de entrada	Dominio de los datos de la información transducida	Procesador de la señal/ Lectura de salida
Fotómetro	Lámpara de tungsteno	Haz luminoso atenuado	Filtro	Fotodiodo	Corriente eléctrica	Amplificador, digitalizador pantalla de diodos emisores de luz
Espectrómetro de emisión atómica	Plasma de acoplamiento inductivo	Radiación UV o visible	Monocromador	Tubo fotomultiplicador	Corriente eléctrica	Amplificador, digitalizador, pantalla digital
Coulombímetro	Fuente de corriente directa	Carga requerida para reducir u oxidar el analito	Potencial de celda	Electrodos	Tiempo	Amplificador, reloj digital
Medidor de pH	Muestra/ Electrodo de vidrio	Actividad del ion hidrógeno	Electrodo de vidrio	Electrodos de vidrio y calomel	Potencial eléctrico	Amplificador, digitalizador, pantalla digital
Espectrómetro de masas	Fuente de iones	Razón masa-carga	Analizador de masa	Multiplicador electrónico	Corriente eléctrica	Amplificador, digitalizador, sistema computarizado
Cromatografía de gases con detector de ionización de llama	Llama	Concentración de iones contra tiempo	Columna cromatográfica	Electrodos polarizados	Corriente eléctrica	Electrómetro, digitalizador, sistema computarizado

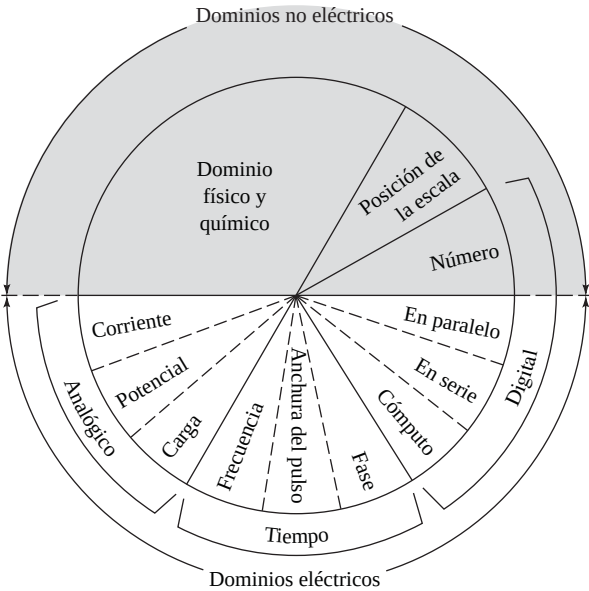


FIGURA 1.2 Mapa del dominio de los datos. La mitad superior sombreada del mapa consta de dominios no eléctricos. La mitad inferior está constituida por dominios eléctricos. Observe que el dominio digital abarca tanto los dominios eléctricos como los no eléctricos.

la información que procesa sumando las masas para obtener un número. En otras balanzas mecánicas, la fuerza gravitacional que actúa sobre una masa se amplifica en forma mecánica haciendo uno de los brazos de la balanza más largo que el otro, lo cual incrementa la resolución de la medida.

La determinación de las dimensiones lineales de un objeto mediante una regla y las medidas del volumen de una muestra de líquido por medio de un recipiente graduado son otros ejemplos de medición efectuada exclusivamente en dominios no eléctricos. Estas medidas se relacionan a menudo con métodos analíticos clásicos. El surgimiento de los procesadores de señales electrónicos baratos, los transductores sensibles y los dispositivos que proporcionan las lecturas ocasionó el desarrollo de una gran diversidad de instrumentos electrónicos, los cuales reciben la información de los dominios no eléctricos, la procesan en los dominios eléctricos y, para finalizar, la presentan en una forma no electrónica. Los instrumentos electrónicos procesan la información y la pasan de un dominio a otro en



Clases interactivas: aprenda más acerca de los dominios de los datos.

forma análoga a la multiplicación de masa en las balanzas mecánicas de brazos desiguales. Puesto que estos dispositivos se encuentran con facilidad en el mercado y son capaces de procesar con rapidez información complicada, los instrumentos que se apoyan exclusivamente en la transferencia de información no eléctrica se vuelven obsoletos en un abrir y cerrar de ojos. Sin embargo, la información que se busca inicia en las propiedades del analito y termina en un número, y ambas son representaciones no eléctricas. El principal objetivo de una medición analítica es obtener un resultado numérico final que sea proporcional a la característica física o química del analito que se buscaba.

1C.3 Dominios eléctricos

Los modos para codificar la información como cantidades eléctricas se pueden subdividir en *dominios analógicos*, *dominios de tiempo* y *dominio digital*, como se ilustra en la mitad inferior del mapa circular de la figura 1.2. Observe que el dominio digital, además de estar formado por señales eléctricas, contiene una representación no eléctrica porque los números que aparecen sobre cualquier tipo de pantalla contienen información digital.

Cualquier proceso de medida se puede representar como una serie de *conversiones entre dominios*. Por ejemplo, en la figura 1.3 se ilustra la medida de la intensidad de la fluorescencia molecular de una muestra de agua tónica que contiene trazas de quinina, y de manera general, algunas de las conversiones de los

dominios de los datos que son necesarias para llegar a conocer una cantidad relacionada con la intensidad. La intensidad de la fluorescencia es importante en este contexto porque es proporcional a la concentración de la quinina en el agua tónica, la cual es en última instancia la información que buscamos. La información empieza en la solución del agua tónica como la concentración de la quinina. Esta información se extrae de la muestra aplicando un estímulo en la forma de energía electromagnética mediante el rayo láser de la figura 1.3. La radiación interactúa con las moléculas de quinina que están en el agua tónica, con lo cual se produce una emisión de fluorescencia en una región del espectro característica de la quinina y de una magnitud que es proporcional a su concentración. La radiación que no se relaciona con la concentración de la quinina se elimina del haz luminoso mediante un filtro óptico, como se puede ver en la figura 1.3. La intensidad de la emisión de fluorescencia, que es información no eléctrica, se codifica en una señal eléctrica mediante un dispositivo especial que se llama *transductor de entrada*. El tipo particular de transductor que se utiliza en este experimento es un fototransductor, del cual hay numerosos tipos. Algunos se tratan en los capítulos 6 y 7. En este ejemplo, el transductor de entrada transforma la fluorescencia del agua tónica en una corriente eléctrica I , proporcional a la intensidad de la radiación. La relación matemática entre la salida eléctrica y la energía radiante de entrada que choca sobre la superficie se llama *función de transferencia* del transductor.

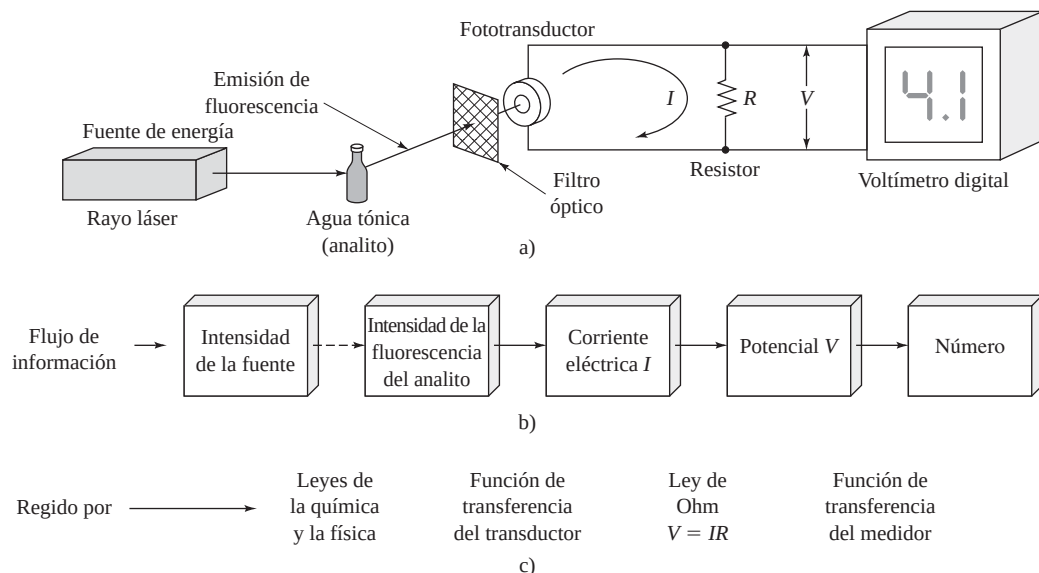


FIGURA 1.3 Diagrama de bloques de un fluorímetro en el que se observa a) un diagrama general del instrumento, b) una representación esquemática del flujo de información a través de varios dominios de datos en el instrumento y c) las reglas que rigen las transformaciones de los dominios de los datos durante el proceso de medición.

La corriente proveniente del fototransductor pasa entonces por la resistencia R , la cual, según la ley de Ohm, produce un voltaje o potencial V que es proporcional a I , la cual es a su vez proporcional a la intensidad de la fluorescencia. Por último, V se mide con el voltímetro digital para obtener una lectura que es proporcional a la concentración de la quinina contenida en la muestra.

Los voltímetros, las pantallas alfanuméricas, los motores eléctricos, las pantallas de los monitores y muchos otros dispositivos que sirven para convertir datos de los dominios eléctricos en datos de los dominios no eléctricos se llaman *transductores de salida*. El voltímetro digital del fluorímetro de la figura 1.3 es un transductor complejo que transforma el potencial o voltaje V en un número que aparece en una pantalla de cristal líquido de modo que lo pueda leer e interpretar el usuario del instrumento. Se estudiarán en forma minuciosa los voltímetros digitales y otros diversos circuitos y señales eléctricas en los capítulos 2 a 4.

Señales del dominio analógico

La información del dominio analógico se codifica como la *magnitud* de una de las cantidades eléctricas:

voltaje, corriente, carga o potencia. Estas cantidades son continuas en amplitud y tiempo como se puede ver en las señales analógicas características de la figura 1.4. Las magnitudes de las cantidades analógicas se pueden medir en forma continua, o bien, se pueden muestrear en puntos específicos en el tiempo de acuerdo con las necesidades de un experimento particular o método instrumental como se discute en el capítulo 4. Aunque los datos de la figura 1.4 se registran en función del tiempo, cualquier variable, como longitud de onda, potencia del campo magnético o temperatura podría ser la variable independiente en circunstancias determinadas. La correlación de dos señales analógicas que resultan de la medición correspondiente de propiedades físicas o químicas es importante en una amplia variedad de técnicas instrumentales, como la espectroscopia de resonancia magnética, la espectroscopia IR y el análisis térmico diferencial.

Como el ruido de origen eléctrico influye en la magnitud de las señales eléctricas, las señales analógicas son especialmente susceptibles a él, que es resultado de las interacciones dentro de los circuitos de medición o de otros dispositivos eléctricos en las cercanías del sistema de medición. Este ruido indeseable no guarda

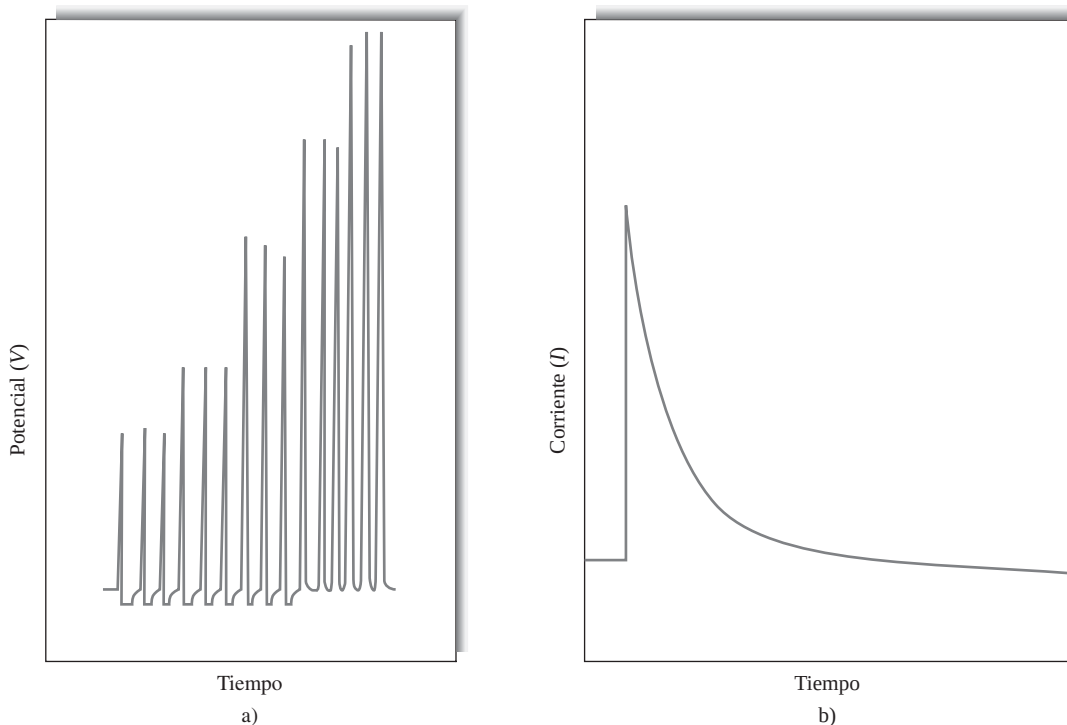


FIGURA 1.4 Señales analógicas. a) Respuesta del instrumento proveniente de un sistema de detección fotométrica en un experimento de análisis por inyección de flujo. Una corriente de mezcla de reacción que contiene partículas de $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ rojo pasa por una fuente de luz monocromática y un fototransductor, el cual produce un cambio de voltaje conforme cambia la concentración de la muestra. b) La respuesta de corriente de un tubo fotomultiplicador cuando la luz de una fuente pulsante incide en el fotocátodo del instrumento.

relación con la información de interés, por lo que se han ideado métodos para minimizar sus efectos. En el capítulo 5 se estudian las señales, el ruido y el mejoramiento de la respuesta instrumental.

Información del dominio del tiempo

La información se almacena en el dominio del tiempo como la relación temporal de fluctuaciones de señal y no de amplitudes de señales. En la figura 1.5 se ilustran tres señales distintas del dominio del tiempo, registradas como una cantidad analógica contra tiempo. Las líneas horizontales discontinuas representan un umbral arbitrario de la señal analógica que se usa para decidir si una señal es HI (está por arriba del umbral) o LO (abajo del umbral). Las relaciones de tiempo entre las transiciones de la señal desde HI hasta LO o de LO a HI contienen la información de interés. En el caso de instrumentos que generan señales periódicas, la cantidad de ciclos de la señal por unidad de tiempo es la *frecuencia* y el tiempo requerido por cada ciclo es su *periodo*. Dos ejemplos de sistemas instrumentales que producen información codificada en el dominio de la frecuencia son la espectroscopia Raman (capítulo 18) y el análisis instrumental por activación de neutrones (capítulo 32). En estos métodos, la frecuencia de llegada de los fotones en un detector está directamente relacionada con la intensidad de la emisión desde el analito, la cual es proporcional a su concentración.

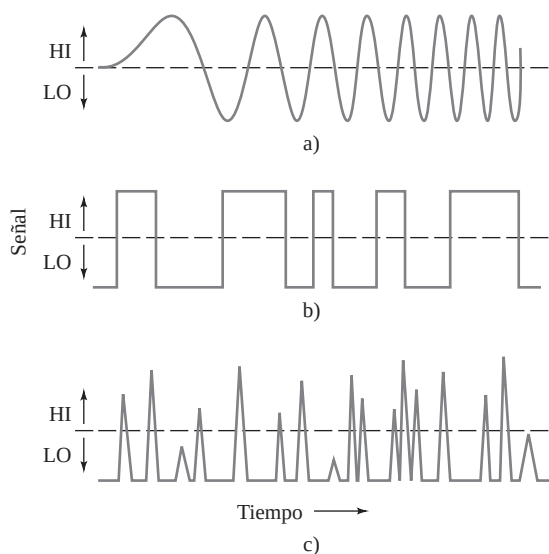


FIGURA 1.5 Señales del dominio del tiempo. Las líneas horizontales discontinuas representan umbrales de la señal. Cuando cada señal está por arriba del umbral, la señal es HI, y cuando está por abajo del umbral la señal es LO.

El tiempo entre transiciones sucesivas LO a HI se llama *periodo*, y el tiempo entre una transición LO a HI y una HI a LO se llama *amplitud del pulso*. Aparatos como convertidores de voltaje en frecuencia y de frecuencia en voltaje se pueden utilizar para transformar señales del dominio del tiempo en señales del dominio analógico y viceversa. Éstos y otros, como los convertidores del *dominio de los datos*, se tratan en los capítulos 2 a 4 como parte del estudio de los dispositivos electrónicos y se hablará de ellos en otros contextos a lo largo de todo este libro.

Información digital

Los datos se codifican en el dominio digital en un esquema de dos niveles. La información se puede representar mediante el estado de una lámpara o un foco, un diodo emisor de luz, un conmutador manual o una señal de nivel lógico, para citar sólo algunos ejemplos. La característica común que poseen estos dispositivos es que cada uno de ellos debe estar en uno de dos estados únicos. Por ejemplo, las luces y los interruptores podrían estar sólo en encendido o apagado (ON y OFF), y las señales de nivel lógico podrían ser sólo HI y LO. La definición de lo que significa encendido y apagado o abierto y cerrado (ON y OFF) para los interruptores y luces se entiende, pero en el caso de las señales eléctricas, como en las señales del dominio del tiempo, se debe definir un nivel de señal arbitrario que distinga entre HI y LO. Esta definición dependería de las condiciones de un experimento, o de las características de los dispositivos electrónicos que se usen. Por ejemplo, la señal que se representa en la figura 1.5c es un tren de pulsos de un detector nuclear. La tarea de medición es contar los pulsos durante un tiempo fijo para obtener una medida de la intensidad de la radiación. La línea discontinua representa un nivel de señal que no sólo es suficientemente bajo para asegurar que ningún pulso se perderá, sino que es suficientemente alto para rechazar fluctuaciones aleatorias en la señal que no estén relacionadas con el fenómeno nuclear de interés. Si la señal pasa el umbral 14 veces, como en el caso de la señal de la figura 1.5c, entonces se puede confiar en que ocurrieron 14 fenómenos nucleares. Después de contar los fenómenos, los datos se codifican en el dominio digital mediante señales HI-LO que representan el número 14. En el capítulo 4 se exploran los medios para tomar las decisiones electrónicas HI-LO y codificar la información en el dominio digital.

Como se muestra mediante el mapa del dominio de los datos de la figura 1.2, el dominio digital abarca tanto métodos de codificación eléctricos como no eléctricos. En el ejemplo apenas mencionado, los fenómenos

nucleares se acumulan mediante un contador electrónico y se muestran en una pantalla digital. Cuando el experimentador lee e interpreta la lectura, el número que representa la cantidad medida está una vez más en el dominio no eléctrico. Cada pieza de datos HI-LO que representa un fenómeno nuclear es un *bit* (dígito binario) de información que es la unidad fundamental de información en el dominio digital. Los bits de información que se transmiten a lo largo de un solo canal electrónico o alambre los podría contar un observador o un instrumento electrónico que esté supervisando el canal. Estos datos acumulados se llaman *datos digitales contados* o *conteo de datos digitales*, lo cual aparece en el mapa del dominio de los datos de la figura 1.2. Por ejemplo, la señal de la figura 1.5a podría representar el número $n = 8$ porque hay ocho pulsos completos en la señal. De igual manera, la señal de la figura 1.5b podría corresponder a $n = 5$, y la de la figura 1.5c representaría $n = 14$. Aunque es efectivo, este medio de transmitir información no es muy eficaz.

Una manera más eficaz de codificar la información es usar números binarios para representar datos numéricos y alfanuméricos. Para ver cómo se puede lograr este tipo de codificación, considere las señales de la figura 1.6. El conteo de los datos digitales de la señal de la figura 1.6a representa el número $n = 5$, como ya se mencionó. Se controla la señal y se cuenta la cantidad de oscilaciones completas. El proceso requiere un tiempo que es proporcional a la cantidad de ciclos de la señal, o bien, en este caso, cinco veces en la longitud de un solo intervalo de tiempo, como se indica en la figura 1.6. Observe que los intervalos se numeran en forma consecutiva empezando con cero. En un esquema de codificación binario, como el que se muestra

para la señal en la figura 1.6b, se asigna un valor numérico para cada intervalo sucesivo del tiempo. Por ejemplo, el intervalo número cero representa $2^0 = 1$, el intervalo número uno representa $2^1 = 2$, el segundo intervalo es $2^2 = 4$, y así sucesivamente como se muestra en la figura 1.6. Durante cada intervalo sólo se necesita decidir si la señal es HI o LO. Si la señal es HI durante cualquier intervalo de tiempo dado, entonces el valor que le corresponde a dicho intervalo se suma al total. Todos los intervalos que son LO contribuyen con cero al total.

En la figura 1.6b, la señal es HI sólo en el intervalo 0 y en el intervalo 2, de modo que el valor total representado es $(1 \times 2^0) + (0 \times 2^1) + (1 \times 2^2) = 5$. Entonces, en el espacio de sólo tres intervalos se ha representado el número $n = 5$. En el ejemplo del conteo digital de la figura 1.6a, se requirieron cinco intervalos para representar el mismo número. En este ejemplo limitado, los datos en código binario son casi el doble de eficaces que los datos del conteo de series. Un ejemplo más espectacular se podría ver al contar $n = 10$ oscilaciones, de manera similar a la de la señal de la figura 1.6a. En los mismos 10 intervalos, 10 bits HI-LO de información en el esquema de codificación de series binarias permiten representar los números binarios de 0 hasta $2^{10} - 1 = 1024$ números, es decir, de 0000000000 a 1111111111. La mejora en eficacia es $1024/10$, es decir, alrededor de 100 veces. En otras palabras, el esquema de conteo en serie requiere 1024 intervalos para representar el número 1024, pero el esquema de codificación binaria necesita sólo 10 intervalos. Como resultado de la eficacia de los esquemas de codificación binaria, la mayor parte de la información digital se codifica, transfiere, procesa y decodifica en la forma binaria.

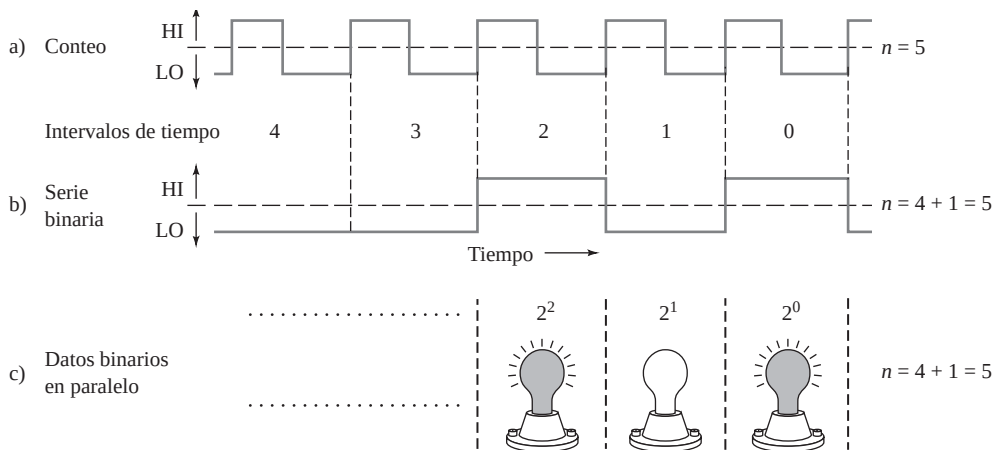


FIGURA 1.6 Diagrama en el que se ilustran tres tipos de información digital: a) conteo de datos en serie, b) datos codificados en serie binaria y c) datos binarios paralelos. En los tres casos, los datos representan el número $n = 5$.

Los datos representados mediante codificación binaria sobre una sola línea de transmisión se llaman *datos codificados en sistema binario en serie* o sólo *datos en serie*. Un ejemplo común de transmisión de datos en serie es el módem de la computadora, el cual es un aparato para transmitir información entre computadoras mediante la línea telefónica a través de un solo conductor (y una conexión común).

Un método más eficaz para codificar datos en el dominio digital se ve en la señal de la figura 1.6c. En este caso se usan tres focos para representar los tres dígitos binarios: $2^0 = 1$, $2^1 = 2$ y $2^2 = 4$. No obstante, es posible utilizar interruptores, alambres, diodos emisores de luz o cualquier otro de la miríada de dispositivos electrónicos para codificar la información. En este esquema, ON = 1 y OFF = 0, de modo que el número se codifica como se muestra en la figura 1.6 con el primero y el tercer focos en ON y el foco intermedio en OFF, lo cual representa $4 + 0 + 1 = 5$. Este esquema es muy eficaz porque toda la información deseada está presente en forma simultánea, igual que aparecen todos los dígitos de la carátula del voltímetro digital de la figura 1.3. La información presentada en esta forma se denomina *datos digitales en paralelo*. La información se transmite dentro de los instrumentos analíticos y las computadoras mediante el envío de datos en paralelo. Como los datos viajan cortas distancias dentro de tales dispositivos, es barato y eficaz usar la transferencia de información en paralelo. La economía de las distancias cortas contrasta con la situación en la que los datos tienen que ser transportados a largas distancias de instrumento a instrumento o de computadora a computadora. En estos casos, la comunicación se realiza en serie usando módems u otros esquemas de transmisión de datos en serie más rápidos y más complejos. Estas ideas se estudian con más detalle en el capítulo 4.

1C.4 Detectores, transductores y sensores

Los términos *detectores*, *transductores* y *sensores* se usan casi siempre como sinónimos, pero de hecho tienen diferentes significados. El más general de los tres términos, el de *detector*, se refiere a un dispositivo mecánico, eléctrico o químico que identifica, registra o indica un cambio en una de las variables de su entorno, como presión, temperatura, carga eléctrica, radiación electromagnética, radiación nuclear, partículas o moléculas. Se ha llegado a tal grado que con este término se denomina a todos los instrumentos, es decir, todos son *detectores*. En el contexto del análisis instrumental se usa el término *detector* en el sentido general en el cual justamente se le ha definido, y se usará *sistema de detección* para referirse al conjunto

completo de instrumentos que indica o registra cantidades físicas o químicas. Un ejemplo es el detector UV (de luz ultravioleta) que se usa a menudo para indicar o registrar la presencia de analitos extraídos en la cromatografía de líquidos.

El término *transductor* se refiere de manera específica a aquellos dispositivos que transforman la información en los dominios no eléctricos en información en los dominios eléctricos, y a la inversa. Entre los ejemplos están los fotodiodos, fotomultiplicadores y otros fotodetectores electrónicos que producen corriente o voltaje proporcionales a la energía radiante de la radiación electromagnética que incide en sus superficies. Otros ejemplos son los termistores, los medidores de deformación y los transductores del efecto Hall (fuerza del campo magnético). Como ya se sugirió, la relación matemática entre la salida eléctrica y la entrada de energía radiante, temperatura, fuerza o fuerza de campo magnético se llama *función de transferencia* del transductor.

El término *sensor* también es amplio, pero en este texto se le reserva para la clase de dispositivos analíticos que tienen la aptitud de supervisar especies químicas específicas en forma continua y reversible. Hay numerosos ejemplos de sensores en todo el texto, sin olvidar el electrodo de vidrio y otros electrodos selectivos de iones, los cuales se estudian en el capítulo 23; el electrodo de oxígeno de Clark, que se estudia en el capítulo 25; y los sensores de fibra óptica (optrodos), que se detallan en el capítulo 14. Los sensores constan de un transductor acoplado a una fase de reconocimiento químicamente selectiva, como se ilustra en la figura 1.7. Por ejemplo, los optrodos están constituidos por un fototransductor acoplado con una fibra óptica cuyo extremo opuesto al transductor está cubierto con una sustancia que responde de manera específica a una característica física o química de un analito.

Un sensor que es muy interesante e instructivo está hecho de una *microbalanza de cristal de cuarzo* (MCQ). Este instrumento se basa en las características *piezoeléctricas* del cuarzo. Cuando el cuarzo se deforma de manera mecánica, se produce una diferencia de potencial en su superficie. Además, cuando se aplica un voltaje en las caras de un cristal de cuarzo, éste se deforma. Un cristal conectado a cierto circuito eléctrico oscila a una frecuencia que es característica de la masa y de la forma del cristal y que es sorprendentemente constante siempre que la masa del cristal también lo sea. Esta propiedad de algunos materiales cristalinos se llama efecto piezoeléctrico y constituye la base de la MCQ. Además, la frecuencia constante característica del cristal de cuarzo es la base de los relojes modernos de alta precisión, las bases de tiempo, los

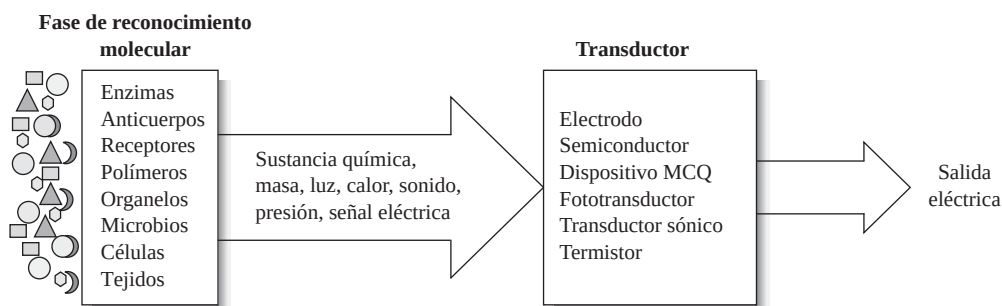


FIGURA 1.7 Sensor químico. El sensor consta de un elemento de reconocimiento molecular y un transductor. Es posible una gran diversidad de elementos de reconocimiento. Se ilustran algunos elementos de reconocimiento selectivo que son útiles en particular con los biosensores. La fase de reconocimiento convierte la información de interés en características detectables, como otro compuesto químico, masa, luz o calor. El transductor convierte la característica en una señal eléctrica que se puede medir.

contadores, temporizadores y medidores de frecuencia, que a su vez forman parte de muchos sistemas instrumentales analíticos muy exactos y precisos.

Si un cristal de cuarzo se reviste con un polímero que adsorbe en forma selectiva ciertas moléculas, la masa del cristal se incrementa si las moléculas están presentes, como consecuencia disminuye la frecuencia de resonancia del cristal de cuarzo. Cuando las moléculas se retiran de la superficie el cristal recupera su frecuencia original. Esta relación entre el cambio de frecuencia del cristal Δf y el cambio de masa del cristal ΔM está dada por

$$\Delta f = \frac{Cf^2\Delta M}{A}$$

donde M es la masa del cristal, A es el área de la superficie, f es la frecuencia de oscilación y C es una constante de proporcionalidad. Esta relación indica que es posible medir cambios pequeñísimos en la masa del cristal si se puede medir con precisión su frecuencia. Como se puede ver, es posible medir cambios de frecuencia de una parte en 10^7 con facilidad mediante instrumentos baratos. El límite de detección para un sensor piezoeléctrico de este tipo está calculado en alrededor de 1 pg, es decir, 10^{-12} g. Estos sensores se usan para detectar diversos analitos en fase gaseosa, como formaldehído, cloruro de hidrógeno, sulfuro de hidrógeno y benceno. También se han propuesto como sensores para agentes químicos usados en la guerra, como el gas mostaza y el fosgeno.

El sensor piezoeléctrico de masa es un ejemplo excelente de un transductor que convierte una propiedad del analito, la masa en este caso, en un cambio en una cantidad eléctrica, la frecuencia de resonancia del cristal de cuarzo. Este ejemplo también ilustra la dife-

rencia entre un transductor y un sensor. En la MCQ, el transductor es el cristal de cuarzo y la segunda fase selectiva es la cubierta de polímero. La combinación del transductor y la fase selectiva constituye el sensor.

1C.5 Instrumentos de lectura

Un instrumento de lectura es un transductor que transforma la información de un dominio eléctrico en una forma que puede entender un ser humano. Por lo regular, la señal transducida toma la forma de un resultado alfanumérico o la salida gráfica de un tubo de rayos catódicos, una serie de números de una pantalla digital, la posición de una manecilla en un medidor de escalas y, a veces, el oscurecimiento de una placa fotográfica o un trazo en una tira de papel registrador. En algunos ejemplos, el instrumento de lectura se puede acomodar para dar en forma directa la concentración del analito.

1C.6 Computadoras en instrumentos

La mayoría de los instrumentos analíticos modernos contienen o están conectados a uno o más dispositivos electrónicos complejos y a convertidores del dominio de los datos, como amplificadores operacionales, circuitos integrados, convertidores de datos analógicos en digitales y de digitales en analógicos, contadores, microprocesadores y computadoras. Para apreciar el alcance y las limitaciones de dichos instrumentos, los investigadores necesitan tener por lo menos un conocimiento cualitativo de cómo funcionan y de qué es lo que pueden hacer. En los capítulos 3 y 4 se proporciona una breve introducción a este importante tema.

1D CALIBRACIÓN DE MÉTODOS INSTRUMENTALES

Una parte muy importante de todos los procedimientos analíticos es la calibración y estandarización del proceso. La *calibración* determina la relación entre la respuesta analítica y la concentración del analito. Por lo regular, se determina mediante el uso de *normas químicas*.

Casi todos los métodos analíticos requieren algún tipo de calibración según normas químicas. Los métodos gravimétricos y algunos métodos coulombimétricos (capítulo 24) están entre los pocos métodos *absolutos* que no se basan en la calibración de acuerdo con normas químicas. En esta sección se describen varios tipos de procedimientos de calibración.

1D.1 Comparación con estándares

En esta sección se describen dos tipos de métodos de comparación, la técnica de comparación directa y el procedimiento de titulación.

Comparación directa

Algunos procedimientos analíticos requieren la comparación de una propiedad del analito (o del producto de una reacción con el analito) con estándares o patrones tales que la propiedad que se está probando concuerde de manera muy cercana con la del estándar. Por ejemplo, en los primeros colorímetros, el color producido como resultado de una reacción química de un analito se comparaba con el color producido por la reacción de estándares. Si la concentración del estándar se variaba por dilución, por ejemplo, era posible obtener una coincidencia de color casi exacta. La concentración del analito era entonces igual a la concentración del estándar después de la dilución. Tal procedimiento se llama *comparación nula* o *método de isomación*.²

Titulaciones

Están entre las más precisas de todos los procedimientos analíticos. En una titulación, el analito reacciona con un reactivo estandarizado, el titulante, en una reacción de estequiometría conocida. Por lo regular, la cantidad de titulante varía hasta que se alcanza la equivalencia química, según lo indica el cambio del color del indicador químico o el cambio en una respuesta del instrumento. La cantidad de reactivo estan-

darizado necesario para alcanzar la equivalencia química se puede relacionar con la cantidad de analito presente. Por tanto, la titulación es un tipo de comparación química.³

1D.2 Calibración de un estándar externo

Un *estándar* o *patrón externo* se prepara por separado de la muestra. En cambio, un *estándar interno* se añade a la muestra. Los estándares externos se usan para calibrar instrumentos y procedimientos cuando no hay efectos de interferencia de la matriz de componentes sobre la disolución del analito. Se prepara una serie de tales estándares externos que contienen el analito en concentraciones conocidas. Lo ideal es usar tres o más de las disoluciones en el proceso de calibración. No obstante, se puede confiar en calibraciones de dos puntos en algunos análisis de rutina.

La calibración se consigue al obtener la señal de respuesta (absorbancia, altura del pico, área del pico) en función de la concentración conocida del analito. Una curva de calibración se prepara con una gráfica de los datos o ajustándoles una ecuación matemática aceptable, como la ecuación de la recta dada por la pendiente y la ordenada al origen que se usa en el método de los mínimos cuadrados lineales. El paso siguiente es la etapa de predicción, en la que se obtiene la señal de respuesta para la muestra y se usa para *predecir* la concentración desconocida del analito, c_x , a partir de la curva de calibración o de la ecuación de mejor ajuste. La concentración del analito en la muestra original se calcula luego mediante c_x aplicando los factores de dilución convenientes tomados de los pasos que se siguieron para preparar la muestra.

Método de los mínimos cuadrados

Una curva de calibración característica se muestra en la figura 1.8 para la determinación del isooctano en una muestra de hidrocarburo. En este caso, se inyectó una serie de estándares de isooctano en un cromatógrafo de gases, y se obtuvo el área del pico de isooctano en función de la concentración. La ordenada es la variable dependiente, el área del pico, y la abscisa es la variable independiente, el porcentaje molar (% mol) de isooctano. Como es lo característico y casi siempre deseable, la gráfica se aproxima a una recta. Observe que debido a los errores indeterminados en el



Clases interactivas: aprenda más sobre **calibración**.

²Véase, por ejemplo, H. V. Malmstadt y J. D. Winefordner, *Anal. Chim. Acta*, **1960**, 20, p. 283; L. Ramaley y C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1965**, 37, p. 1073.

³Véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, caps. 13-17.

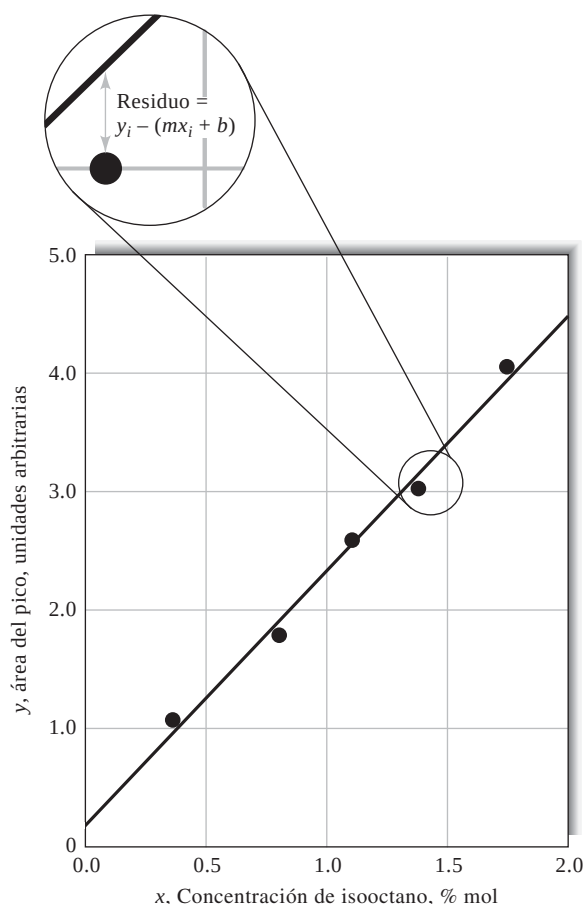


FIGURA 1.8 Curva de calibración para determinar isooctano en una muestra de hidrocarburo. El residuo es la diferencia entre un punto de información experimental y_i y el que se calcula con el modelo de regresión, $mx_i + b$, como se muestra en el inserto.

proceso de medición, no todos los datos están en la recta. Por tanto, el investigador debe tratar de trazar la “mejor” línea recta que pase por los datos. El *análisis de regresión* proporciona los medios para obtener en forma objetiva dicha recta, y también para especificar la incertidumbre asociada con el uso posterior. Esta incertidumbre se relaciona con los *residuos* que se muestran en la figura 1.8, los cuales son una medida de qué tan lejos de la recta de mejor ajuste quedan los datos. El *método de los mínimos cuadrados* (véase apéndice 1, sección a1D) se aplica con frecuencia para obtener la ecuación de dicha recta.⁴

El método de los mínimos cuadrados se basa en dos suposiciones. La primera es que hay en realidad una

relación lineal entre la respuesta medida y y la concentración x del analito estándar. La relación matemática que representa esta suposición se llama *modelo de regresión*, y se podría representar con

$$y = mx + b$$

donde b es la ordenada al origen o intersección con el eje y , es decir, el valor de y cuando x es cero, y m es la pendiente de la recta (véase la figura 1.8). También se supone que cualquier desviación de los puntos de la línea recta surge de un error en la *medición*. Es decir, se supone que no hay error en los valores x de los puntos (concentraciones). Ambas suposiciones son aceptables para muchos métodos analíticos, pero es necesario tener en cuenta que siempre que haya una incertidumbre importante en los datos x , el análisis básico lineal de los mínimos cuadrados podría no dar la mejor recta. En tal caso, sería necesario un *análisis de correlación* complejo. Además, el análisis de mínimos cuadrados podría no ser aceptable cuando la incertidumbre en los valores y varía de manera significativa con respecto a x . En este caso, se necesitarían aplicar diferentes factores de ponderación a los puntos y ejecutar un *análisis ponderado de mínimos cuadrados*.⁵

En los casos en que los datos no se ajustan a un modelo lineal, entonces se puede recurrir a los métodos de regresión no lineal.⁶ Algunos de éstos utilizan modelos polinomiales o procedimientos de regresión múltiple. Incluso hay programas para computadora que encuentran un modelo que describe un conjunto de datos experimentales a partir de un conjunto de ecuaciones internas o definidas por el usuario.⁷

La pendiente m y la ordenada al origen b de la recta de mínimos cuadrados se determinan con las ecuaciones a1.34 y a1.35 del apéndice 1. Para determinar una concentración desconocida c_x a partir de la recta de mínimos cuadrados, se obtiene el valor de la respuesta del instrumento y_c para la incógnita, y la pendiente y la ordenada al origen se usan para calcular la concentración desconocida c_x como se muestra en la ecuación 1.1.

$$c_x = \frac{y_c - b}{m} \quad (1.1)$$

La desviación estándar en la concentración s_c se puede determinar a partir del *error estándar de la esti-*

⁴Véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, cap. 4.

⁵Véase P. R. Bevington y D. K. Robinson, *Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences*, 3a. ed., Nueva York: McGraw-Hill, 2002.

⁶J. L. Devore, *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*, 6a. ed., Pacific Grove, CA: Duxbury Press at Brooks/Cole, 2004.

⁷Véase por ejemplo, *TableCurve*, Systat Software, Point Richmond, CA.

mación s_y , también llamada *desviación estándar con respecto a la regresión*, como se ve en la ecuación 1.2:

$$s_c = \frac{s_y}{m} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (1.2)$$

donde M es la cantidad de resultados reproducidos, N es la cantidad de puntos en la curva de calibración (número de patrones o estándares), $\bar{y}_c$ es la respuesta media para la incógnita, y $\bar{y}$ es el valor medio de y para los resultados de la calibración. La cantidad S_{xx} es la suma de las desviaciones al cuadrado de los valores de x con respecto a la media según se obtienen con la ecuación a1.31 del apéndice 1.

Errores en la calibración del patrón externo

Cuando se usan patrones o estándares externos, se supone que se obtendrán las mismas respuestas cuando la misma concentración del analito esté presente en la muestra y en el patrón. Por tanto, la relación funcional de calibración entre la respuesta y la concentración del analito se debe aplicar también a la muestra. En una determinación no suele utilizarse la respuesta original que da el instrumento, sino que se corrige la respuesta original analítica con la medición de un *blanco*. Un *blanco ideal* es idéntico a la muestra pero sin el analito. En la práctica, con muestras complejas, se requiere muchísimo tiempo para preparar un blanco ideal (y a veces es imposible hacerlo), por lo que se debe buscar un término medio. A menudo un blanco real es un *blanco disolvente* que contiene el mismo solvente en el cual está disuelta la muestra, o un *blanco reactivo*, que contiene el disolvente más todos los reactivos que se usan en la preparación de la muestra.

Aun con las correcciones del blanco, varios factores pueden ocasionar que falle la suposición elemental del método del patrón externo. Los efectos de la matriz, debido a las especies extrañas en la muestra que no están presentes en los patrones o el blanco, pueden ocasionar que las concentraciones del mismo analito en la muestra y en los patrones proporcionen respuestas distintas.⁸ Las diferencias en las variables experimentales cuando se miden blanco, muestra y patrón también pueden invalidar la función de calibración establecida. Aun cuando la suposición básica es válida, los errores pueden ocurrir debido a la contaminación durante el muestreo o en las etapas de preparación de la muestra.

Además, se pueden presentar errores sistemáticos durante el proceso de calibración. Por ejemplo, si

los patrones están preparados de manera incorrecta, habrá un error. La exactitud con la que se preparen los patrones depende de la exactitud de las técnicas gravimétricas y volumétricas y del equipo usado. La forma química de los patrones debe ser idéntica a la del analito en la muestra; el estado de oxidación, la isomerización o la complejación del analito pueden alterar la respuesta. Una vez preparados, la concentración de los patrones puede cambiar debido a la descomposición, la volatilización o la adsorción en las paredes del contenedor. La contaminación de los patrones también puede dar como resultado concentraciones del analito más elevadas que las esperadas. Un error sistemático se puede presentar si hay algún sesgo en el modelo de calibración. Por ejemplo, puede haber errores si la función de calibración se obtiene sin usar suficientes patrones para lograr estimaciones estadísticas buenas de los parámetros.

Los errores aleatorios también influyen en la exactitud de los resultados obtenidos a partir de las curvas de calibración, como se ilustra en la figura 1.9. La incertidumbre en la concentración del analito s'_c obtenida a partir de una curva de calibración es inferior cuando la respuesta es cercana al valor medio $\bar{y}$. El punto $\bar{x}$, $\bar{y}$ representa el centroide de la recta de regresión. Observe que las mediciones hechas cerca del centro de la curva tendrán menos incertidumbre en la concentración del analito que las hechas en los extremos.

Calibración de variables múltiples

El procedimiento de mínimos cuadrados que se describió es un ejemplo de un procedimiento de calibración univariado o de una sola variable porque sólo se utiliza una respuesta por muestra. El proceso de relacionar múltiples respuestas de instrumentos para un analito o una mezcla de analitos se conoce como *calibración multivariada o de variables múltiples*. Los métodos⁹ de este tipo de calibración han sido muy aceptados en los años recientes porque hay nuevos instrumentos que proporcionan respuestas multidimensionales (absorbancia de varias muestras a diferentes longitudes de onda, espectros de masa de componentes separados por cromatografía, etc.). Los métodos de la calibración de variables múltiples son muy eficaces. Se pueden usar para determinar en forma simultánea muchos componentes de mezclas y pueden proporcionar medidas

⁸ La *matriz* incluye el analito y otros constituyentes, los cuales se denominan *concomitantes*.

⁹ Un análisis más amplio se encuentra en K. R. Beebe, R. J. Pell y M. B. Seasholtz, *Chemometrics: A Practical Guide*, Nueva York: Wiley, 1998, cap. 5; H. Martens y T. Naes, *Multivariate Calibration*, Nueva York: Wiley, 1989.

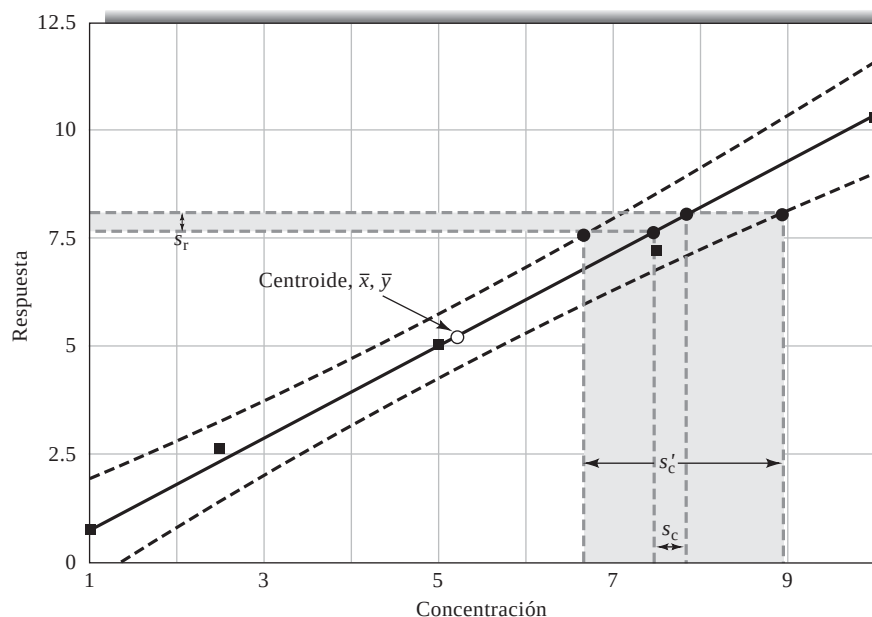


FIGURA 1.9 Efecto de la incertidumbre de la curva de calibración. Las líneas discontinuas muestran los límites de confianza para la concentración determinada a partir de la recta de regresión. Observe que las incertidumbres se incrementan en los extremos de la gráfica. Por lo regular se calcula la incertidumbre en la concentración del analito sólo a partir de la desviación estándar de la respuesta. La incertidumbre de la curva de calibración aumenta de manera notable la incertidumbre en la concentración del analito desde s_c a s'_c .

redundantes para mejorar la precisión, porque al repetir las medidas N veces se obtiene una mejora $\sqrt{N}$ en la precisión del valor medio (véase apéndice 1, sección a1B.1). También se pueden utilizar para detectar la presencia de interferencias que podrían no ser identificadas en una calibración de una sola variable.

1D.3 Métodos de adición estándar

Estos métodos son particularmente útiles para analizar muestras complejas en las cuales la posibilidad de que se presenten efectos de matriz es importante. Un método de adición estándar puede adoptar varias formas.¹⁰ En una de las más comunes se añaden uno o más incrementos de una solución patrón a alícuotas de la muestra con volúmenes idénticos. A este proceso se le llama adición de muestras. Luego cada disolución se diluye a un volumen fijo antes de tomar la medida. Observe que cuando la cantidad de muestra es limitada, las adiciones se realizan mediante introducciones sucesivas de incrementos del patrón a un único volumen medido de la incógnita. Las medidas se toman en la muestra original y en la muestra a la que se le añadió el patrón después de cada adición. En la mayor parte de las versiones de este método, la matriz de la mues-

tra es casi idéntica después de cada adición, y la única diferencia es la concentración del analito, o bien, la concentración de dicho reactivo en los casos en que se añade un exceso de un reactivo analítico. Todos los otros constituyentes de la mezcla de reacción deben ser idénticos porque los patrones están preparados en alícuotas de la muestra.

Suponga que varias alícuotas V_x de la solución desconocida cuya concentración es c_x se vierten en matraces de volumen V_t . A cada uno de ellos se le añade un volumen variable V_s de una solución patrón o estándar del analito que tiene una concentración conocida c_s . Luego se añaden reactivos adecuados y cada solución se diluye a cierto volumen. Se efectúan entonces las mediciones instrumentales en cada una de las disoluciones y se corrigen por alguna respuesta blanco para tener una respuesta neta S del instrumento. Si la respuesta del instrumento corregida por el blanco es proporcional a la concentración, como se supone que debe ser en el método de la adición estándar, se puede escribir

$$S = \frac{kV_sc_s}{V_t} + \frac{kV_xc_x}{V_t} \quad (1.3)$$

donde k es una constante de proporcionalidad. Una gráfica de S en función de V_s es una recta de la forma

$$S = mV_s + b$$

¹⁰ Véase M. Bader, *J. Chem. Educ.*, **1980**, 57, p. 703.

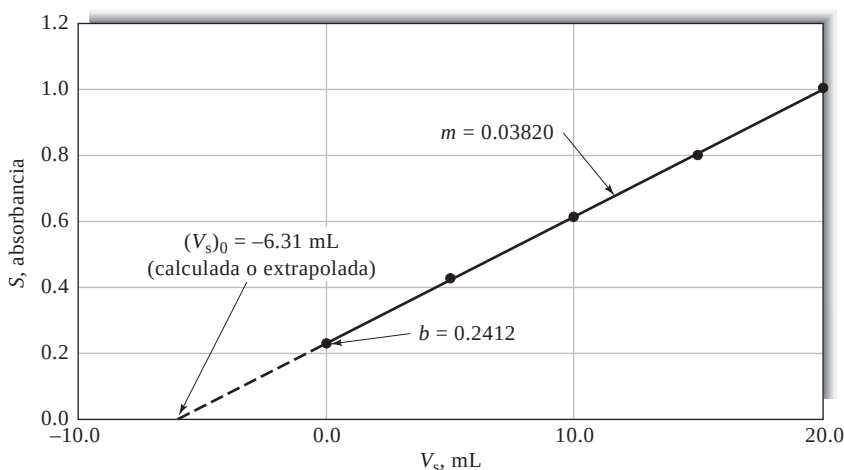


FIGURA 1.10 Gráfica de calibración para el método de la adición estándar. La concentración de la disolución incógnita se podría calcular a partir de la pendiente m y de la ordenada b , o bien, se podría calcular mediante extrapolación, como se explica en el texto.

donde la pendiente m y la ordenada al origen b se obtienen a partir de

$$m = \frac{kc_s}{V_t}$$

y

$$b = \frac{kV_x c_x}{V_t}$$

La gráfica de tal adición estándar se ilustra en la figura 1.10.

Se puede ejecutar un análisis de mínimos cuadrados (apéndice 1, sección a1D) para determinar m y b ; c_x se obtiene de la relación de estas dos cantidades y los valores conocidos de c_s , V_x , y V_t . Por tanto,

$$\frac{b}{m} = \frac{kV_x c_x / V_t}{kc_s / V_t} = \frac{V_x c_x}{c_s}$$

o bien,

$$c_x = \frac{bc_s}{mV_x} \quad (1.4)$$

La desviación estándar de la concentración se puede obtener calculando primero la desviación estándar en el volumen s_v y luego aplicando la relación entre volumen y concentración. La desviación estándar del volumen se determina a partir de la ecuación 1.2 con algunas modificaciones. Como se extrapoló la curva de calibración para el eje de las x en el método de la adición estándar, el valor de y para la incógnita es 0 y no está el término $1/M$. Por tanto, la ecuación para s_v se transforma en

$$s_v = \frac{s_y}{m} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{(0 - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (1.5)$$

Como lo muestra la línea discontinua de la figura 1.10, la diferencia entre el volumen del patrón añadido en el origen (cero) y el valor del volumen en la intersección de la recta con el eje de las x , o abscisa $(V_s)_0$, es el volumen del reactivo estándar o patrón equivalente a la cantidad de analito en la muestra. Además, la abscisa corresponde a la respuesta cero del instrumento, de modo que se tiene

$$S = \frac{kV_s c_s}{V_t} + \frac{kV_x c_x}{V_t} = 0 \quad (1.6)$$

Al despejar c_x , de la ecuación 1.6 se obtiene

$$c_x = -\frac{(V_s)_0 c_s}{V_x} \quad (1.7)$$

La desviación estándar de la concentración s_c es entonces

$$s_c = s_v \left(\frac{c_s}{V_x} \right) \quad (1.8)$$

EJEMPLO 1.1

Se sacan con una pipeta alícuotas de 10 ml de una muestra de agua natural y se vacían en matraces volumétricos de 50.00 ml. Se añadieron exactamente 0.00, 5.00, 10.00, 15.00 y 20.00 ml de una disolución estándar que contiene 11.1 ppm de Fe^{3+} a cada uno, seguido de un exceso del ion tiocianato para obtener el complejo rojo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$. Después de la dilución a un cierto

volumen, la respuesta del instrumento S para cada una de las cinco disoluciones medidas con un colorímetro fueron 0.240, 0.437, 0.621, 0.809 y 1.009, respectivamente. a) ¿Cuál era la concentración de Fe^{3+} en la muestra de agua? b) Calcule la desviación estándar de la concentración de Fe^{3+} .

Solución

- a) En este problema, $c_s = 11.1 \text{ ppm}$, $V_x = 10.00 \text{ mL}$, y $V_l = 50.00 \text{ mL}$. La gráfica de los datos se ilustra en la figura 1.10, y en ella se demuestra que hay una relación entre la respuesta del instrumento y la cantidad añadida de hierro.

Para obtener la ecuación de la recta de la figura 1.10 ($S = mV_s + b$), se sigue el procedimiento que se ilustra en el ejemplo a1.11 del apéndice 1. El resultado, que se proporciona en la hoja de cálculo de la figura 1.11, es $m = 0.0382$ y $b = 0.2412$ por tanto

$$S = 0.0382V_s + 0.2412$$

A partir de la ecuación 1.4 o de acuerdo con la hoja de cálculo se obtiene

$$c_x = \frac{0.2412 \times 11.1}{0.0382 \times 10.00} = 7.01 \text{ ppm Fe}^{3+}$$

Este valor se puede obtener mediante extrapolación gráfica como también se ilustra en la figura. El valor extrapolado representa el volumen de reactivo que corresponde a la respuesta cero del instrumento, que en este caso es de -6.31 mL . La concentración desconocida del analito en la disolución original se calcula entonces con la ecuación 1.7 como sigue:

$$c_x = -\frac{(V_s)_0 c_s}{V_x} = \frac{6.31 \text{ mL} \times 11.1 \text{ ppm}}{10.00 \text{ mL}} = 7.01 \text{ ppm Fe}^{3+}$$

- b) La desviación estándar de la concentración se puede determinar a partir de la desviación estándar en la intersección del volumen (ecuación 1.5) y de la ecuación 1.8 como se muestra en la hoja de cálculo de la figura 1.11. El resultado es $s_c = 0.11 \text{ ppm}$. Por tanto, la concentración de Fe en la incógnita es $7.01 \pm 0.16 \text{ ppm}$.

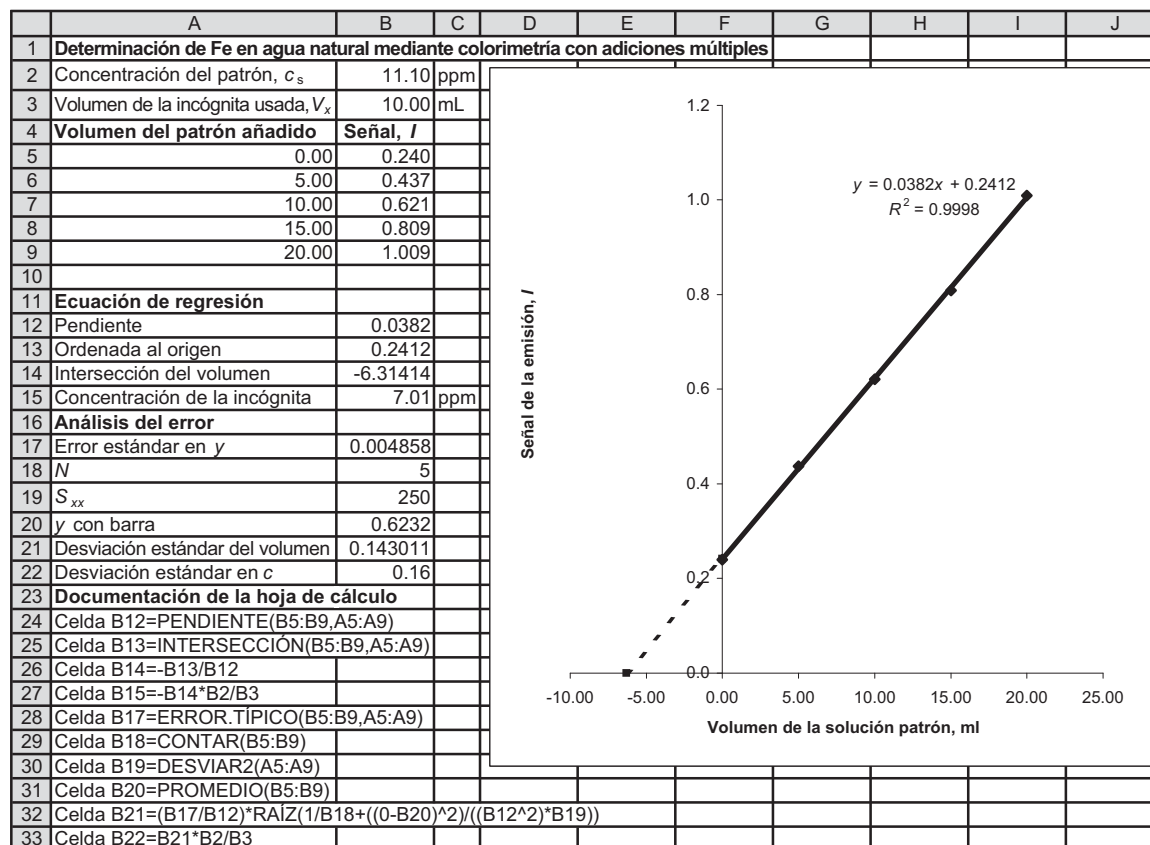


FIGURA 1.11 Hoja de cálculo para el ejemplo 1.1 de adición estándar.

Con el objetivo de ahorrar tiempo o muestra, se puede ejecutar un análisis de adición estándar usando sólo dos incrementos de la muestra. En este caso, se haría una sola adición de V_s mL de estándar o patrón a una de las dos muestras, y se escribiría

$$S_1 = \frac{kV_x c_x}{V_t}$$

$$S_2 = \frac{kV_x c_x}{V_t} + \frac{kV_s c_s}{V_t}$$

donde S_1 y S_2 son las señales que resultan de la muestra diluida y de la muestra diluida más el patrón, respectivamente. Al dividir la segunda ecuación entre la primera y reacomodar términos se tiene,

$$c_x = \frac{S_1 c_s V_s}{(S_2 - S_1) V_x}$$

El método de una sola adición es un poco más peli-groso porque presupone una relación lineal y no proporciona ninguna verificación de ella. El método de adiciones múltiples por lo menos proporciona una verificación de la hipótesis de linealidad.

1D.4 Método del patrón interno

Un *patrón interno* es una sustancia que se añade en cantidad constante a todas las muestras, blancos y patrones de calibración al efectuar un análisis. De otra manera podría ser un constituyente principal de muestras y patrones, presente en cantidad suficiente de tal modo que se pueda suponer que su concentración es la misma en todos los casos. Entonces, la calibración requiere hacer una gráfica del cociente de la señal del analito entre la señal del patrón interno en función de la concentración del analito en los patrones. Esta relación de las muestras se usa luego para obtener las concentraciones del analito a partir de una curva de calibración.

Si se elige y se usa en forma apropiada un patrón interno, se pueden compensar varios tipos de errores, tanto aleatorios como sistemáticos. Por consiguiente, si el analito y las señales del patrón interno responden en forma proporcional a las fluctuaciones aleatorias instrumentales y del método, el cociente de estas señales es independiente de dichas fluctuaciones. Si las dos señales están influenciadas en la misma manera por los efectos de la matriz, también ocurre una compensación de estos efectos. En los casos en que el patrón interno es un constituyente principal de las muestras y los patrones, también puede haber compensación de los errores que surgen al preparar la muestra, diluirla y limpiarla.

La principal dificultad al aplicar el método del patrón interno es la de hallar la sustancia adecuada que sirva como patrón interno y agregarla en muestras y patrones en una manera que se pueda repetir. El patrón interno debe proporcionar una señal que sea similar en casi todo a la señal del analito, pero suficientemente distinta de modo que el instrumento distinga entre las dos. Se tiene que saber que el patrón interno está ausente en la matriz de la muestra de modo que la única fuente del patrón es la cantidad que se añade. Por ejemplo, el litio es un buen patrón interno para determinar el sodio o el potasio en el suero de la sangre porque el comportamiento químico del litio es similar a ambos analitos, pero no es natural que esté presente en la sangre.

Un ejemplo de la determinación de sodio en la sangre mediante espectrometría de llama usando litio como un patrón interno se muestra en la figura 1.12. En la parte superior se muestra la curva de calibración normal de la intensidad de sodio contra su concentración en ppm. Aunque se observa una gráfica casi lineal, se puede ver un poco de dispersión. La gráfica inferior muestra la razón entre la intensidad del sodio y la del litio en función de la concentración de sodio en ppm. Observe la mejora en la curva de calibración cuando se usa el patrón interno.

Al ejecutar cualquier método nuevo de patrón interno, se debe comprobar que los cambios en la concentración del analito no afectan la intensidad de la señal que resulta del patrón interno y que éste no anula ni intensifica la señal del analito.

1E ELECCIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

En la columna 2 de la tabla 1.1 se ve que en la actualidad existe una gran cantidad de herramientas para realizar análisis químicos. De hecho, hay tantas que elegir entre ellas que a menudo es muy difícil. En esta sección se describe en forma resumida cómo efectuar dicha elección.

1E.1 Definición del problema

Para elegir de manera inteligente un método analítico, es esencial definir con claridad la naturaleza del problema analítico. Esta definición requiere respuestas a las siguientes preguntas:

1. ¿Qué exactitud se requiere?
2. ¿Cuánta muestra se tiene?
3. ¿Cuál es el intervalo de concentración del analito?
4. ¿Qué componentes de la muestra podrían causar interferencia?

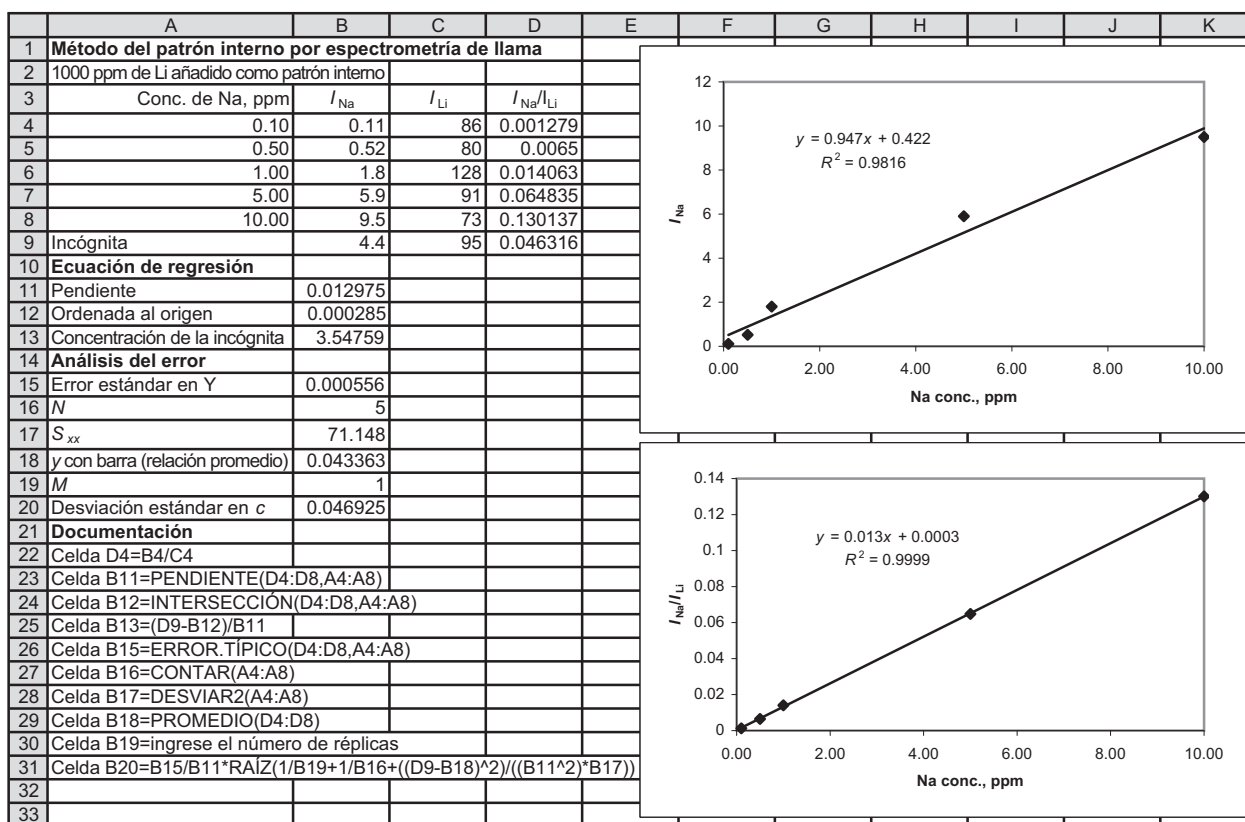


FIGURA 1.12 Hoja de cálculo en la que se ilustra el método del patrón interno para la determinación espectrométrica a la llama de sodio.

- ¿Cuáles son las propiedades físicas y químicas de la matriz de la muestra?
- ¿Cuántas muestras se analizarán?

Responder a las preguntas es muy importante porque determina cuánto tiempo y atención se requiere para el análisis. Las respuestas a las preguntas 2 y 3 determinan qué tan sensible debe ser el método y qué tan amplio debe ser el intervalo de las concentraciones para poder acomodarlo. La respuesta a la pregunta 4 determina la selectividad que se necesita del método. Las respuestas a la pregunta 5 son importantes porque algunos métodos analíticos de la tabla 1.1 se aplican a las soluciones, casi siempre acuosas, del analito. Otros métodos son más fáciles de aplicar a gases, y otros métodos son más adecuados para el análisis directo de sólidos.

La cantidad de muestras por analizar, que es la pregunta 6, también es una importante consideración económica. Si la cantidad es grande, se gasta tiempo y dinero en la instrumentación, desarrollo del método y calibración. Además, se debe escoger un método que requiera el menor tiempo de operación por muestra.

Por otro lado, si sólo se analizan pocas muestras, un método más sencillo que requiera más tiempo pero con poco o ningún trabajo preliminar es la elección más sabia.

Luego de responder a estas seis preguntas se puede escoger un método, siempre que se conozcan las características de manipulación de los diferentes instrumentos que se muestran en la tabla 1.1.

1E.2 Características de desempeño de los instrumentos

En la tabla 1.3 se proporciona una lista de los criterios de desempeño cuantitativos de varios instrumentos que se utilizan para decidir si un método instrumental es adecuado para resolver un problema analítico. Estas características se expresan en términos numéricos que se llaman *parámetros de calidad*, los cuales permiten reducir la elección de instrumentos para un problema analítico dado a sólo unos pocos. La elección entre estos pocos se basa después en los criterios cualitativos de desempeño de la tabla 1.4.

TABLA 1.3 Criterios numéricos para elegir métodos analíticos.

Criterio	Parámetros de calidad
1. Precisión	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza
2. Sesgo	Error sistemático absoluto, error sistemático relativo
3. Sensibilidad	Sensibilidad de calibración, sensibilidad analítica
4. Límite de detección	Blanco más tres veces la desviación estándar del blanco
5. Intervalo dinámico	Límite de cuantificación de la concentración (LOQ) a límite de la linealidad de la concentración (LOL)
6. Selectividad	Coeficiente de selectividad

TABLA 1.4 Otras características que se deben considerar en la elección del método.

1. Velocidad
2. Facilidad y conveniencia
3. Habilidades que requiere el operador
4. Costo y disponibilidad del equipo
5. Costo por muestra

En esta sección se definen cada uno de los seis parámetros de calidad que aparecen en la tabla 1.3. Estos parámetros se usan a lo largo de todo el libro en el estudio de los diferentes instrumentos y métodos instrumentales.

Precisión

Como se ve en la sección a1A.1 del apéndice 1, la precisión de los datos analíticos es el grado de concordancia entre los datos que se obtuvieron de la misma manera. La precisión proporciona una medida del error aleatorio o indeterminado de un análisis. Entre los parámetros de calidad de la precisión se encuentra la *desviación estándar absoluta*, la *desviación estándar relativa*, el *error estándar de la media*, el *coeficiente de variación* y la *varianza*. Estos términos se definen en la tabla 1.5.

Sesgo

Como se puede ver en la sección a1A.2 del apéndice 1, el sesgo es una medida del error sistemático o determinado del método analítico. El sesgo Δ se define mediante la ecuación

$$\Delta = \mu - \tau \quad (1.9)$$

TABLA 1.5 Parámetros de calidad de la precisión de los métodos analíticos.

Términos	Definición*
Desviación estándar absoluta, s	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$
Desviación estándar relativa (RSD)	$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}}$
Error estándar de la media, s_m	$s_m = s/\sqrt{N}$
Coeficiente de variación (CV)	$\text{CV} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$
Varianza	s^2

* x_i = valor numérico de la medida i -ésima

$$\bar{x} = \text{media de } N \text{ medidas} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

donde μ es la media de la población para la concentración de un analito en una muestra y τ es el valor verdadero.

Para determinar el sesgo se necesita analizar uno o más materiales de referencia estándar cuya concentración de analito se conozca. Las fuentes de tales materiales se tratan en la sección a1A.2 del apéndice 1. Los resultados de dichos análisis contendrán errores tanto sistemáticos como aleatorios, pero si se repiten las mediciones una cantidad suficiente de veces, se puede determinar el valor medio con cierto grado dado de confianza. Como se ilustra en la sección a1B.1 del apéndice 1, la media de 20 o 30 análisis repetidos se puede tomar como un buen cálculo de la media de la población μ de la ecuación 1.9. Cualquier diferencia entre esta media y la concentración de analito conocida del material de referencia estándar se puede atribuir al sesgo.

Si la ejecución de 20 análisis repetidos sobre un patrón es impráctico, la probable presencia o ausencia de sesgo se puede evaluar como se ilustra en el ejemplo a1.10 del apéndice 1. Por lo regular, al aplicar un método analítico se pretende identificar el origen del sesgo y eliminarlo o corregirlo mediante el uso de blancos y la calibración de los instrumentos.

Sensibilidad

Hay un acuerdo general de que la sensibilidad de un instrumento o método es una medida de su aptitud para discriminar entre pequeñas diferencias de concentración del analito. Hay dos factores que limitan la sensibilidad: la pendiente de la curva de calibración y la reproducibilidad o precisión del dispositivo de medi-

ción. De los dos métodos que tienen igual precisión, el que tiene la curva de calibración con mayor pendiente será la más sensible. Un corolario de este enunciado es que si dos métodos tienen curvas de calibración con pendientes iguales, el que muestre la mejor precisión será el más sensible.

La definición cuantitativa de sensibilidad que acepta la *Unión Internacional de Química Pura y Aplicada* (IUPAC, por sus siglas en inglés) es la *sensibilidad de la calibración*, la cual es la pendiente de la curva de calibración en la concentración de interés. La mayoría de las curvas de calibración que se usan en química analítica son lineales y se podrían representar mediante la ecuación

$$S = mc + S_{bl} \quad (1.10)$$

donde S es la señal medida, c es la concentración del analito, S_{bl} es la señal del instrumento para un blanco y m es la pendiente de la recta. La cantidad S_{bl} es la intersección de la recta con el eje de las y . Con estas curvas, la sensibilidad de calibración es independiente de la concentración c e igual a m ; como parámetro de calidad tiene el inconveniente de que no considera la precisión de las medidas individuales.

Mandel y Stiehler¹¹ reconocieron la necesidad de incluir la precisión en un enunciado matemático significativo de la sensibilidad, y propusieron la siguiente definición de *sensibilidad analítica* γ :

$$\gamma = m/s_s \quad (1.11)$$

En este caso, m es otra vez la pendiente de la curva de calibración y s_s es la desviación estándar de la medida.

La sensibilidad analítica ofrece la ventaja de ser relativamente insensible a los factores de amplificación. Por ejemplo, al incrementar la ganancia de un instrumento en un factor de cinco se incrementará cinco veces m . Lo común es que este incremento esté acompañado de un aumento correspondiente en s_s , lo que deja la sensibilidad analítica más o menos constante. La segunda ventaja de la sensibilidad analítica es que es independiente de las unidades de medición de S .

Una desventaja de la sensibilidad analítica es que a menudo depende de la concentración porque s_s puede variar con ésta.

Límites de detección

La definición cualitativa más generalmente aceptada del límite de detección es que es la concentración o masa mínima del analito que puede ser detectada con

un nivel de confianza conocido. Este límite depende de la relación entre la magnitud de la señal analítica y el tamaño de las fluctuaciones estadísticas en la señal blanco. Es decir, a menos que la señal analítica sea mayor que el blanco por algunos múltiplos de k de la variación en el blanco debida a errores aleatorios, es imposible detectar la señal analítica con certeza. Por consiguiente, a medida que se alcanza el límite de detección, la señal analítica y su desviación estándar se aproximan a la señal del blanco S_{bl} y su desviación estándar s_{bl} . La mínima señal analítica distinguible S_m se toma luego como la suma de la media de la señal blanco $\bar{S}_{bl}$ más un múltiplo k de la desviación estándar del blanco. Es decir,

$$S_m = \bar{S}_{bl} + k s_{bl} \quad (1.12)$$

En forma experimental, S_m se puede determinar tomando 20 o 30 mediciones del blanco, de preferencia a lo largo de un lapso grande. Los datos resultantes se tratan estadísticamente para obtener $\bar{S}_{bl}$ y s_{bl} . Para finalizar, la pendiente de la ecuación 1.10 se usa para convertir S_m en c_m , lo cual se define como el límite de detección. El límite de detección está dado por

$$c_m = \frac{S_m - \bar{S}_{bl}}{m} \quad (1.13)$$

Como lo dice Ingle,¹² se han utilizado numerosas opciones basadas correcta o incorrectamente en las estadísticas t y z (sección a1B.2, apéndice 1) para determinar un valor de k en la ecuación 1.12. Kaiser¹³ argumenta que un valor razonable para la constante es $k = 3$. Señala que es erróneo suponer una distribución rigurosamente normal de los resultados a partir de las mediciones del blanco y que cuando $k = 3$ el nivel de confianza de la detección será de 95% en la mayoría de los casos. Además, razona que se gana poco usando un valor grande de k y, por lo tanto, un mayor nivel de confianza. Long y Winefordner,¹⁴ en un análisis sobre el límite de detección, también recomiendan usar $k = 3$.

EJEMPLO 1.2

Un análisis de mínimos cuadrados de los datos de calibración para determinar plomo mediante su espectro de emisión de llama dio la ecuación

$$S = 1.12c_{Pb} + 0.312$$

¹²J. D. Ingle Jr., *J. Chem. Educ.*, **1974**, 51, p. 100.

¹³H. Kaiser, *Anal. Chem.*, **1987**, 42, p. 53A.

¹⁴G. L. Long y J. D. Winefordner, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, p. 712A.

¹¹J. Mandel y R. D. Stiehler, *J. Res. Natl. Bur. Std.*, **1964**, A53, p. 155.

donde c_{pb} es la concentración de plomo en partes por millón y S es una medida de la intensidad relativa de la línea de emisión del plomo. Se obtuvieron los siguientes datos repetidos:

Conc., ppm Pb	Núm. de repeticiones	Valor medio de S	s
10.0	10	11.62	0.15
1.00	10	1.12	0.025
0.000	24	0.0296	0.0082

Calcule *a*) la sensibilidad de calibración, *b*) la sensibilidad analítica a 1 y 10 ppm de Pb y *c*) el límite de detección.

Solución

- a)** Por definición, la sensibilidad de calibración es la pendiente $m = 1.12$.
- b)** A 10 ppm de Pb, $\gamma = m/s_s = 1.12/0.15 = 7.5$.
A 1 ppm de Pb, $\gamma = 1.12/0.025 = 45$.
Observe que la sensibilidad analítica depende mucho de la concentración. Por esa razón no se le reporta a menudo como la sensibilidad de la calibración.
- c)** Si se aplica la ecuación 1.12

$$S = 0.0296 + 3 \times 0.0082 = 0.054$$

Al sustituir este valor en la ecuación 1.13 se tiene

$$c_m = \frac{0.054 - 0.0296}{1.12} = 0.0022 \text{ ppm Pb}$$

Intervalo dinámico

En la figura 1.13 se ilustra la definición de *intervalo dinámico* de un método analítico, el cual se extiende desde la concentración mínima a la cual se pueden efectuar mediciones cuantitativas (límite de cuantificación, LC, o LOQ por sus siglas en inglés) hasta la concentración a la cual la curva de calibración se desvía de la linealidad por una cantidad especificada (límite de linealidad o LOL por sus siglas en inglés). Casi siempre, una desviación de 5% de la linealidad se considera como el límite superior. Las desviaciones de la linealidad son comunes a altas concentraciones debido a las respuestas no ideales de los detectores o a efectos de químicos. En general, se considera que el límite inferior de las medidas cuantitativas es igual a 10 veces la desviación estándar de las medidas repetitivas realizadas sobre un blanco, es decir, $10s_{\text{bl}}$. En este punto, la desviación estándar es de casi 30% y disminuye con rapidez a medida que las concentraciones son mayores.

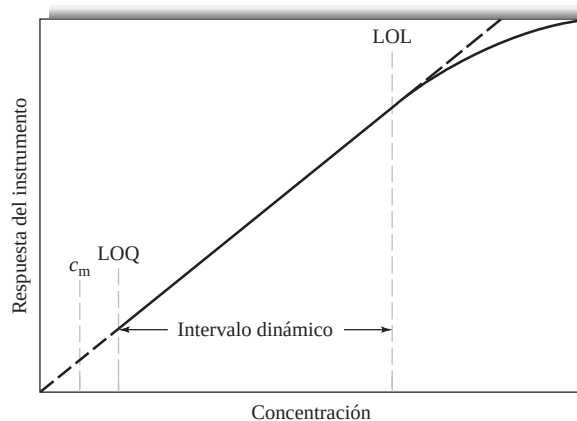


FIGURA 1.13 Intervalo útil de un método analítico. LOQ = límite de cuantificación; LOL = límite de linealidad.

Para que sea muy útil, un método analítico debe tener un intervalo dinámico de por lo menos unos pocos órdenes de magnitud. Algunas técnicas analíticas, como la espectrofotometría de absorción, son lineales en sólo uno o dos órdenes de magnitud. Otros métodos, como la espectrometría de masa y fluorescencia molecular, pueden mostrar linealidad en cuatro o cinco órdenes de magnitud.

Selectividad

Se refiere al grado al cual el método analítico está libre de la interferencia de otras especies contenidas en la matriz de la muestra. Por desgracia, ningún método analítico está libre de interferencias de otras especies, y con frecuencia se deben tomar medidas para minimizar los efectos de estas interferencias.

Por ejemplo, considere una muestra que contiene un analito A así como especies B y C que tal vez interfieran. Si c_A , c_B y c_C son las concentraciones de las tres especies y m_A , m_B y m_C son sus sensibilidades de calibración, entonces la señal total del instrumento estará dada por una versión modificada de la ecuación 1.10. Es decir,

$$S = m_A c_A + m_B c_B + m_C c_C + S_{\text{bl}} \quad (1.14)$$

Defínase ahora el coeficiente de selectividad para A con respecto a B, $k_{B,A}$, como

$$k_{B,A} = m_B/m_A \quad (1.15)$$

El coeficiente de selectividad da entonces la respuesta del método para la especie B en relación con A. Un coeficiente similar para A con respecto a C es

$$k_{C,A} = m_C/m_A \quad (1.16)$$

Al sustituir estas relaciones en la ecuación 1.14 se tiene

$$S = m_A(c_A + k_{B,A}c_B + k_{C,A}c_C) + S_{bl} \quad (1.17)$$

Los coeficientes de selectividad varían de cero, cuando no hay interferencia, a valores mucho más grandes que la unidad. Observe que un coeficiente es negativo cuando la interferencia causa una reducción de la intensidad de la señal de salida del analito. Por ejemplo, si la presencia del interferente B ocasiona una reducción en S en la ecuación 1.14, m_B llevará un signo negativo, al igual que $k_{B,A}$.

Los coeficientes de selectividad son parámetros de calidad útiles para describir la selectividad de los métodos analíticos. Pero no se usan mucho, excepto para caracterizar el rendimiento de los electrodos selectivos de iones (véase capítulo 23). En el ejemplo 1.3 se ilustra el uso de los coeficientes de selectividad cuando se dispone de ellos.

EJEMPLO 1.3

El coeficiente de selectividad de un electrodo selectivo de iones para K^+ con respecto a Na^+ es de 0.052. Calcule el error relativo en la determinación de K^+

en una solución que tiene una concentración de K^+ de $3.00 \times 10^{-3} M$ si la concentración de Na^+ es a) $2.00 \times 10^{-2} M$; b) $2.00 \times 10^{-3} M$; c) $2.00 \times 10^{-4} M$. Suponga que S_{bl} es casi cero para una serie de blancos.

Solución

a) Al sustituir datos en la ecuación 1.17 se tiene

$$\begin{aligned} S &= m_{K^+}(c_{K^+} + k_{Na^+,K^+}c_{Na^+}) + 0 \\ S/m_{K^+} &= 3.00 \times 10^{-3} + 0.052 \times 2.00 \times 10^{-2} \\ &= 4.04 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

Si el Na^+ no estuviera presente

$$S/m_{K^+} = 3.00 \times 10^{-3}$$

El error relativo en c_{K^+} sería idéntico al error relativo en S/m_{K^+} (véase sección a, apéndice 1). Por tanto,

$$\begin{aligned} E_{rel} &= \frac{4.04 \times 10^{-3} - 3.00 \times 10^{-3}}{3.00 \times 10^{-3}} \times 100\% \\ &= 35\% \end{aligned}$$

Si se procede de la misma manera, se tiene

- b) $E_{rel} = 3.5\%$
c) $E_{rel} = 0.35\%$

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

**Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contengan este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 1.1 ¿Qué es un transductor en un instrumento analítico?
- 1.2 ¿Cuál es el procesador de información en un instrumento para medir visualmente el color de una solución?
- 1.3 ¿Cuál es el detector en un espectrógrafo en el cual las líneas del espectro se registran en fotografías?
- 1.4 ¿Cuál es el transductor en un detector de humo?
- 1.5 ¿Qué es un dominio de los datos?
- 1.6 Mencione las señales eléctricas que se consideran analógicas. ¿Cómo es la información codificada en una señal analógica?
- 1.7 Mencione cuatro transductores de salida y describa cómo se utilizan.
- 1.8 ¿Qué es un parámetro de calidad?
- *1.9 Una muestra de 25.0 ml que contiene Cu^{2+} dio una señal en el instrumento de 23.6 unidades (corregida por un blanco). Cuando se añadieron exactamente

0.500 ml de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.0287 M a la solución, la señal aumentó a 37.9 unidades. Calcule la concentración molar de Cu^{2+} si se supone que la señal fue directamente proporcional a la concentración del analito.



- *1.10** Los datos de la tabla siguiente se obtuvieron durante una determinación colorimétrica de glucosa en suero sanguíneo.

Concentración de glucosa, mM	Absorbancia, A
0.0	0.002
2.0	0.150
4.0	0.294
6.0	0.434
8.0	0.570
10.0	0.704

- Si se supone que hay una relación lineal, determine la estimación de mínimos cuadrados de la pendiente y la ordenada al origen.
- Mediante la función ESTIMACIÓN LINEAL de Excel determine la desviación estándar de la pendiente y la ordenada al origen.¹⁵ ¿Cuál es el error estándar de la estimación?
- Calcule los intervalos de confianza de 95% para la pendiente y la ordenada al origen.
- Una muestra de suero tuvo una absorbancia de 0.350. Calcule la concentración de glucosa y su desviación estándar.



- 1.11** Se midieron exactamente alícuotas de 5.00 ml de una disolución que contiene fenobarbital en matraces volumétricos y se hicieron básicas con KOH. Después se vaciaron en cada matraz los siguientes volúmenes de una solución patrón que contiene 2.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de fenobarbital: 0.000, 0.500, 1.00, 1.50 y 2.00 ml y la mezcla se diluyó a cierto volumen. La fluorescencia de cada una de estas soluciones se midió con un fluorímetro, que dio los valores de 3.26, 480, 6.41, 8.02 y 9.56, respectivamente.

- Grafique los datos.
- Con la gráfica de a) calcule la concentración de fenobarbital en la incógnita.
- Deduzca la ecuación de mínimos cuadrados para los datos.
- Determine la concentración de fenobarbital a partir de la ecuación de c).
- Calcule la desviación estándar de la concentración que obtuvo en d).

Problema de reto

- 1.12**
- Utilice un buscador para localizar la página de la IUPAC en la red y localice el *Compendium of Analytical Nomenclature*. ¿De qué año es la última edición publicada? ¿Quiénes fueron los autores?
 - Busque la definición de sesgo que recomienda el *Compendium*. ¿Esta definición y la simbología son distintos de los que se usan en este capítulo? Explique.
 - Busque la definición de límite de detección que se recomienda en el *Compendium*. ¿Esta definición y la simbología son diferentes de los de este capítulo? Explique.

¹⁵ Véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, cap. 4.

- d) ¿Cuáles son las diferencias entre sensibilidad de calibración y sensibilidad analítica?
- e) Los siguientes datos de calibración de obtuvieron mediante un método instrumental para determinar las especies X en solución acuosa

Conc. X, ppm	Núm. de repeticiones	Señal analítica media	Desviación estándar
0.00	25	0.031	0.0079
2.00	5	0.173	0.0094
6.00	5	0.422	0.0084
10.00	5	0.702	0.0084
14.00	5	0.956	0.0085
18.00	5	1.248	0.0110

- i) Calcule la sensibilidad de calibración.
- ii) Determine la sensibilidad analítica en cada concentración del analito
- iii) Determine el coeficiente de variación de la media de cada uno de los conjuntos de repetición.
- iv) ¿Cuál es el límite de detección para el método?



SECCIÓN UNO

Mediciones básicas

F. James Holler

Nuestras vidas han recibido gran influencia de la revolución electrónica. No sorprende que en el campo del análisis instrumental haya habido una revolución similar. El montaje de computadoras y componentes electrónicos que se ilustra en la imagen es símbolo tanto de la naturaleza como de la marcha de los cambios que están ocurriendo. Para cuando usted lea estas líneas, una o más de las piezas de la imagen ya habrán sido reemplazadas por otras más modernas o se habrán vuelto obsoletas.

En el capítulo 1 se establecieron los fundamentos del estudio del análisis químico instrumental. En los cuatro capítulos de la sección 1 se presentan los conceptos fundamentales de la electrónica analógica, la electrónica digital, las computadoras y el manejo de la información. Dichos conceptos son esenciales para entender cómo se realizan las medidas con los instrumentos. En el capítulo 2 se presenta una breve introducción a los componentes y principios que rigen los circuitos básicos analógicos de corriente directa y de corriente alterna. En el capítulo 3 continúa la investigación de la electrónica analógica y se presentan los principios y las aplicaciones de los circuitos de amplificador operacional. La electrónica digital y los límites entre los dominios analógico y digital se exploran en el capítulo 4, como son la naturaleza de las computadoras y su papel en el análisis instrumental. En el capítulo 5 se termina de tratar los elementos de las mediciones examinando la naturaleza de las señales y el ruido, así como las herramientas y los programas para aumentar la razón señal-ruido. En el “Análisis instrumental en acción” se estudia un adelanto reciente de los laboratorios analíticos: el laboratorio electrónico sin papel.

2 Componentes y circuitos eléctricos

3 Amplificadores operacionales en los instrumentos químicos

4 Electrónica digital y computadoras

5 Señales y ruido

Análisis instrumental en acción
El laboratorio analítico electrónico

Componentes y circuitos eléctricos

En el capítulo 1 se presentó el concepto de dominios de los datos y se resaltó que los instrumentos modernos funcionan al transformar los datos de un dominio en otro. La mayor parte de tales conversiones se efectúan entre dominios eléctricos; para entenderlas y para saber cómo funcionan los modernos instrumentos electrónicos se requiere saber algo de los componentes de los circuitos básicos de corriente directa (cd) y de corriente alterna (ca). El objetivo en este capítulo es estudiar estos temas como preparación para los dos capítulos siguientes en los cuales se analiza el papel que desempeñan los circuitos integrados y las computadoras en los instrumentos para el análisis químico. Así, con este conocimiento, usted podrá entender y apreciar las funciones de los sistemas de medición y los métodos que se estudiarán en el libro.



En todo el capítulo, esta viñeta indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

2A CIRCUITOS DE CORRIENTE DIRECTA Y MEDICIONES

En esta sección se estudian algunos circuitos de cd elementales y la manera como se usan para efectuar mediciones de corriente, voltaje y resistencia. Una definición general de un *circuito* es: una trayectoria cerrada que puede seguir una corriente eléctrica. Se inicia el estudio de los circuitos con cuatro leyes importantes de la electricidad. Se adopta la *convención de la corriente positiva*. Es decir, la dirección de la corriente en un circuito eléctrico va desde un punto de potencial positivo hacia un punto de potencial negativo. En muchos circuitos eléctricos, los electrones son los portadores de carga, y la convención de la corriente positiva es opuesta al flujo de electrones. No obstante, en semiconductores y disoluciones iónicas, las especies con carga positiva pueden ser los portadores principales. En cualquier caso, es necesario adoptar una convención consistente para la dirección de la corriente. La convención de la corriente positiva se usa casi universalmente en la ciencia y la ingeniería.

2A.1 Leyes de la electricidad

Ley de Ohm

Esta ley describe la relación entre el voltaje, la resistencia y la corriente en un *circuito resistivo en serie*. En un circuito de este tipo todos sus elementos están conectados en serie a lo largo de una trayectoria única, uno tras otro, como es el caso de la batería y las tres resistencias que se muestran en la figura 2.1. La ley de Ohm se puede escribir en la forma

$$V = IR \quad (2.1)$$

donde V es la diferencia de potencial en volts entre dos puntos en un circuito, R es la resistencia entre los dos puntos medida en ohms e I es la intensidad o corriente medida en amperes.¹

Leyes de Kirchhoff

La *ley de corriente de Kirchhoff* establece que la suma algebraica de las corrientes en cualquier punto de un circuito es cero. Esto quiere decir que la suma de las corrientes que llegan a un punto de un circuito tiene que ser igual a la suma de las corrientes que salen. La *ley de voltaje de Kirchhoff* dice que la suma algebraica de los voltajes alrededor de una trayectoria cerrada es cero. Esto significa que en una trayectoria cerrada,

¹ En la mayor parte del libro, el símbolo V denota la diferencia de potencial eléctrico o voltaje en los circuitos. Sin embargo, en los capítulos 22 a 25, se sigue la convención electroquímica en la que la fuerza electromotriz se simboliza con E .

la suma de los incrementos de voltaje tiene que ser igual a la suma de las caídas de voltaje. Estas leyes son resultado de la ley de la conservación de la energía en los circuitos eléctricos.

Las aplicaciones de las leyes de Kirchhoff y Ohm a los circuitos elementales se tratan en la sección 2A.2.

Ley de potencia

La potencia P en watts disipada en un elemento resistivo es el producto de la corriente en amperes por la diferencia de potencial a través del elemento en volts:

$$P = IV \quad (2.2)$$

Al sustituir en la ley de Ohm se tiene

$$P = I^2 R = V^2 / R \quad (2.3)$$

2A.2 Circuitos de corriente directa

En esta sección se trata dos tipos de circuitos básicos de corriente directa (cd) que tienen gran uso en los dispositivos eléctricos, a saber, *circuitos resistivos en serie* y *circuitos resistivos en paralelo*, y se analizan sus propiedades con la ayuda de las leyes apenas mencionadas.

Circuitos en serie

En la figura 2.1 se ilustra un circuito en serie que consta de una batería, un interruptor y tres resistencias en serie. Los componentes están en serie si sólo tienen un punto de contacto en común. Cuando el interruptor se



Simulación: aprenda más sobre la **ley de Ohm**.

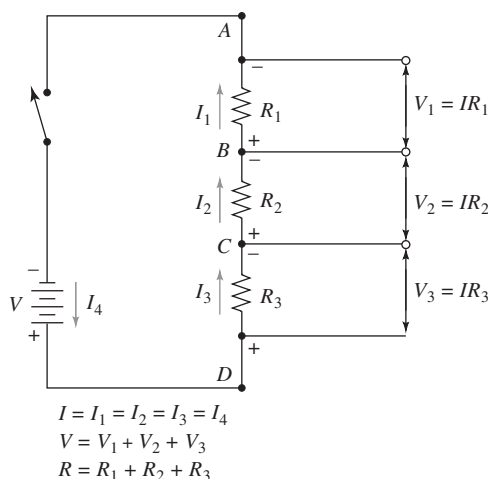


FIGURA 2.1 Resistores en serie; un divisor de voltaje. Los elementos están en serie si tienen un solo punto de contacto en común. La intensidad en cualquier punto de un circuito en serie es la misma. En otras palabras, $I_1 = I_2 = I_3 = I_4$.

cierra, hay una corriente en el circuito. Al aplicar la ley de corriente de Kirchhoff al punto D en este circuito se tiene

$$I_4 - I_3 = 0$$

o bien

$$I_4 = I_3$$

Observe que la corriente que sale en el punto D debe tener signo *contrario* a la corriente que entra en el punto D . De igual manera, la aplicación de la ley en el punto C da

$$I_3 = I_2$$

Por consiguiente, *la corriente o intensidad es la misma en todos los puntos en un circuito en serie*; es decir, sólo hay una corriente I , dada por

$$I = I_1 = I_2 = I_3 = I_4 \quad (2.4)$$

La aplicación de la ley de voltaje de Kirchhoff al circuito de la figura 2.1 da

$$V - V_3 - V_2 - V_1 = 0$$

o bien,

$$V = V_3 + V_2 + V_1 \quad (2.5)$$

Observe que si iniciamos en el interruptor y se recorre el circuito en sentido contrario al de las manecillas del reloj, hay un voltaje que se incrementa (V) y tres voltajes que disminuyen (V_3 , V_2 , y V_1). Observe también que a través de un elemento resistivo hay una *caída de voltaje* en la dirección de la corriente.

Al sustituir la ley de Ohm en la ecuación 2.5 se tiene

$$V = I(R_1 + R_2 + R_3) = IR_s \quad (2.6)$$

La ecuación 2.6 muestra que la resistencia total R_s de un circuito en serie es igual a la suma de las resistencias de cada uno de los componentes. Es decir, en el caso de los tres resistores de la figura 2.1,

$$R_s = R_1 + R_2 + R_3 \quad (2.7)$$

Para n resistencias en serie, se puede generalizar la ecuación 2.7 a

$$R_s = R_1 + R_2 + \cdots + R_n = \sum_{i=1}^n R_i \quad (2.8)$$

El divisor de voltaje

Las resistencias en serie forman un *divisor de voltaje* porque una fracción del voltaje total aparece en cada resistencia. En la figura 2.1, si se aplica la ley de Ohm a la parte del circuito que va del punto B a A , se obtiene

$$V_1 = I_1 R_1 = IR_1 \quad (2.9)$$

La fracción del voltaje total V que aparece en R_1 es V_1/V . Al dividir la ecuación 2.9 entre la ecuación 2.6, se obtiene

$$\frac{V_1}{V} = \frac{IR_1}{I(R_1 + R_2 + R_3)} = \frac{R_1}{R_1 + R_2 + R_3} = \frac{R_1}{R_s} \quad (2.10)$$

De manera similar, es posible escribir también

$$\frac{V_2}{V} = \frac{R_2}{R_s}$$

y

$$\frac{V_3}{V} = \frac{R_3}{R_s}$$

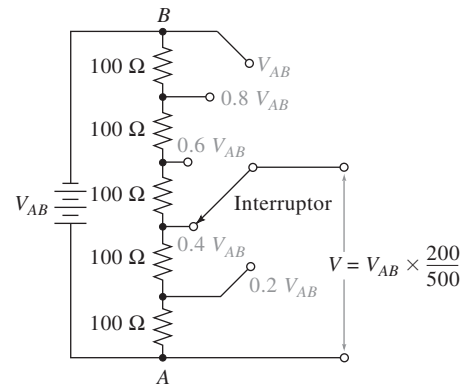
Por tanto, la fracción del voltaje total que aparece en un resistor dado es la resistencia de *ese* resistor dividida entre la resistencia total en serie R_s . Lo anterior se conoce como el *teorema del divisor de voltaje*.

Los divisores de voltaje tienen muchas aplicaciones en los circuitos eléctricos para proporcionar voltajes de salida que son sólo una fracción del voltaje de entrada. Cuando actúan de este modo se denominan *atenuadores* y se dice que el voltaje está *atenuado*. Como se muestra en la figura 2.2a, los resistores en serie fijos proporcionan voltajes en incrementos fijos. En la posición del interruptor que se muestra, la caída del voltaje en las dos resistencias ($100\ \Omega$ y $100\ \Omega$) es el voltaje de salida V . La fracción del voltaje total V_{AB} seleccionada es $200\ \Omega/R_s$, o $200\ \Omega/500\ \Omega = 0.400$. Si V_{AB} fuera 5 V, por ejemplo, el voltaje sería $0.400 \times 5\ \text{V} = 2.00\ \text{V}$. Si se usan resistores con resistencias conocidas exactamente, la fracción seleccionada puede ser muy exacta, es decir, dentro de un margen de 1% o menos.

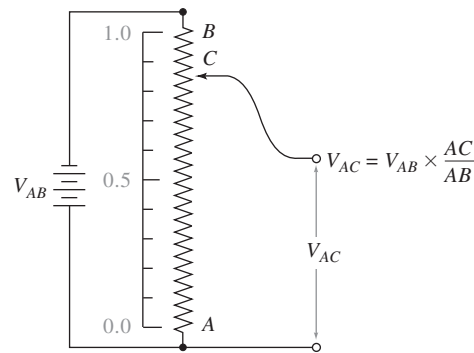
Un segundo tipo de divisor de voltaje se ilustra en la figura 2.2b. Éste se denomina *potenciómetro*,² y proporciona un voltaje que varía en forma continua desde 0.00 V hasta el voltaje total de entrada V_{AB} . En la mayoría de los potenciómetros la resistencia es lineal, es decir, la resistencia entre un extremo A y cualquier punto C , es directamente proporcional a la longitud AC de esa parte del resistor. Entonces $R_{AC} = kAC$, donde AC está expresada en unidades aceptables de longitud y k es una constante de proporcionalidad. De manera similar, $R_{AB} = kAB$. Si se combinan estas relaciones con la ecuación 2.10 se llega a

$$\frac{V_{AC}}{V_{AB}} = \frac{AC}{AB}$$

²La palabra *potenciómetro* también se usa en un contexto diferente como nombre de un instrumento que usa un divisor de voltaje lineal para medir en forma exacta los voltajes.



a)



b)

FIGURA 2.2 Divisor de voltaje a) tipo atenuador fijo y b) tipo variable en forma continua (potenciómetro).

o bien,

$$V_{AC} = V_{AB} \frac{AC}{AB} \quad (2.11)$$

En los potenciómetros comerciales, R_{AB} es por lo general un resistor de alambre enrollado que forma una bobina helicoidal. Un contacto móvil, llamado *escobilla*, se puede colocar en cualquier lugar entre un extremo de la hélice y el otro, lo cual permite que V_{AC} varíe en forma continua desde cero hasta el voltaje de entrada V_{AB} .

Circuitos en paralelo

En la figura 2.3 se ilustra un circuito cd en *paralelo*. Al aplicar la ley de corriente de Kirchhoff al punto A de esta figura se obtiene

$$I_1 + I_2 + I_3 - I_t = 0$$



Clase interactiva: aprenda más acerca de **circuitos de cd y divisores de voltaje**.

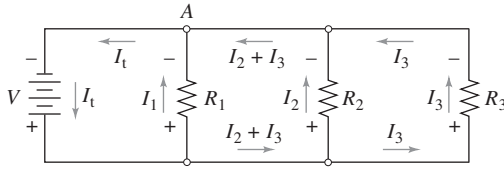


FIGURA 2.3 Resistores en paralelo. Los elementos de los circuitos en paralelo tienen dos puntos de contacto en común. El voltaje a través de cada resistencia es igual a V , el voltaje de la batería.

o bien,

$$I_t = I_1 + I_2 + I_3 \quad (2.12)$$

Si se aplica la ley de voltaje de Kirchhoff a este circuito se obtienen tres ecuaciones independientes. Por tanto, se podría escribir para el lazo que contiene la batería y R_1 ,

$$\begin{aligned} V - I_1 R_1 &= 0 \\ V &= I_1 R_1 \end{aligned}$$

Para el lazo que contiene a V y R_2 ,

$$V = I_2 R_2$$

Para el lazo que contiene a V y R_3 ,

$$V = I_3 R_3$$

Observe que el voltaje de la batería V aparece en los tres resistores.

Se podrían escribir otras ecuaciones para el lazo que contiene a R_1 y R_2 así como para el que contiene a R_2 y R_3 . No obstante, estas ecuaciones no son independientes de las tres ecuaciones anteriores. La sustitución de las tres ecuaciones independientes en la ecuación 2.12 da

$$I_t = \frac{V}{R_p} = \frac{V}{R_1} + \frac{V}{R_2} + \frac{V}{R_3}$$

Al dividir esta ecuación entre V , se obtiene

$$\frac{1}{R_p} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \frac{1}{R_3} \quad (2.13)$$

Como la conductancia G del resistor R es $G = 1/R$, se puede escribir para los tres resistores en paralelo de la figura 2.3

$$G_p = G_1 + G_2 + G_3 \quad (2.14)$$

Para n resistores en paralelo, es posible ampliar las ecuaciones 2.13 y 2.14 a

$$\frac{1}{R_p} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \frac{1}{R_3} + \cdots + \frac{1}{R_n} = \sum_{i=1}^n \frac{1}{R_i} \quad (2.15)$$

$$G_p = G_1 + G_2 + G_3 = \sum_{i=1}^n G_i \quad (2.16)$$

La ecuación 2.16 muestra que en el circuito en paralelo, en contraste con un circuito en serie, las conductancias G son aditivas en lugar de las resistencias.

En el caso especial de dos resistores en paralelo, de la ecuación 2.13 se puede despejar

$$R_p = \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} \quad (2.17)$$

La resistencia en paralelo es justamente el producto de las dos resistencias dividido entre la suma de ambas.

Divisores de corriente

De la misma manera en que unas resistencias en serie forman un divisor de voltaje, las resistencias en paralelo crean un *divisor de corriente*. La fracción de la corriente total I_t que está presente en R_1 en la figura 2.3 es

$$\frac{I_1}{I_t} = \frac{V/R_1}{V/R_p} = \frac{1/R_1}{1/R_p} = \frac{G_1}{G_p}$$

o bien,

$$I_1 = I_t \frac{R_p}{R_1} = I_t \frac{G_1}{G_p} \quad (2.18)$$

Un caso especial interesante ocurre cuando dos resistencias, R_1 y R_2 , forman un circuito en paralelo. La fracción de la intensidad en R_1 se determina con

$$\frac{I_1}{I_t} = \frac{G_1}{G_p} = \frac{1/R_1}{1/R_p} = \frac{1/R_1}{1/R_1 + 1/R_2} = \frac{R_2}{R_1 + R_2}$$

De manera similar,

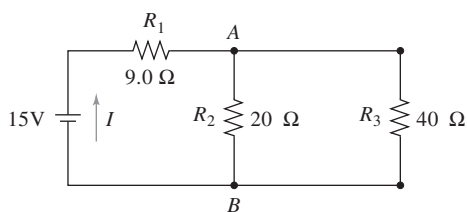
$$\frac{I_2}{I_t} = \frac{R_1}{R_1 + R_2}$$

En otras palabras, en el caso de dos resistores en paralelo, la fracción de la corriente en un resistor es justamente la relación entre la resistencia del segundo resistor y la suma de las resistencias de los dos resistores. Las ecuaciones para I_1/I_t e I_2/I_t se denominan a menudo *ecuaciones del divisor de corriente*.

En el ejemplo 2.1 se ilustra el cálculo en los circuitos en serie y en paralelo.

EJEMPLO 2.1

En el caso del siguiente circuito, calcule a) la resistencia total, b) la corriente que se extrae de la batería, c) la corriente en cada uno de los resistores y d) la diferencia de potencial en cada uno de los resistores.

**Solución**

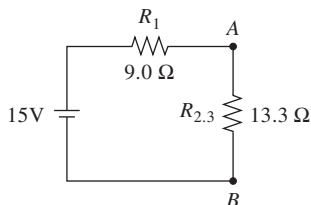
Los resistores R_2 y R_3 están en paralelo. Por consiguiente, la resistencia $R_{2,3}$ entre los puntos A y B se obtiene con la ecuación 2.13. Es decir,

$$\frac{1}{R_{2,3}} = \frac{1}{20\ \Omega} + \frac{1}{40\ \Omega}$$

o bien,

$$R_{2,3} = 13.3\ \Omega$$

Ahora es posible reducir el circuito original al siguiente *circuito equivalente*.



Entonces, se tiene el equivalente de dos resistencias en serie, y

$$R_s = R_1 + R_{2,3} = 9.0\ \Omega + 13.3\ \Omega = 22.3\ \Omega$$

De acuerdo con la ley de Ohm, la corriente I se obtiene a partir de

$$I = 15\ \text{V} / 22.3\ \Omega = 0.67\ \text{A}$$

Si se utiliza la ecuación 2.8, el voltaje V_1 en R_1 es

$$V = 15\ \text{V} \times 9.0\ \Omega / (9.0\ \Omega + 13.3\ \Omega) = 6.0\ \text{V}$$

De manera similar, el voltaje en los resistores R_2 y R_3 es

$$\begin{aligned} V_2 = V_3 = V_{2,3} &= 15\ \text{V} \times 13.3\ \Omega / 22.3\ \Omega \\ &= 8.95\ \text{V} \approx 9.0\ \text{V} \end{aligned}$$

Observe que la suma de los dos voltajes es 15 V, como lo requiere la ley de voltaje de Kirchhoff.

La corriente en R_1 está dada por

$$I_1 = I = 0.67\ \text{A}$$

Las corrientes en R_2 y R_3 se calculan con la ley de Ohm. Por tanto,

$$I_2 = 9.0\ \text{V} / 20\ \Omega = 0.45\ \text{A}$$

$$I_3 = 9.0\ \text{V} / 40\ \Omega = 0.22\ \text{A}$$

Observe que la suma de las dos corrientes da la corriente neta, como lo requiere la ley de corriente de Kirchhoff.

2A.3 Medidas de corriente directa, tensión y resistencia

En esta sección se considera 1) cómo se miden la intensidad, la tensión y la resistencia en los circuitos de cd y 2) las incertidumbres asociadas con dichas mediciones.

Voltímetros y multímetros digitales

Hace apenas 30 años, las mediciones eléctricas de corriente directa se efectuaban con un medidor de D'Arsonval de bobina móvil que se inventó hace más de un siglo. En la actualidad dichos medidores ya son obsoletos; han sido reemplazados por los omnipresentes voltímetro digital (VD) y multímetro digital (MD).

El primero está constituido por un solo circuito integrado, una fuente de potencia, que a menudo es una batería, y una pantalla digital de cristal líquido. El corazón del circuito integrado es un *convertidor analógico a digital*, el cual transforma la señal analógica que entra en un número que es proporcional a la magnitud del voltaje de entrada.³ En la sección 4C.7 se estudian los convertidores analógico a digital. Los voltímetros digitales comerciales modernos son pequeños y con frecuencia cuestan menos de 50 dólares, por lo general tienen resistencias de entrada de 10^{10} hasta $10^{12}\ \Omega$.

El VD es también el corazón de un multímetro digital. Este instrumento no sólo mide tensiones, contiene circuitos internos que le permiten medir también corrientes y resistencias. En la figura 2.4 se ilustra cómo se usa un voltímetro digital para medir voltajes de cd, corrientes y resistencias. En cada esquema, la lectura en la pantalla del medidor es V_M y la resistencia interna del voltímetro digital es R_M . La configuración que se muestra en la figura 2.4a se utiliza para determinar el voltaje V_x de una fuente de voltaje que tiene una resistencia interna R_s . El voltaje que indica el medidor V_M a veces es diferente de la tensión verdadera de la fuente debido a un *error de carga*, el cual se estudia en

³ Una señal analógica varía en forma continua con el tiempo y puede adoptar cualquier valor dentro de cierto intervalo.

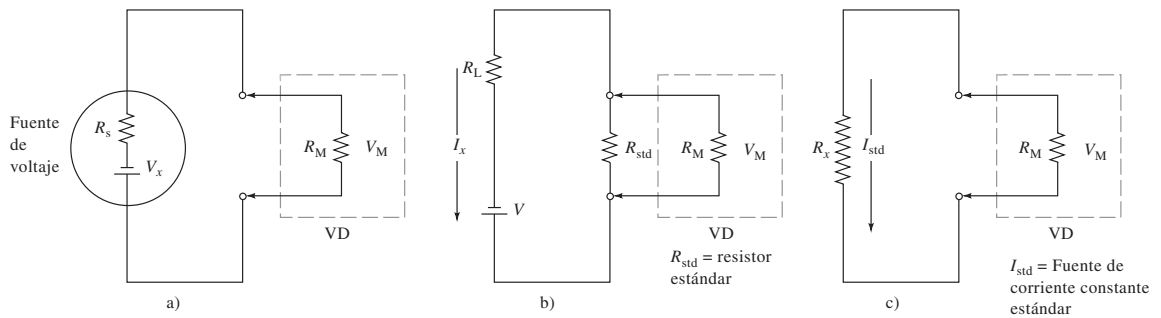


FIGURA 2.4 Usos de un voltímetro digital. a) Medición del V_x de salida de una fuente de tensión. b) Medición de la corriente I_x con un resistor de carga R_L . c) Medición de la resistencia R_x del elemento resistivo de un circuito.

la siguiente sección. Por lo general, la entrada de un multímetro digital es un divisor de voltaje, como el que se ilustra en la figura 2.2a, por lo que el medidor posee varios intervalos de operación.

Los multímetros digitales también se usan para medir diferentes intervalos de corriente. La corriente desconocida pasa por una de las varias pequeñas resistencias estándar incorporadas en el medidor. La caída de voltaje en esta resistencia se mide entonces, y es proporcional a la corriente. En la figura 2.4b se muestra cómo una corriente desconocida I_x se mide en un circuito que consta de una fuente de cd y una resistencia de carga R_L . Por lo general, los resistores de precisión R_{std} del medidor varían desde 0.1Ω menos hasta varios cientos de ohms, por lo que hay varios intervalos de corriente. Por ejemplo, si $R_{std} = 1.000 \Omega$ y el VD da una lectura de 0.456 V , entonces la corriente medida es 0.456 A (456 mA). Al elegir que los resistores estándar sean potencias de 10 y acomodando los circuitos para desplazar el punto decimal de la pantalla para que corresponda con el resistor, el MD lee la corriente en forma directa.

En la figura 2.4c se muestra cómo se determina la resistencia desconocida R_x con un MD moderno. Para esto, el medidor está equipado con una fuente de cd que produce una corriente constante I_{std} que se dirige a través de la resistencia desconocida R_x . El VD señala la caída de voltaje en R_x cuando la corriente I_{std} pasa por el resistor. Por ejemplo, si la corriente estándar es 0.0100 A , entonces la lectura de un VD de 0.945 V da una medición de resistencia de $0.945 \text{ V}/0.0100 \text{ A} = 94.5 \Omega$. Una vez más, sólo se mueve el punto decimal para obtener una lectura directa de la resistencia.

Los MD completos con la capacidad de dar lecturas de corriente, voltaje y resistencia se pueden conseguir por poco más de 30 dólares. Los instrumentos más complejos, con características como selección automática del intervalo, prueba de semiconductores y

capacidades de ca se pueden comprar con menos de 100 dólares.

Errores de carga en las medidas de voltaje

Cuando se utiliza un medidor para medir voltaje, el instrumento perturba el circuito de tal manera que introduce un *error de carga*. Esta situación no es privativa de las medidas de voltaje. De hecho, es un ejemplo de la limitación fundamental de cualquier medida física. Es decir, el proceso de medición inevitablemente trastorna el sistema de interés de modo que la cantidad que se mide en realidad difiere de su valor antes de la medición. Este tipo de errores nunca se puede eliminar por completo, pero con frecuencia se pueden reducir a niveles insignificantes.

La magnitud del error de carga en las mediciones de voltaje depende de la relación entre la resistencia interna del medidor y la resistencia del circuito en estudio. El porcentaje de error de carga relativo E_r asociado con el voltaje medido V_M de la figura 2.4a se obtiene con

$$E_r = \frac{V_M - V_x}{V_x} \times 100\%$$

donde V_x es el voltaje verdadero de la fuente. Si se aplica la ecuación 2.11 para el divisor de voltaje es posible escribir

$$V_M = V_x \left(\frac{R_M}{R_M + R_s} \right)$$

Al sustituir esta ecuación en la anterior y reacomodar los términos se obtiene

$$E_r = -\frac{R_s}{R_M + R_s} \times 100\% \quad (2.19)$$

La ecuación 2.19 muestra que el error de carga relativo disminuye más cuando la resistencia del medidor R_M se vuelve más grande en relación con la resistencia

TABLA 2.1 Efecto de la resistencia del medidor en la exactitud de las medidas de voltaje (véase la figura 2.4a)

Resistencia del medidor R_M, Ω	Resistencia de la fuente R_s, Ω	R_M/R_s	Error relativo %
10	20	0.50	-67
50	20	2.5	-29
500	20	25	-3.8
1.0×10^3	20	50	-2.0
1.0×10^4	20	500	-0.20

de la fuente R_s . En la tabla 2.1 se ilustra este efecto. Los multímetros digitales poseen la gran ventaja de tener resistencias internas muy altas de 10^8 a $10^{12} \Omega$, y, por tanto, se suelen evitar así los errores de carga, excepto en los circuitos cuya resistencias son mayores de $10^6 \Omega$. A menudo, es el divisor de voltaje de entrada del multímetro digital el que determina la resistencia de entrada efectiva, y no la resistencia inherente del medidor. Un ejemplo importante de un error de carga puede ocurrir al medir el voltaje de los electrodos de vidrio para medir pH, cuya resistencia va de 10^6 a $10^9 \Omega$ o más. Instrumentos como el medidor de pH y el medidor de pIon deben tener entradas de resistencia muy alta para protegerse contra errores de carga de este tipo.

Errores de carga en las mediciones de corriente

Como se muestra en la figura 2.4b, al medir la corriente se introduce en el circuito un resistor pequeño estándar y de alta precisión con una resistencia R_{std} . Si esta resistencia está ausente, la intensidad de la corriente en el circuito sería $I = V/R_L$. Con la resistencia R_{std} en su lugar, sería $I_M = V/(R_L + R_{std})$. Por tanto, el error de carga es

$$E_r = \frac{I_M - I_x}{I_x} \times 100\% = \frac{\frac{V}{(R_L + R_{std})} - \frac{V}{R_L}}{\frac{V}{R_L}} \times 100\%$$

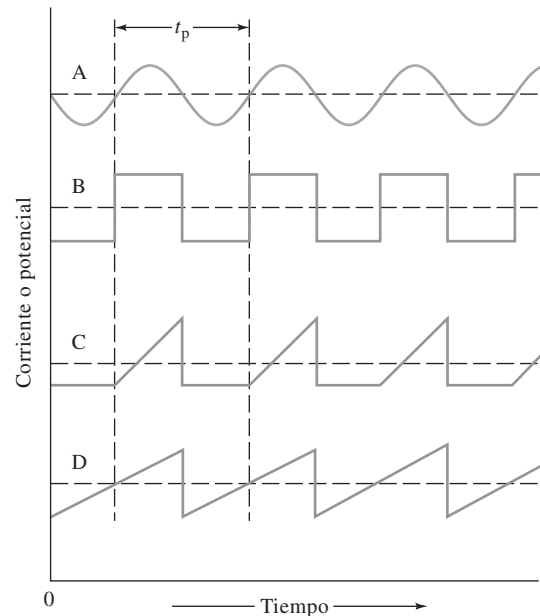
Esta ecuación se simplifica en

$$E_r = -\frac{R_{std}}{R_L + R_{std}} \times 100\% \quad (2.20)$$

En la tabla 2.2 se ve que el error de carga en la medición de la corriente se vuelve más pequeño a medida que la relación entre R_{std} y R_L se hace menor.

TABLA 2.2 Efecto de la resistencia del resistor estándar R_{std} en la exactitud de la medición de corriente (véase figura 2.4b)

Resistencia del circuito R_L, Ω	Resistencia estándar R_{std}, Ω	R_{std}/R_L	Error relativo %
1.0	1.0	1.0	-50
10	1.0	0.10	-9.1
100	1.0	0.010	-0.99
1000	1.0	0.0010	-0.10

**FIGURA 2.5** Ejemplos de señales periódicas: A) sinusoidal, B) onda cuadrada, C) en rampa y D) de dientes de sierra.

2B CIRCUITOS DE CORRIENTE ALTERNA

Con frecuencia, las salidas eléctricas de los transductores de señales analíticas tienen fluctuaciones periódicas o se puede hacer que las presenten. Estas señales cambiantes se pueden representar en una gráfica (figura 2.5) de la corriente instantánea o el voltaje instantáneo en función del tiempo. El *periodo* t_p de la señal es el tiempo que se requiere para completar un ciclo.

El recíproco del periodo es la *frecuencia* f de la señal. Es decir,

$$f = 1/t_p \quad (2.21)$$



Simulación: aprenda más acerca de **multímetros digitales y carga**.

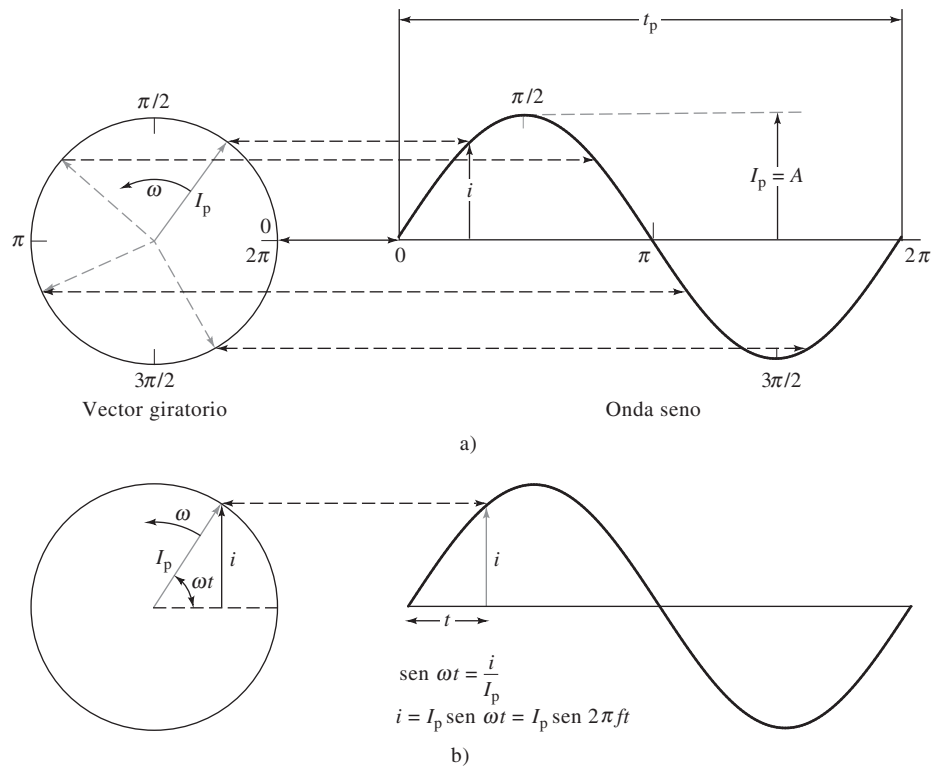


FIGURA 2.6 Relación entre una onda seno del periodo t_p y amplitud I_p y un vector correspondiente de longitud I_p que gira a una velocidad angular $\omega = 2\pi f$ radianes/segundo o una frecuencia de f Hz.

La unidad de frecuencia es el hertz (Hz), el cual se define como ciclo por segundo.

2B.1 Señales sinusoidales

La onda sinusoidal (figura 2.5A) es el tipo más común de señal eléctrica periódica. Un ejemplo ordinario es la intensidad de corriente producida por la rotación de una bobina en un campo magnético (como en un generador eléctrico). Por tanto, si la corriente instantánea o el voltaje instantáneo que produce el generador se grafica en función del tiempo, el resultado es una onda seno.

Una onda seno pura se representa en forma conveniente como un vector de longitud I_p (o V_p), el cual gira en sentido contrario al de las manecillas del reloj a una velocidad angular constante ω . La relación entre la representación del vector y la gráfica de la onda seno se ilustra en la figura 2.6a. El vector gira a razón de 2π radianes en el periodo t_p . Por tanto, la frecuencia angular está definida por

$$\omega = \frac{2\pi}{t_p} = 2\pi f \quad (2.22)$$

Si la cantidad vectorial es corriente o voltaje, la corriente instantánea i o el voltaje instantáneo v en el tiempo t se obtiene con (figura 2.6b)⁴

$$i = I_p \text{ sen } \omega t = I_p \text{ sen } 2\pi f t \quad (2.23)$$

o bien,

$$v = V_p \text{ sen } \omega t = V_p \text{ sen } 2\pi f t \quad (2.24)$$

donde I_p y V_p , la corriente o el voltaje pico o máximos se denominan amplitud, A , de la onda seno.

En la figura 2.7 se ilustran dos ondas seno que tienen amplitudes distintas. Las dos ondas están desfasadas 90° , es decir $\pi/2$ radianes. La diferencia de fase se llama *ángulo de fase* y surge cuando un vector se adelanta o se retrasa esta cantidad respecto a otro.



Simulación: aprenda más sobre **ondas sinusoidales**.

⁴Es útil simbolizar los valores instantáneos de corriente, voltaje o carga que varían con el tiempo con letras minúsculas i , v y q , respectivamente. Por otro lado, las letras mayúsculas se utilizan para corriente estable, voltaje o carga o para una cantidad variable específicamente definida como un voltaje pico o una corriente máxima, es decir, V_p e I_p .

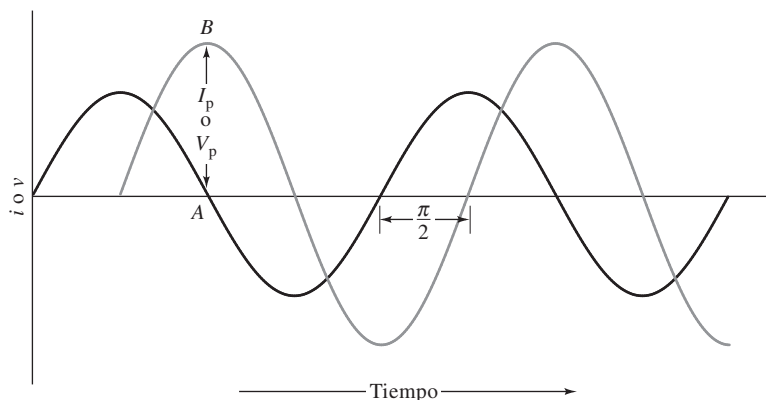


FIGURA 2.7 Ondas seno con distintas amplitudes (I_p o V_p) y con una diferencia de fase de 90° , es decir $\pi/2$ radianes.

Una ecuación más general para una onda seno es entonces

$$i = I_p \sin(\omega t + \phi) = I_p \sin(2\pi ft + \phi) \quad (2.25)$$

donde ϕ es el ángulo de fase con respecto a una onda seno de referencia. Se puede escribir una ecuación análoga en función del voltaje:

$$v = V_p \sin(\omega t + \phi) = V_p \sin(2\pi ft + \phi) \quad (2.26)$$

La corriente o el voltaje asociados con una corriente sinusoidal se puede expresar de varias maneras. La más sencilla es la amplitud pico o máxima I_p (o V_p), que es la corriente instantánea o el voltaje instantáneo máximos durante un ciclo; el valor pico a pico, que es $2I_p$, o $2V_p$, también se usa. Una corriente alterna expresada como el valor de la *raíz cuadrática media* o *rms*, por sus siglas en inglés, produce el mismo calentamiento en un resistor si se expresa como una corriente directa de la misma magnitud. Por tanto, la corriente rms es importante en el cálculo de la potencia (ecuaciones 2.2 y 2.3). La corriente rms es

$$\begin{aligned} I_{\text{rms}} &= \sqrt{\frac{I_p^2}{2}} = 0.707I_p \\ V_{\text{rms}} &= \sqrt{\frac{V_p^2}{2}} = 0.707V_p \end{aligned} \quad (2.27)$$

2B.2 Reactancia en los circuitos eléctricos

Cuando aumenta o disminuye la corriente en un circuito eléctrico, la energía se requiere para modificar los campos eléctrico y magnético asociados con el flujo de carga. Por ejemplo, si en el circuito hay una bobina de alambre de cobre, es decir, un *inductor*, ésta resiste el

cambio en la corriente en tanto haya energía almacenada en su campo magnético. Cuando la corriente se invierte, la energía regresa a la fuente de ca. A medida que se completa la segunda mitad del ciclo, la energía se almacena de nuevo en un campo magnético de sentido contrario. De manera similar, un capacitor en un circuito de ca resiste los cambios de voltaje. La oposición de los inductores a los cambios de corriente y de los capacitores a los cambios de voltaje se llama *reactancia*. Como se estudiará más adelante, las reactancias en un circuito de ca introducen desfases en la señal de ca. Los dos tipos de reactancia que caracterizan a los capacitores y a los inductores son la *reactancia capacitiva* y la *reactancia inductiva*, respectivamente.

Tanto la reactancia capacitiva como la reactancia inductiva son cantidades que dependen de la frecuencia. A baja frecuencia, cuando la tasa de cambio de la corriente es baja, los efectos de la reactancia inductiva son suficientemente pequeños, por lo que se pueden pasar por alto en la mayor parte de los componentes de un circuito. Por otro lado, elementos del circuito, como los interruptores, uniones y resistores podrían mostrar reactancia inductiva cuando los cambios son rápidos. En cambio, la reactancia capacitiva es más alta a frecuencias bajas y disminuye cuando aumenta la frecuencia. Los efectos de la reactancia pueden ser indeseables, y son resultado de la capacitancia e inductancia inherentes a los componentes. En tales circunstancias se pretende reducir la reactancia al mínimo.

Con frecuencia, la capacitancia y la inductancia se introducen en forma intencional en los circuitos usando piezas llamadas *capacitores* e *inductores*. Estos dispositivos cumplen unas funciones útiles ya que transforman la ca en cd o viceversa, distinguen señales de distintas frecuencias, separan las señales de ca y cd y diferencian o integran señales.

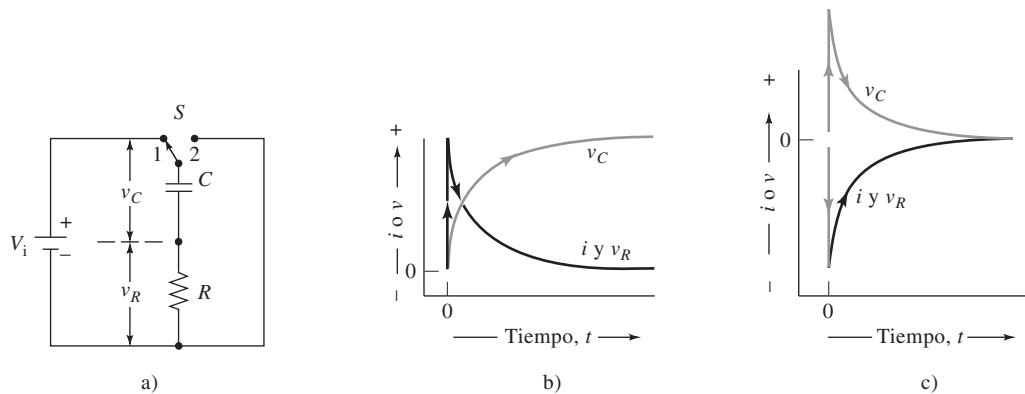


FIGURA 2-8 a) Circuito RC en serie. Respuesta temporal del circuito cuando el interruptor S está en la posición 1 (en b) y en la posición 2 (en c).

En las secciones que siguen se tratan sólo las propiedades de los capacitores porque la mayor parte de los circuitos electrónicos modernos se basan en estos componentes y ya no en los inductores.

2B.3 Capacitores y capacitancia: circuitos RC en serie

Un capacitor típico consta de un par de conductores separados por una capa delgada de una sustancia dieléctrica, es decir, por un aislante eléctrico que no contiene en esencia ninguna especie móvil, que transporte corriente o con carga. El capacitor más sencillo está constituido por dos láminas de metal separadas por una película fina de un dieléctrico, como aire, aceite, plástico, mica, papel, cerámica u óxido metálico. Con excepción de los capacitores de aire y de mica, las dos capas de lámina y el aislante suelen estar doblados o enrollados en forma compacta y sellados para evitar el deterioro que ocasiona el ambiente.

Para describir las propiedades de un capacitor, considere el *circuito RC en serie* de la figura 2.8a, el cual contiene una batería V_i , un resistor R , y un capacitor C , en serie. El capacitor se simboliza mediante un par de líneas paralelas de igual longitud.

Cuando el interruptor S se pasa de la posición 2 a la posición 1, los electrones fluyen desde el extremo negativo de la batería a través del resistor R hacia el conductor o placa inferior del capacitor. Al mismo tiempo, los electrones son repelidos de la placa superior y fluyen hacia el extremo positivo de la batería. Este movimiento constituye una corriente momentánea, la cual disminuye con rapidez a cero cuando la

diferencia de potencial se intensifica en las placas del capacitor y, con el tiempo, alcanza el voltaje de la batería V_i . Cuando la intensidad de la corriente se reduce a cero se dice que el capacitor está cargado.

Si el interruptor pasa de la posición 1 a la 2, los electrones fluyen de la placa inferior con carga negativa del capacitor por el resistor R hasta la placa superior positiva. Una vez más, este movimiento constituye una corriente que disminuye a cero cuando la diferencia de potencial entre las dos placas desaparece. En este caso se dice que el capacitor está descargado.

Una propiedad útil del capacitor es que puede almacenar carga eléctrica durante un tiempo y luego cederla cuando se necesita. Por tanto, si S en la figura 2.8a se mantiene primero en la posición 1 hasta que C se carga y luego se pasa a la posición entre 1 y 2, el capacitor conservará su carga por un periodo prolongado. Cuando S pasa a la posición 2, se produce la descarga de la misma manera que sucedería si el cambio de 1 a 2 hubiera sido rápido.

La cantidad de electricidad Q requerida para cargar por completo al capacitor depende del área de las placas, su forma, la separación entre ellas y la constante dieléctrica del material que las separa. Además, la carga Q es directamente proporcional al voltaje aplicado. Es decir,

$$Q = CV \quad (2.28)$$

Cuando V es el voltaje aplicado (en volts) y Q es la cantidad de carga (en coulombs), la constante de proporcionalidad C es la capacitancia de un capacitor en farads (F). Entonces, un capacitor de un farad almacena un coulomb de carga por cada volt aplicado. La mayor parte de los capacitores que se utilizan en electrónica tiene capacitancias en el intervalo de microfarad (10^{-6} F) a picofarad (10^{-12} F).



Clase interactiva: aprenda más acerca de **circuitos RC**.

La capacitancia es importante en los circuitos de ca, sobre todo porque un voltaje que varía con el tiempo origina una carga que también cambia con el tiempo, es decir, una corriente. Este comportamiento se puede entender al diferenciar la ecuación 2.28

$$\frac{dq}{dt} = C \frac{dv_C}{dt} \quad (2.29)$$

Por definición, la corriente i es la tasa de cambio de la carga respecto al tiempo; es decir, $dq/dt = i$. Entonces,

$$i = C \frac{dv_C}{dt} \quad (2.30)$$

Es importante hacer notar que la corriente en un capacitor es cero cuando el voltaje depende del tiempo, es decir, cuando el voltaje que pasa por el capacitor es constante. Además, observe que se requiere una corriente muy grande para ocasionar un cambio rápido en el voltaje que pasa por el capacitor. Este resultado impone una restricción importante sobre ciertos métodos electroanalíticos, como se estudia en el capítulo 25.

Tasa de cambio de la corriente en un circuito RC

La tasa a la cual un capacitor se carga o descarga es finita. Por ejemplo, observe el circuito de la figura 2.8a. De acuerdo con la ley de voltaje de Kirchhoff, se sabe que un instante después de que el interruptor se mueve a la posición 1, la suma de los voltajes en $C(v_C)$ y $R(v_R)$ deben ser iguales al voltaje de entrada V_i . Entonces,

$$V_i = v_C + v_R \quad (2.31)$$

Puesto que V_i es constante, el incremento en v_C que acompaña a la carga del capacitor debe ser compensado exactamente por una disminución en v_R .

Al sustituir las ecuaciones 2.1 y 2.28 en la ecuación 2.31 se tiene, luego del reacomodo de términos,

$$V_i = \frac{q}{C} + iR \quad (2.32)$$

Para determinar cómo cambia la corriente en un circuito RC en función del tiempo, se deriva la ecuación 2.32 respecto al tiempo. Recuerde que V_i es constante. Entonces,

$$\frac{dV_i}{dt} = 0 = \frac{dq/dt}{C} + R \frac{di}{dt} \quad (2.33)$$

Una vez más se han utilizado letras minúsculas para representar la carga y la corriente instantáneas.

Como ya se hizo notar antes, $dq/dt = i$. Si se sustituye esta expresión en la ecuación 2.33 se llega a la ecuación siguiente luego de reacomodar los términos,

$$\frac{di}{i} = -\frac{dt}{RC}$$

Al integrar la ecuación entre los límites de la corriente inicial I_{inic} e i se tiene

$$\int_{I_{\text{inic}}}^i \frac{di}{i} = -\int_0^t \frac{dt}{RC} \quad (2.34)$$

y

$$i = I_{\text{inic}} e^{-t/RC} \quad (2.35)$$

Esta ecuación demuestra que la corriente en el circuito RC disminuye en forma exponencial con el tiempo.

Tasa del cambio de voltaje en un circuito RC

Para obtener una expresión para el voltaje instantáneo en un resistor v_R , se usa la ley de Ohm para sustituir $i = v_R/R$ e $I_{\text{inic}} = V_R/R$ en la ecuación 2.35. Luego de reacomodar se tiene

$$v_R = V_i e^{-t/RC} \quad (2.36)$$

Al sustituir esta expresión en la ecuación 2.31 se obtiene otra expresión para el voltaje instantáneo en el capacitor v_C :

$$v_C = V_i(1 - e^{-t/RC}) \quad (2.37)$$

Tome en cuenta que el producto RC que aparece en las últimas tres ecuaciones tiene unidades de tiempo porque $R = v_R/i$ y $C = q/v_C$,

$$RC = \frac{v_R}{i} \times \frac{q}{v_C}$$

y

$$\frac{\text{volts}}{\text{coulombs/segundos}} \times \frac{\text{coulombs}}{\text{volt}} = \text{segundos}$$

El producto RC se llama *constante de tiempo* del circuito, y es una medida del tiempo que se requiere para que un capacitor se cargue o se descargue. Esta dependencia del tiempo de carga respecto a RC se puede entender por la forma de la ecuación 2.37. Como el cociente $-t/RC$ es el exponente de la ecuación, RC determina la razón de cambio exponencial del voltaje en el capacitor.

En el ejemplo 2.2 se ilustra la aplicación de las ecuaciones que se acaban de deducir.

EJEMPLO 2.2

Los valores para los componentes de la figura 2.8a son $V_i = 10.0 \text{ V}$, $R = 1000 \Omega$, $C = 1.00 \mu\text{F}$ es decir $1.00 \times 10^{-6} \text{ F}$. Calcule a) la constante de tiempo del circuito y b) i , v_C , y v_R después de que han transcurrido dos constantes de tiempo ($t = 2RC$).

Solución

- a) Constante de tiempo $= RC = 1000 \times 1.00 \times 10^{-6} = 1.00 \times 10^{-3} \text{ s}$ o 1.00 ms .
 b) Al sustituir la ley de Ohm, $I_{\text{inicial}} = V_i/R$, y $t = 2.00 \text{ ms}$ en la ecuación 2.35 se obtiene

$$i = \frac{V}{R} e^{-t/RC} = \frac{10.0}{1000} e^{-2.00/1.00}$$

$$= 1.35 \times 10^{-3} \text{ A} \quad \text{o} \quad 1.35 \text{ mA}$$

A partir de la ecuación 2.36 se determina que

$$v_R = 10.0 e^{-2.00/1.00} = 1.35 \text{ V}$$

Y al sustituir en la ecuación 2.31 se encuentra que

$$v_C = V_i - v_R = 10.00 - 1.35$$

$$= 10.0(1 - e^{-2.00/1.00}) = 8.65 \text{ V}$$

Relaciones de fase entre intensidad de corriente y voltaje en un circuito RC

En la figura 2.8b se muestran los cambios en i , v_R , y v_C que hay durante el ciclo de carga de un circuito RC. Estas gráficas se presentan con unidades arbitrarias porque la forma de las curvas es independiente de la constante de tiempo del circuito. Observe que v_R e i toman sus valores máximos en el instante en que el interruptor de la figura 2.8a pasa a la posición 1. En ese mismo instante, el voltaje del capacitor aumenta con rapidez a partir de cero y se aproxima a un valor constante. Para cuestiones prácticas, se considera que un capacitor está totalmente cargado después de que han transcurrido cinco constantes de tiempo ($5RC$). En este momento, la corriente ha disminuido a menos de 1% de su valor inicial ($e^{-5RC/RC} = e^{-5} = 0.0067 \approx 0.01$).

Cuando el interruptor de la figura 2.8a se mueve a la posición 2, la batería es eliminada del circuito y el capacitor se vuelve una fuente de corriente. El flujo de la carga será en dirección contraria al que había durante la carga. Entonces,

$$dq/dt = -i$$

Si estaba totalmente cargado, el voltaje inicial del capacitor es el de la batería. Es decir,

$$V_C = V_i$$

Si se usan estas ecuaciones y se procede como en la deducción anterior, se llega a lo siguiente para el ciclo de descarga

$$i = -\frac{V_C}{R} e^{-t/RC} \quad (2.38)$$

$$v_R = -V_C e^{-t/RC} \quad (2.39)$$

y como $V_i = 0 = v_C + v_R$ (ecuación 2.31)

$$v_C = V_C e^{-t/RC} \quad (2.40)$$

En la figura 2.8c se muestra cómo i , v_R , y v_C cambian con el tiempo.

Es importante observar que en cada uno de los ciclos, el cambio en el voltaje del capacitor está desfaseado y retrasado respecto a la corriente y el voltaje del resistor.

2B.4 Respuesta de los circuitos RC en serie a las entradas sinusoidales

En las secciones siguientes se estudia la respuesta de los circuitos RC en serie a una señal de voltaje de corriente alterna sinusoidal. La señal de entrada v_s se explica mediante la ecuación 2.24; es decir,

$$v_s = V_p \sin \omega t = V_p \sin 2\pi ft \quad (2.41)$$

Cambios de fase en los circuitos capacitivos

Si el interruptor y la batería del circuito RC que se muestra en la figura 2.8a se reemplazaran con una fuente de corriente alterna sinusoidal, el capacitor almacenaría y liberaría carga en forma continua. Esto ocasionaría una corriente que alternaría y cambiaría continuamente su dirección. Como consecuencia del tiempo finito que se requiere para cargar y descargar el capacitor se introduce una diferencia de fase ϕ entre la corriente y el voltaje (véanse las figuras 2.8b y c).

Se podría determinar la magnitud del desfaseamiento si se considera un capacitor en un circuito ideal que carezca de resistencia. Primero se combinan las ecuaciones 2.23 y 2.30, y después de reacomodar los términos se tiene,

$$C \frac{dv_C}{dt} = I_p \sin 2\pi ft \quad (2.42)$$

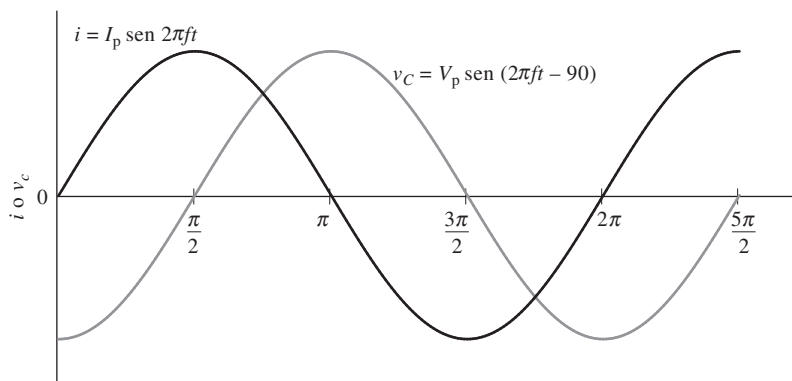


FIGURA 2.9 Señales de la corriente i y el voltaje v_C sinusoidales de un capacitor.

En el tiempo $t = 0$, $v_C = 0$. Entonces, si se reacomoda esta ecuación y se le integra entre los tiempos 0 y t , se obtiene

$$v_C = \frac{I_p}{C} \int_0^t \sin 2\pi f t dt = \frac{I_p}{2\pi f C} (-\cos 2\pi f t)$$

Pero por trigonometría, $-\cos x = \sin(x - 90)$. Por tanto, es posible escribir

$$v_C = \frac{I_p}{2\pi f C} \sin(2\pi f t - 90) \quad (2.43)$$

Al comparar las ecuaciones 2.43 y 2.26, se ve que $I_p/(2\pi f C) = V_p$; por tanto, se puede escribir la ecuación 2.43 en la forma

$$v_C = V_p \sin 2\pi f t - 90 \quad (2.44)$$

Sin embargo, la corriente instantánea se determina mediante la ecuación 2.23, es decir,

$$i = I_p \sin 2\pi f t$$

Cuando se comparan las dos últimas ecuaciones, se observa que el voltaje en un capacitor puro que resulta de una señal de entrada sinusoidal también es sinusoidal, pero se retrasa 90° respecto a la corriente (figura 2.9). Como se estudiará más adelante, este retraso es menor a 90° en un circuito real que también tenga resistencia.

Reactancia capacitiva

Al igual que un resistor, un capacitor impide el flujo de carga durante la carga, lo cual ocasiona un decremento continuo de la magnitud de la corriente. Este efecto es resultado de la capacidad limitada que posee el dispositivo para conservar la carga a cierto voltaje, como se expresa con la ecuación $Q = CV$. Al contrario de lo que sucede con el resistor, al cargar un capacitor no se crea una pérdida permanente de energía en forma de

calor. En este caso, la energía almacenada en el proceso de carga se libera al sistema durante la descarga.

La ley de Ohm se puede aplicar a los circuitos capacitivos de corriente alterna y toma la forma

$$V_p = I_p X_C \quad (2.45)$$

donde X_C es la *reactancia capacitiva*, una propiedad de un capacitor que es similar a la resistencia del resistor. Sin embargo, si se comparan las ecuaciones 2.43 y 2.44, se tiene que

$$V_p = \frac{I_p}{2\pi f C} = \frac{I_p}{\omega C}$$

Entonces, la reactancia capacitiva es

$$X_C = \frac{V_p}{I_p} = \frac{I_p}{I_p 2\pi f C} = \frac{1}{2\pi f C} = \frac{1}{\omega C} \quad (2.46)$$

donde X_C está en ohms.

En contraste con la resistencia, se debe tomar en cuenta que la reactancia capacitiva *depende de la frecuencia*, y disminuye a frecuencias más altas. A frecuencias muy altas, la reactancia capacitiva se aproxima a cero, y el capacitor actúa como un cortocircuito. A una frecuencia de cero X_C se vuelve extremadamente grande, de modo que un capacitor funciona como un circuito abierto (aislante) para una corriente directa y pasa por alto la corriente de carga inicial en forma momentánea. En el ejemplo 2.3 se muestra una hoja de cálculo⁵ para determinar la reactancia capacitiva a varias frecuencias.

⁵ Hay más información sobre las aplicaciones de las hojas de cálculo en S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

EJEMPLO 2.3

Mediante una hoja de cálculo determine la reactancia de un capacitor de $0.0200 \mu\text{F}$ a las frecuencias de 28 Hz, 280 Hz, 2.8 kHz, 28 kHz, 280 kHz y 2.8 MHz.

Solución

	A	B	C
1	Ejemplo 2.3 Reactancia capacitiva		
2	<i>C</i>	2.00E-08	
3		<i>f</i> , Hz	$X_C = 1/2\pi fC, \Omega$
4		28	2.84E+05
5		280	2.84E+04
6		2800	2.84E+03
7		28000	2.84E+02
8		280000	2.84E+01
9		2.80E+06	2.84E+00
10			
11	Documentación		
12	Celda C4 = 1/(2*PI()*B4*\$B\$2)		

Se empleó la ecuación 2.46 en las celdas C4-C9, y se observa que la reactancia varía desde 284 kΩ a 28 Hz hasta sólo 2.84 Ω a 2.8 MHz.

Impedancia en un circuito RC en serie

La impedancia Z de un circuito RC está constituida por dos elementos: la resistencia del resistor y la reactancia del capacitor. Sin embargo, debido al desfaseamiento con este último, no se pueden combinar directamente los dos, pero se pueden sumar en forma vectorial, como se ilustra en la figura 2.10. En este caso, se escoge que el ángulo de fase para R sea cero. Como ya se vio, el ángulo de fase para un elemento capacitivo puro es de -90° . Por consiguiente, el vector X_C se traza en ángulo recto y se prolonga hacia abajo desde el vector R . De acuerdo con el teorema de Pitágoras, la cantidad Z , llamada *impedancia*, está dada por

$$Z = \sqrt{R^2 + X_C^2} \quad (2.47)$$

El ángulo de fase es

$$\phi = \arctan \frac{X_C}{R} \quad (2.48)$$

Para demostrar que la impedancia y el ángulo de fase dependen de la frecuencia, se sustituye la ecuación 2.46 en la 2.47 y la 2.48, y así se tiene

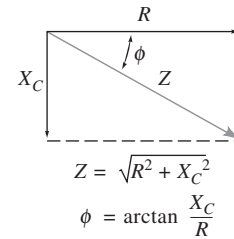


FIGURA 2.10 Diagrama vectorial para un circuito RC en serie.

$$Z = \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC}\right)^2} \quad (2.49)$$

y

$$\phi = \arctan \frac{1}{2\pi fRC} \quad (2.50)$$

Observe que el retraso del voltaje respecto a la corriente en un circuito RC , ϕ , depende de la frecuencia f , la resistencia R y la capacitancia C , del circuito.

La ley de Ohm para un circuito RC en serie se puede escribir como

$$I_p = \frac{V_p}{Z} = \frac{V_p}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC}\right)^2}} \quad (2.51)$$

o bien,

$$V_p = I_p Z = I_p \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC}\right)^2}$$

En el ejemplo 2.4 se muestra el cálculo⁶ de la impedancia de un circuito RC en serie.

EJEMPLO 2.4

Una fuente sinusoidal de ca con un voltaje máximo de 20.0 V se conectó en serie con un resistor de 15 kΩ y un capacitor de $0.0080 \mu\text{F}$. Mediante una hoja de cálculo determine la corriente máxima, el ángulo de fase y la caída de voltaje en cada uno de los componentes para las frecuencias de 75 Hz, 750 Hz, 7.5 kHz y 75 kHz.

⁶Véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

Solución

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Ejemplo 2.4 Cálculo de la impedancia								
2	R	1.5E+04	V_p	20.0					
3	C	8.0E-09							
4		f, Hz	X_C, Ω	Z, Ω	$\phi \text{ rad}$	$\phi \text{ grados}$	I_p, A	$(V_p)_R, \text{V}$	$(V_p)_C, \text{V}$
5		75	2.7E+05	2.7E+05	1.5	87	7.5E-05	1.1	20.0
6		750	2.7E+04	3.0E+04	1.1	61	6.6E-04	9.8	17.4
7		7.5E+03	2.7E+03	1.5E+04	0.2	10	1.3E-03	19.7	3.4
8		7.5E+04	2.7E+02	1.5E+04	0.0	1	1.3E-03	20.0	0.354
9									
10	Documentación de la hoja de cálculo								
11	Celda C5=1/(2*PI()*B5*\$B\$3)			Celda G5=\$D\$2/D5					
12	Celda D5=RAIZ(\$B\$2^2+C5^2)			Celda H5=\$D\$2*\$B\$2/D5					
13	Celda E5=ATAN(C5/\$B\$2)			Celda I5=\$D\$2*C5/D5					
14	Celda F5=GRADOS(E5)								

Observe que en las celdas C5-C8 se calculó la reactancia capacitiva a partir de la ecuación 2.46 como se hizo en el ejemplo 2.3. En las celdas D5-D8 se determinó la impedancia del circuito con la ecuación 2.49. En las celdas E5-E8 se aplicó la ecuación 2.48 para obtener el ángulo de fase. Observe que Excel calcula el arco tangente en radianes. En las celdas F5-F8 se convirtió el ángulo de fase en grados mediante la función de Excel GRADOS. En las celdas G5-G8 se determinó la intensidad de la corriente máxima con la ecuación 2.51. Las caídas de voltaje en el resistor y el capacitor se obtienen mediante las ecuaciones del divisor de voltaje

$$(V_p)_R = V_p \left(\frac{R}{Z} \right) \quad \text{y} \quad (V_p)_C = V_p \left(\frac{X_C}{Z} \right).$$

Diversas propiedades importantes de un circuito RC en serie se ilustran con los resultados que se obtuvieron en el ejemplo 2.4. Primero, la suma de los voltajes máximos del resistor y del capacitor no son iguales al voltaje máximo de la fuente. Por ejemplo, a una frecuencia menor, la suma es 21.1 V en comparación con 20.0 V de la fuente. Esta anomalía aparente se entiende cuando se toma conciencia de que el voltaje máximo se presenta en el resistor antes que en el capacitor debido al retraso del voltaje en este último. No obstante, en cualquier momento, la suma de los voltajes instantáneos en los dos elementos es igual al voltaje instantáneo de la fuente.

Un segundo punto importante que muestran los datos del ejemplo 2.4 es que la reactancia del capacitor es tres órdenes de magnitud mayor a 75 Hz que a la frecuencia más alta. Como resultado, la impedancia en las dos frecuencias más altas se debe casi por entero al

resistor, y la corriente es significativamente más grande. Junto con la reactancia reducida a frecuencias más altas están los voltajes mucho más pequeños del capacitor en comparación con los que hay a frecuencias más bajas.

Para finalizar, la magnitud del retraso de voltaje en el capacitor es interesante. En la frecuencia más baja, este retraso es de casi 87° , pero en la frecuencia más alta es sólo alrededor de 1° .

2B.5 Filtros basados en circuitos RC

A menudo, los circuitos RC en serie se usan como filtros para atenuar señales de alta frecuencia mientras pasan por el circuito los componentes de baja frecuencia (filtro pasabajas), o bien, también pueden reducir los componentes de baja frecuencia mientras pasan por el circuito las frecuencias altas (filtro pasaaltas). En la figura 2.11 se muestra cómo acomodar un circuito RC en serie para tener un filtro pasaaltas y uno pasabajas. En cada caso, la entrada y la salida se indican como los voltajes $(V_p)_i$ y $(V_p)_o$.

Filtros pasaaltas

Para usar un circuito RC en serie como un filtro pasaaltas, el voltaje de salida se toma en el resistor R (véase figura 2.11a). En este circuito la corriente pico se puede determinar sustituyendo en la ecuación 2.51. Por tanto,

$$I_p = \frac{(V_p)_i}{Z} = \frac{(V_p)_i}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC} \right)^2}} \quad (2.52)$$

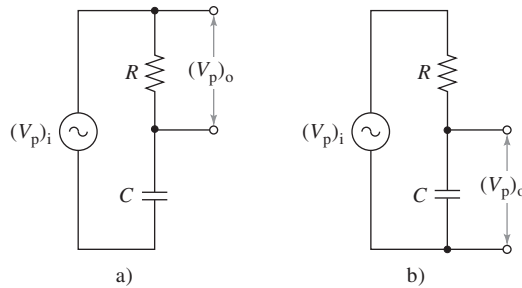


FIGURA 2.11 Circuitos filtro: a) filtro pasaaltas y b) filtro pasabajas.

Como el voltaje en el resistor está en fase con la corriente,

$$I_p = \frac{(V_p)_o}{R}$$

La razón entre el voltaje máximo de salida y el voltaje máximo de entrada se obtiene dividiendo la ecuación anterior entre la 2.52 y reacomodando los términos. Por consiguiente,

$$\frac{(V_p)_o}{(V_p)_i} = \frac{R}{Z} = \frac{R}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC}\right)^2}} \quad (2.53)$$

En la figura 2.12a se muestra una gráfica de esta razón como una función de la frecuencia, la curva A para un filtro pasaaltas típico. Observe que casi todas las frecuencias por abajo de 20 Hz han sido eliminadas de la señal de entrada.

Filtros pasabajas

En el caso del filtro pasabajas que se ilustra en la figura 2.11b, es posible escribir

$$(V_p)_o = I_p X_C$$

Al sustituir la anterior en la ecuación 2.46 y después de reacomodar los términos se tiene

$$I_p = 2\pi fC(V_p)_o$$

Al sustituir la ecuación 2.52 y reacomodar se llega a

$$\frac{(V_p)_o}{(V_p)_i} = \frac{X_C}{Z} = \frac{1/2\pi fC}{\sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi fC}\right)^2}} \quad (2.54)$$

En la curva B de la figura 2-12a se muestra la respuesta de frecuencia de un filtro pasabajas característico. Los datos de la gráfica se obtuvieron mediante la ecuación 2.54. En este caso, los componentes directos y de baja frecuencia de la señal de entrada se transfieren a la salida del circuito, pero se eliminan con gran eficacia los componentes de alta frecuencia.



Simulación: aprenda más acerca de los **filtros RC**.

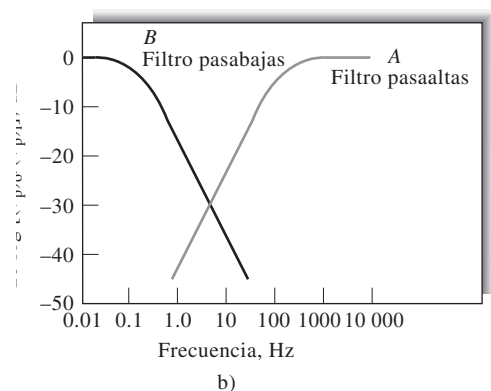
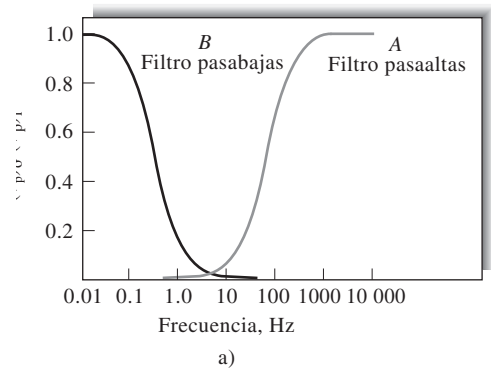


FIGURA 2.12 a) Respuesta de frecuencia de los filtros pasaaltas y pasabajas. b) Diagrama de Bode para filtros pasaaltas y pasabajas. En el caso del filtro pasaaltas, $R = 10 \text{ k}\Omega$ y $C = 0.1 \text{ }\mu\text{F}$. En el caso del filtro pasabajas, $R = 1 \text{ M}\Omega$ y $C = 1 \text{ }\mu\text{F}$.

En la figura 2.12b se ilustran los *diagramas* o *gráficas de Bode*, para los dos filtros que se acaban de describir. Las gráficas de Bode se utilizan mucho en las publicaciones sobre electrónica para mostrar cómo dependen de la frecuencia las relaciones de entrada-salida de los circuitos, amplificadores y filtros. La cantidad $20 \log[(V_p)_o/(V_p)_i]$ da la ganancia o atenuación de un amplificador o de un filtro en *decibels*, dB. Entonces, si $[(V_p)_o/(V_p)_i] = 10$, la ganancia es de 20 dB. Si $[(V_p)_o/(V_p)_i] = -10$, la atenuación es de 20 dB.

Los filtros pasabajas y pasaaltas son muy importantes en el diseño de los circuitos electrónicos.

2B.6 La respuesta de los circuitos RC a la entrada de pulsos

Cuando se aplica un pulso de entrada a un circuito RC los voltajes en el capacitor y en el resistor adquieren

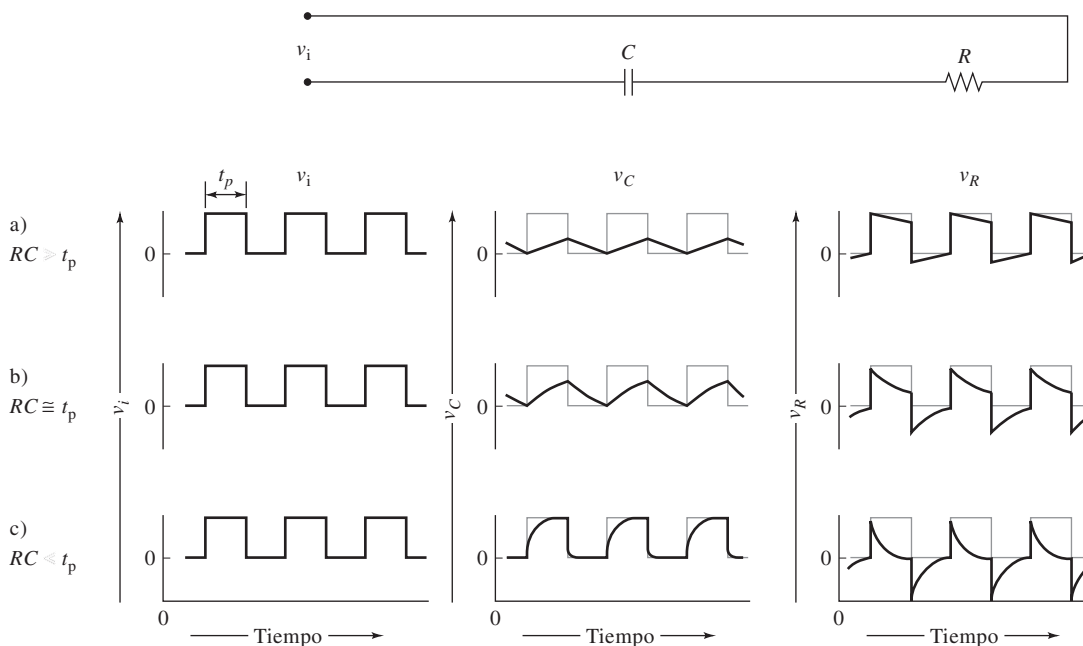


FIGURA 2.13 Señales de salida v_R y v_C para la señal de entrada del pulso v_i : a) constante de tiempo $\gg$ ancho del pulso t_p ; b) constante de tiempo $= t_p$; c) constante de tiempo $\ll t_p$.

varias formas, lo cual depende de la relación entre la duración o anchura del pulso y la constante de tiempo del circuito. Estos efectos se ilustran en la figura 2.13, donde la entrada es una onda cuadrada con una duración de pulso de t_p segundos. La segunda columna muestra la variación en el voltaje del capacitor en función del tiempo, y la tercera columna ilustra el cambio en el voltaje del resistor en los mismos tiempos. En el conjunto superior de gráficas (figura 2.13a), la constante de tiempo del circuito es mucho más grande que el ancho del pulso de entrada. En estas circunstancias, el capacitor se carga sólo en parte durante cada pulso. El capacitor se descarga luego a medida que el voltaje de entrada regresa a cero, y el resultado es una salida en forma de dientes de sierra. En estas condiciones, el voltaje en el resistor aumenta en forma instantánea a un valor máximo y luego disminuye en forma casi lineal durante la vida del pulso.

El grupo de curvas de la parte inferior (figura 2.13c) ilustra las dos salidas cuando la constante de tiempo del circuito es mucho más corta que el ancho del pulso. En este caso, la carga del capacitor sube con rapidez y se aproxima a toda la carga cerca del final del pulso. Por consiguiente, el voltaje en el resistor baja rápidamente a cero luego de un aumento inicial. Cuando v_i llega a cero, el capacitor se descarga en forma inmedia-

ta; la salida en el resistor llega a un máximo en la dirección negativa y luego se aproxima con rapidez a cero.

Estas ondas de salida de diversas formas tienen aplicación en los circuitos electrónicos. La salida de voltaje de picos escarpados que se muestra en la figura 2.13c es muy importante en los circuitos temporizadores y de desconexión automática.

2B.7 Medición de corriente alterna, voltaje e impedancia

La medición de la corriente alterna, el voltaje y la impedancia se pueden efectuar por medio de muchos multímetros digitales. Éstos son instrumentos complejos que permiten medir voltajes y corrientes de ca y cd, así como resistencias e impedancias de varios órdenes de magnitud. Como se ilustra en la figura 2.14, la parte principal del multímetro digital es el voltímetro digital de cd que se analizó en la sección 2A.3. En este tipo de medidor se utilizan circuitos similares a los que se muestran en la figura 2.4. En el caso de las medidas de ca, las salidas desde los diversos circuitos convertidores de entrada se pasan por un convertidor ca en cd antes de ser digitalizados y desplegados.

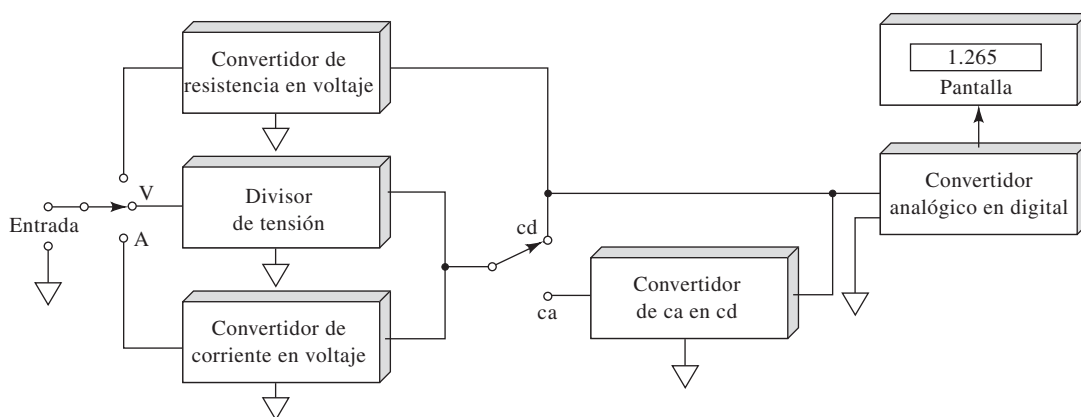


FIGURA 2.14 Diagrama de bloques de un multímetro digital. (Tomado de H. V. Malmstadt, C. G. Enke, y S. R. Crouch, *Electronics and Instrumentation for Scientists*, Menlo Park, CA: Benjamin-Cummings, 1981, con autorización).

2C SEMICONDUCTORES Y DISPOSITIVOS CON SEMICONDUCTORES

En general, los circuitos electrónicos traen incorporados uno o más dispositivos no lineales, como los transistores, diodos semiconductores y tubos al vacío o llenos de gas.⁷ A diferencia de los componentes de los circuitos, como resistores, capacitores e inductores, los voltajes o las corrientes de entrada y de salida de los dispositivos no lineales no son linealmente proporcionales entre sí. Por consiguiente, se puede hacer que los componentes no lineales cambien una señal eléctrica de ca en cd (*rectificación*) o viceversa, que amplifiquen o atenúen un voltaje o una corriente (*modulación de la amplitud*) o que modifiquen la frecuencia de una señal ca (*modulación de la frecuencia*).

Durante mucho tiempo, el tubo o válvula de vacío fue el dispositivo no lineal que más se usó en los circuitos electrónicos. En la década de los años cincuenta del siglo xx, los tubos, también llamados bulbos, fueron desplazados del todo por los *diodos basados en semiconductores* y por los *transistores*, los cuales tienen las ventajas del bajo costo, consumo reducido de energía, poca generación de calor, larga vida y hacían que los aparatos tuvieran menor tamaño. Sin embargo, la

época de los transistores fue muy corta. Ahora, la electrónica se apoya en los *circuitos integrados*, los cuales llegan a contener un millón de transistores, resistores, capacitores y conductores en un solo *chip* semiconductor pequeñísimo. Los circuitos integrados facilitan a los científicos y a los ingenieros el diseño y la construcción de instrumentos complejos, armados con sólo sus propiedades funcionales y sus características de entrada y salida y sin tener el conocimiento minucioso de los circuitos electrónicos internos de los microprocesadores.

En esta sección se estudian algunos de los componentes más comunes que constituyen los circuitos electrónicos. Luego se tratan con detalle unos pocos dispositivos que son elementos importantes de la mayoría de los instrumentos electrónicos.

Un semiconductor es un material cristalino con una conductividad que está entre la de un conductor y la de un aislante. Hay muchos tipos de materiales semiconductores, como el silicio y el germanio, compuestos intermetálicos, como el carburo de silicio y el arseniuro de galio, y una variedad de compuestos orgánicos. Dos materiales semiconductores que han tenido gran aceptación para los dispositivos electrónicos son el silicio cristalino y el germanio. En esta sección el estudio se limita a estas dos sustancias.

2C.1 Propiedades de los semiconductores de silicio y germanio

El silicio y el germanio pertenecen a los elementos del grupo IV de la tabla periódica, por lo que tienen cuatro electrones de valencia disponibles para formar enlaces. En un cristal de silicio, cada uno de los elec-

⁷ Si desea mayor información acerca de los circuitos electrónicos modernos y sus componentes, refiérase a H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, Washington, DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3ª. ed., Philadelphia: Saunders College Publishing, 1994; J. J. Brophy, *Basic Electronics for Scientists*, 5ª. ed., Nueva York: McGraw-Hill, 1990; P. Horowitz y W. Hill, *The Art of Electronics*, 2ª. ed., Nueva York: Cambridge University Press, 1989.

trones está combinado con un electrón de otro átomo de silicio para formar un enlace covalente. Por esa razón no hay electrones libres, en principio, en el silicio cristalino y se espera que el material sea un aislante. Sin embargo, a temperatura ambiente hay suficiente agitación térmica para hacer que un electrón se libere ocasionalmente del enlace y quede libre para desplazarse por toda la red cristalina y, por tanto, para conducir electricidad. Esta excitación térmica de un electrón deja una región con carga positiva, denominada *hueco*, asociada con el átomo de silicio. Este hueco, al igual que el electrón, es móvil, por lo que también contribuye a la conductancia eléctrica del cristal. El mecanismo del movimiento del hueco es por etapas; un electrón que estaba enlazado salta desde un átomo de la vecindad a la región donde falta un electrón y deja un hueco positivo. Por tanto, en la conducción de un semiconductor hay movimiento de electrones excitados térmicamente en una dirección y de huecos en otra.

La conductividad de un cristal de silicio o de germanio se puede intensificar mediante el *dopaje*, que es un proceso mediante el cual se introduce una pequeñísima cantidad controlada de una impureza, casi siempre por difusión, en el cristal de germanio o de silicio caliente. Por lo regular, el semiconductor de silicio o de germanio se dopa con un elemento del grupo V, como el arsénico o el antimonio, o bien, con un elemento del grupo III, como el indio o el galio. Cuando un átomo de un elemento del grupo V sustituye a un átomo de silicio de la rejilla cristalina, se introduce un electrón sin enlace en la estructura, el cual sólo requiere una pequeña cantidad de energía térmica para liberarse y colaborar en la conducción. Tenga en cuenta que el ion positivo resultante del grupo V no proporciona un hueco *móvil* porque los electrones tienen poca tendencia a pasar desde un enlace covalente de silicio a esta posición sin enlace. Un semiconductor que ha sido dopado para que contenga electrones sin enlace se llama tipo negativo o *tipo n* porque los electrones con carga negativa son los *portadores mayoritarios* de carga. Los huecos siguen existiendo en el cristal no dopado, y se asocian con los átomos de silicio, pero son pocos en comparación con la cantidad de electrones. Por tanto, los huecos representan los *portadores minoritarios* en un semiconductor tipo *n*.

Un semiconductor tipo positivo o *tipo p* se forma cuando el silicio o el germanio son dopados con un elemento del grupo III, el cual contiene sólo tres electrones de valencia. En este caso, los huecos se introducen cuando los electrones de los átomos adyacentes de silicio saltan a los orbitales vacíos del átomo de la impureza. Note que este proceso imparte una carga

negativa a los átomos del grupo III. El movimiento de los huecos de un átomo de silicio a otro átomo de silicio, como se explicó ya, es una corriente en la cual la mayoría de los portadores lleva carga positiva. Puesto que los huecos son menos móviles que los electrones libres, la conductividad de un semiconductor tipo *p* es inherentemente menor que la de uno tipo *n*.

2C.2 Diodos semiconductores

Un *diodo* es un dispositivo no lineal cuya conductancia es mayor en una dirección que en la otra. Los diodos útiles se fabrican formando regiones adyacentes tipo *n* y tipo *p* dentro de un solo cristal de germanio o silicio. La interfase entre estas regiones se llama *unión pn*.

Propiedades de la unión pn

En la figura 2.15 se ilustra la sección transversal de una unión *pn* la cual se forma al difundir un exceso de una impureza tipo *p*, como indio, en un diminuto chip de silicio que ha sido dopado con una impureza tipo *n*, como el antimonio. Una unión de este tipo permite que los huecos se desplacen desde la región *p* hacia la región *n* y que los electrones se muevan en la dirección contraria. Cuando los electrones y los huecos se difunden en direcciones opuestas, se forma una región que carece de portadores de cargas móviles y cuya resistencia es muy alta. Esta región, conocida como *zona de agotamiento*, se ilustra en la figura 2.15d. Puesto que existe una separación de cargas en la región agotada, se forma una diferencia de potencial a lo largo de ella, lo cual ocasiona la migración de huecos y electrones en la dirección contraria. La corriente resultante de la difusión de huecos y electrones se equilibra con la corriente generada por la migración de los portadores en el campo eléctrico, por lo que no hay corriente neta. La magnitud de la diferencia de potencial en la región agotada depende de la composición de los materiales utilizados en la unión *pn*. En el caso de los diodos de silicio, la diferencia de potencial es alrededor de 0.6 V y en los de germanio es de casi 0.3 V. Cuando se aplica un voltaje positivo en una unión *pn* hay poca resistencia al paso de la corriente en la dirección del material tipo *p* hacia el material tipo *n*. Por otro lado, la unión *pn* ofrece alta resistencia al flujo de huecos en la dirección contraria y, por tanto, es un *rectificador de corriente*.

En la figura 2.15b se muestra el símbolo que se utiliza para un diodo. La flecha señala la dirección en que la resistencia al paso de las corrientes positivas es baja. Alguien podría imaginar que la parte triangular del símbolo del diodo señala la dirección de la corriente en un diodo conductor.

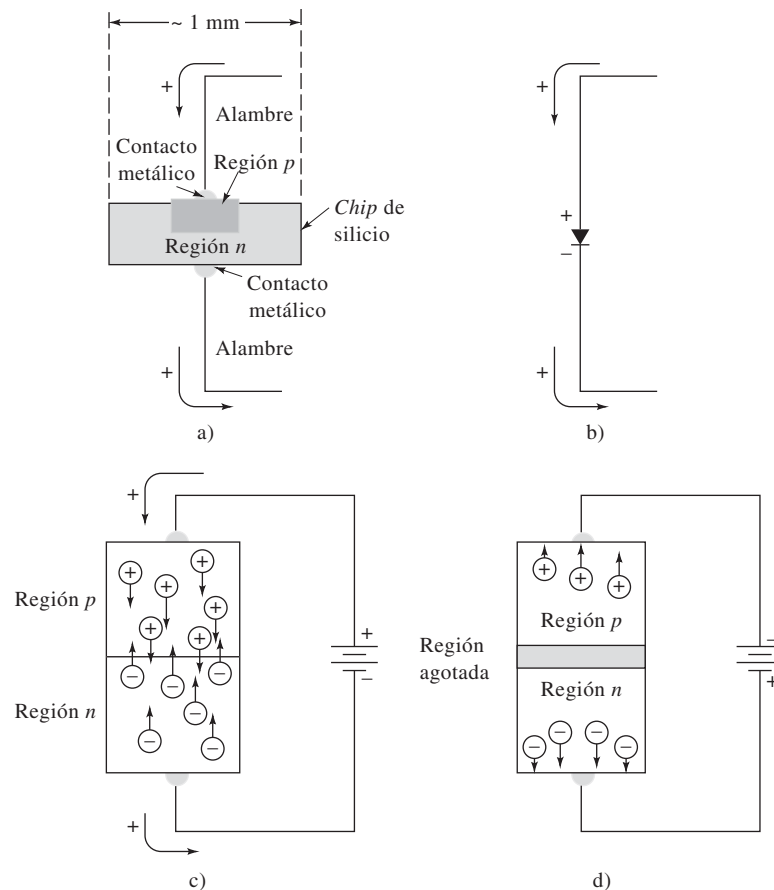


FIGURA 2.15 Diodo de unión *pn*. a) Aspecto físico de un tipo formado por difusión de una impureza tipo *p* en un semiconductor tipo *n*, b) Símbolo para el diodo, c) Corriente en la polarización directa, d) Resistencia a la corriente en polarización inversa.

En la figura 2.15c se muestra el mecanismo de conducción de la carga cuando la región *p* se vuelve positiva respecto a la región *n* a causa de la aplicación de un voltaje. Este proceso recibe el nombre de *polarización directa*. En este caso, los huecos de la región *p* y el exceso de electrones en la región *n*, que son los portadores mayoritarios en ambas regiones, se mueven bajo la influencia del campo eléctrico hacia la unión, donde se combinan y se anulan entre sí. La terminal negativa de la batería introduce nuevos electrones en la región *n*, la cual puede continuar entonces con el proceso de conducción; la terminal positiva, en cambio, extrae electrones de la región *p*, con lo que se forman nuevos huecos que están libres para migrar hacia la unión *pn*.

Cuando el diodo está *inversamente polarizado*, como es el caso de la figura 2.15d, los portadores mayoritarios de cada región deambulan lejos de la unión para que se forme la zona de agotamiento, la cual contiene

pocas cargas. Sólo la baja concentración de los portadores minoritarios presentes en cada región se mueven hacia la unión y crean una corriente. Entonces, la conductancia en la polarización inversa es por lo regular de 10^{-6} a 10^{-8} de la conductancia en la polarización directa.

Curvas corriente-voltaje para diodos semiconductores

En la figura 2.16 se muestra el comportamiento de un diodo semiconductor característico en polarización directa e inversa. En el caso de la polarización directa, la intensidad de la corriente aumenta casi en forma exponencial respecto al voltaje. Para algunos diodos de potencia la polarización directa da como resultado corrientes de varios amperes. En el caso de un diodo de germanio en condiciones de polarización inversa, se observa una corriente del orden de decenas de amperes a microamperes para un amplio intervalo de voltajes. La intensidad de corriente en la polarización inversa para el caso de un diodo de silicio es del orden de decenas



Simulación: aprenda más acerca de **diodos**.

de amperes a nanoamperes. En esta región de la curva característica del diodo la conducción la llevan a cabo los portadores minoritarios. Por lo común esta corriente inversa tiene pocos efectos. Sin embargo, a medida que el voltaje de polarización inversa aumenta, se llega al *voltaje de ruptura*, en el cual la corriente inversa al-

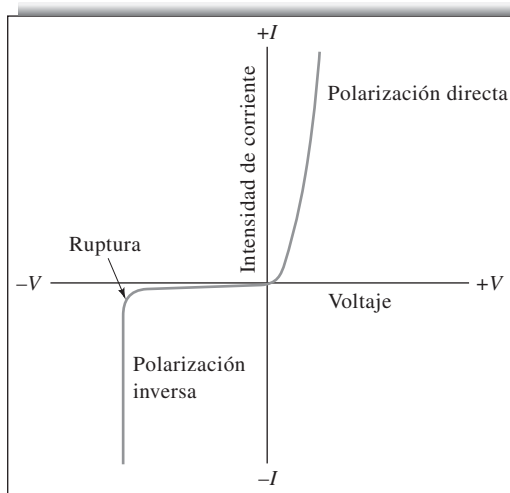


FIGURA 2.16 Características corriente-voltaje de un diodo semiconductor. Por cuestiones de claridad, se muestra muy exagerada la baja corriente en la polarización inversa antes de la ruptura.

canza en forma repentina valores muy altos. En este caso, los huecos y los electrones, formados por la ruptura de los enlaces covalentes del semiconductor, son acelerados por el campo y producen más electrones y huecos al chocar entre sí. Además, el efecto túnel mecánico-cuántico de los electrones a través de la capa de la unión contribuye a lograr una conductancia mejorada. Si esta conducción es suficientemente grande, calienta y daña al diodo. El voltaje al cual el incremento repentino se presenta en la polarización inversa se denomina *voltaje Zener de ruptura*. Mediante el control del espesor y el tipo de la capa de la unión, se puede tener una tensión Zener de ruptura que varíe desde unos cuantos hasta varios cientos de volts. Como bien se puede ver, este fenómeno tiene importantes aplicaciones en la práctica, en las fuentes de voltaje de precisión.

2C.3 Transistores

El transistor es el dispositivo semiconductor elemental de amplificación y conmutación. Este dispositivo efectúa la misma función que el tubo amplificador de vacío en el pasado, es decir, proporciona una señal de salida cuya magnitud es casi siempre mucho mayor que la de la señal de entrada. Hay muchos tipos de transistores. En esta sección se describen dos de los que más se utilizan, a saber, el transistor de unión bipolar y el transistor de efecto de campo.

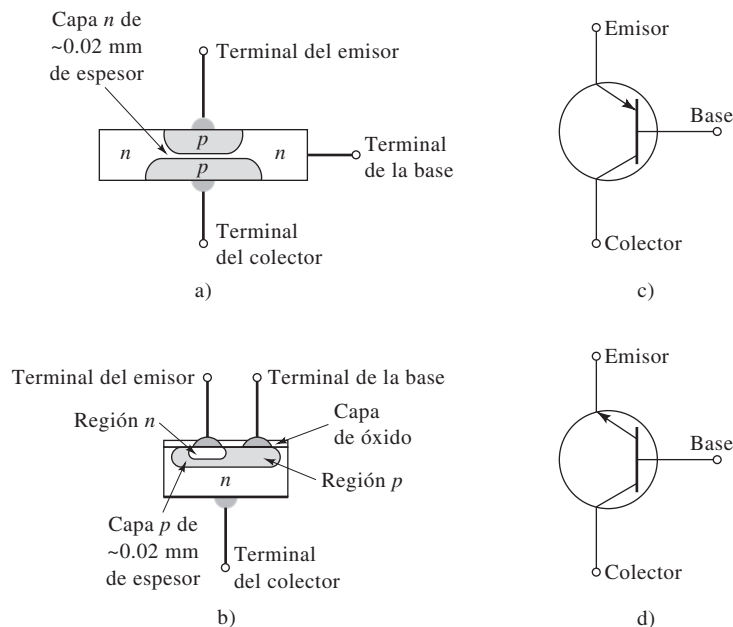


FIGURA 2.17 Dos tipos de transistores bipolares. Se muestran los detalles de construcción para a) un transistor de unión bipolar por aleación *pnp* y b) para un transistor plano *nnp*. Los símbolos para los transistores bipolares *pnp* y *nnp* se muestran en c) y d), respectivamente. Observe que los transistores de unión por aleación también se fabrican como transistores tipo *nnp* y los transistores planos como *pnp*.

Transistores de unión bipolar

Se podría considerar que estos transistores son dos diodos semiconductores adosados. El transistor *pnp* consta de una delgada región tipo *n* entre dos regiones tipo *p*. El tipo *nnp* posee una estructura inversa. Estos transistores se construyen en varias formas, dos de las cuales se ilustran en la figura 2.17. Los símbolos de los tipos de transistores *pnp* y *nnp* se muestran a la derecha en la misma figura. En estos símbolos, la flecha en la terminal del emisor indica la dirección de la corriente positiva. Por tanto, en el tipo *pnp* hay una corriente positiva desde el emisor hacia la base; lo inverso es válido para el tipo *nnp*.

Características eléctricas de un transistor de unión bipolar

El siguiente análisis se centra en el comportamiento del transistor bipolar tipo *pnp*. Es necesario tener en cuenta que el tipo *nnp* funciona en forma similar, excepto en lo que se refiere a la dirección de la corriente, que es opuesta a la del transistor *pnp*.

Cuando un transistor se destina a un dispositivo electrónico, una de sus terminales se conecta a la entrada y la segunda funciona como salida. La tercera terminal se conecta a ambas, por lo que se denomina terminal *común*. Por tanto, son posibles tres configuraciones, a saber: un emisor común, un colector común y una base común. La configuración del emisor común es la que tiene mayor aplicación en la amplificación, y es la única que se estudiará con detalle.

La figura 2.18 muestra la amplificación de la corriente que se produce cuando se usa un transistor *pnp* en el modo de emisor común. En este caso, se introduce una pequeña corriente I_B , la cual se amplificará, en el circuito base-emisor. Dicha corriente está marcada como la corriente base en la figura. Como se demostrará más adelante, también se puede amplificar una corriente ca sobreponiéndola en I_B . Luego de amplificarla, el componente *cd* se puede eliminar mediante un filtro.

El circuito emisor-colector es alimentado mediante un suministro de corriente de *cd*, como el que se describió en la sección 2D. Por lo regular, el suministro de la potencia proporciona un voltaje de entre 9 y 30 V.

Obsérvese que, como lo ilustra la anchura de las flechas, la corriente del colector, o salida I_C es significativamente más grande que la corriente de entrada de la base I_B . Además, la magnitud de la corriente del colector es directamente proporcional a la corriente de entrada. Es decir,

$$I_C = \beta I_B \quad (2.55)$$

donde la constante de proporcionalidad β es la ganancia de la corriente, la cual es una medida de la amplificación de la corriente que se obtuvo. Los valores de β para transistores característicos varían de 20 a 200.

Es importante hacer notar que un transistor de unión bipolar requiere una corriente hacia la base o hacia afuera de ella para iniciar la conducción entre el emisor y el colector. Por tanto, los circuitos construidos con este tipo de transistores requieren una cantidad importante de corriente que toman de su suministro durante la operación. Más adelante se describe otro tipo de transistor, el transistor de efecto de campo, que requiere una corriente cercana a cero durante su funcionamiento.

Mecanismo de amplificación con un transistor de unión bipolar

Es necesario hacer notar que la interfase base-emisor del transistor que se ilustra en la figura 2.18 constituye una unión *pn* polarizada en forma directa cuyo comportamiento es similar al que se muestra en la figura 2.15c, en tanto que la región colector-base es una unión *np* con polarización inversa, y que es similar al circuito que se muestra en la figura 2.15d. En condiciones de polarización directa, se desarrolla una corriente significativa I_B que se genera cuando se aplica una señal de entrada de unas pocas décimas de volt (figura 2.16). En contraste, la corriente en la unión colector-base polarizada inversamente es inhibida por la migración de los portadores mayoritarios fuera de la unión, como se ilustra en la figura 2.15d.

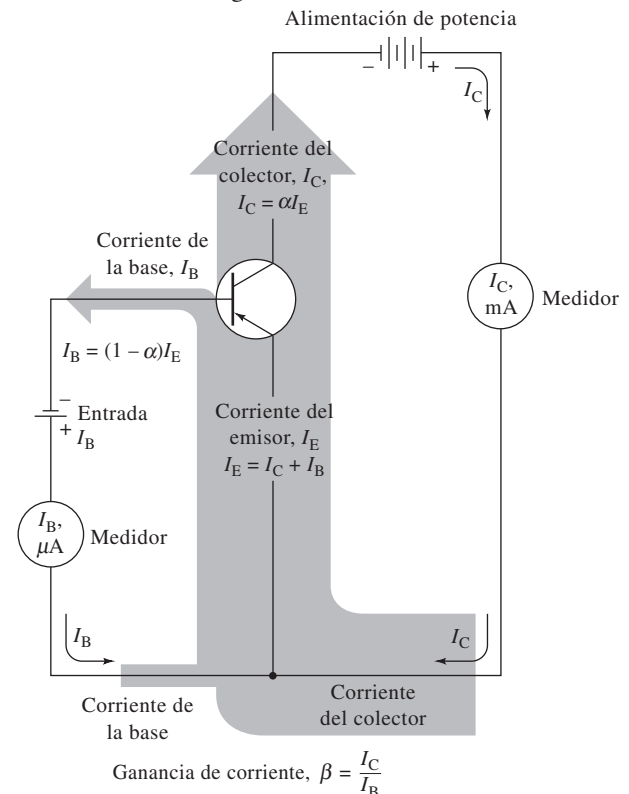


FIGURA 2.18 Corrientes en un circuito emisor común con un transistor. Casi siempre, $\alpha = 0.95$ a 0.995 y $\beta = 20$ a 200 .

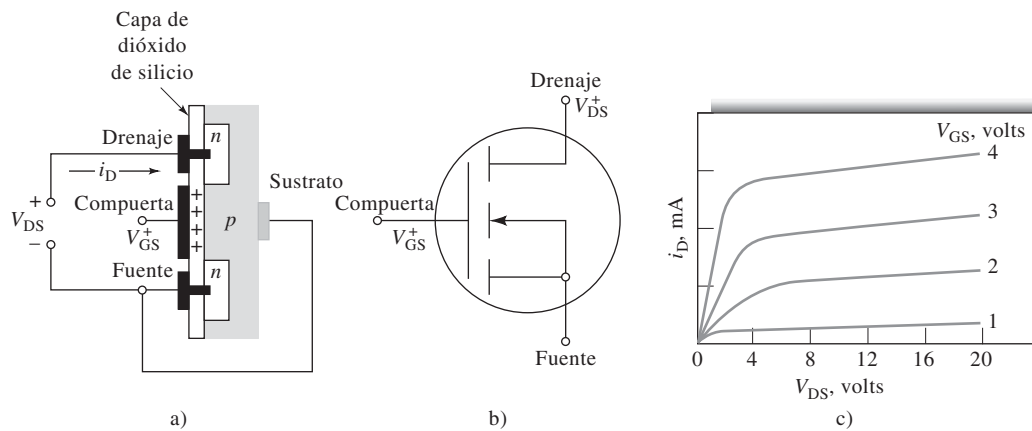


FIGURA 2.19 Un MOSFET en modo de enriquecimiento del canal n : a) estructura, b) símbolo, c) características de desempeño.

Para la fabricación de un transistor pnp la región p está deliberadamente mucho más dopada que la región n . Por consiguiente, la concentración de huecos en la región p es 100 veces mayor que la concentración de electrones móviles en la capa n . Por tanto, la fracción de la corriente transportada por los huecos es tal vez 100 veces mayor que la fracción que transportan los electrones.

En la figura 2.18 se puede ver que los huecos se forman en la unión del emisor tipo p cuando las dos fuentes de cd, a saber, la señal de entrada y la alimentación de potencia, eliminan electrones. Estos huecos se mueven entonces hacia la delgada región de la base tipo n donde algunos se combinarán con los electrones provenientes de la fuente de entrada. La corriente de la base I_B es el resultado. Sin embargo, la mayor parte de los huecos son arrastrados por la angosta capa de la base, y serán atraídos por la unión negativa del colector, donde se pueden combinar con los electrones de la alimentación. La intensidad de corriente I_C es el resultado.

La magnitud de la corriente del colector está determinada por la cantidad de huecos portadores de corriente disponibles en el emisor. Esta cantidad es un múltiplo fijo de la cantidad de electrones que suministra la corriente de entrada de la base. Por tanto, cuando la corriente de la base se duplica, también lo hace la corriente del colector. Esta relación origina la amplificación de la corriente que muestra un transistor de unión bipolar.

Transistores de efecto de campo

Se han fabricado varios tipos de transistores de efecto de campo (FET, por sus siglas en inglés), y se usan ampliamente en los circuitos integrados. Uno de éstos, el transistor de efecto de campo con compuerta aislada, se creó para satisfacer la necesidad de incrementar la

resistencia de entrada de los amplificadores. Los transistores representativos de este tipo poseen impedancias de entrada que van de 10^9 a $10^{14} \Omega$. Este tipo de transistor se conoce mejor como MOSFET, que es el acrónimo de *metal oxide semiconductor field-effect transistor* es decir, transistor de efecto de campo semiconductor con óxido metálico.

En la figura 2.19a se ilustran las características estructurales de un MOSFET de canal n . En este caso, se forman dos regiones n aisladas en un sustrato tipo p . Ambas regiones están cubiertas por una fina capa de dióxido de silicio muy aislante, la cual también puede estar revestida con una capa protectora de nitruro de silicio. Mediante un disolvente se hacen aberturas en las capas de modo que haya contacto eléctrico entre las dos regiones n . Se forman dos contactos más: uno con el sustrato y el otro con la superficie de la capa aislante. El contacto con la capa aislante se denomina *compuerta* porque el voltaje en este contacto determina la magnitud de la corriente positiva entre el drenaje y la fuente. Observe que la capa aislante del dióxido de silicio entre la terminal de la compuerta y el sustrato explica la alta impedancia de un MOSFET.

En ausencia de un voltaje aplicado en la compuerta, ninguna corriente se genera entre el drenaje y la fuente porque una de las dos uniones pn está siempre en polarización inversa sin importar el signo del voltaje aplicado V_{DS} . Los dispositivos MOSFET están diseñados para funcionar en modo de *enriquecimiento* o *agotamiento*. El primer tipo se muestra en la figura 2.19a, donde el enriquecimiento de la intensidad de la corriente se origina por la aplicación de un voltaje positivo en la compuerta. Como se muestra, este voltaje positivo induce un canal negativo en el sustrato inmediatamente abajo de la capa de dióxido de silicio que cubre el electrodo de la compuerta. La cantidad de cargas negativas aquí y, por lo tanto, la corriente, se incrementa

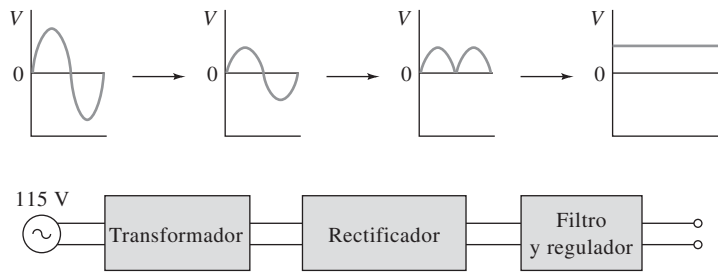


FIGURA 2.20 Diagrama en el que se muestran los componentes de una fuente de alimentación y sus efectos en el voltaje de línea de 115 V.

cuando aumenta el voltaje V_{GS} de la compuerta. La magnitud de este efecto se ilustra en la figura 2.19c. También se pueden encontrar dispositivos MOSFET de enriquecimiento del canal p , en los que las regiones p y n están al contrario de como se muestran en la figura 2.19a.

Los dispositivos MOSFET en modo de agotamiento están diseñados para conducir sin voltaje de compuerta y para transformarse en no conductores a medida que se aplica un voltaje en la compuerta. Un MOSFET de canal n de este tipo es similar, en cuanto a la construcción, al transistor que se muestra en la figura 2.19a, excepto que las dos regiones n están conectadas ahora mediante un angosto canal de semiconductor tipo n . La aplicación de un voltaje negativo en V_{DS} repele los electrones hacia afuera del canal y, entonces, disminuye la conducción por dicho canal. Es importante hacer notar que se requiere una corriente virtualmente de cero en la compuerta de un dispositivo MOSFET para iniciar la conducción entre la fuente y el drenaje. Esta pequeñísima necesidad de potencia contrasta con la alta potencia que requieren los transistores de unión bipolar. La característica del bajo consumo de potencia de los dispositivos de efecto de campo los hace ideales para los instrumentos portátiles que usan baterías.

2D SUMINISTROS DE POTENCIA Y REGULADORES

En general, los instrumentos de laboratorio requieren energía cd para que funcionen amplificadores, computadoras, transductores y otros aparatos. La fuente más adecuada de energía eléctrica es el voltaje de las líneas de 110 V ca , 60 Hz que proporcionan las compañías.⁸ Como se puede ver en la figura 2.20, las unidades que suministran la energía en los laboratorios aumen-

⁸En Estados Unidos, la tensión o voltaje de la línea de ca real varía en la mayoría de los lugares desde 105 a 125 V. Casi siempre el valor promedio es de 115 V. En Europa, la tensión de las líneas es nominalmente de 220 V y la frecuencia es de 50 Hz.

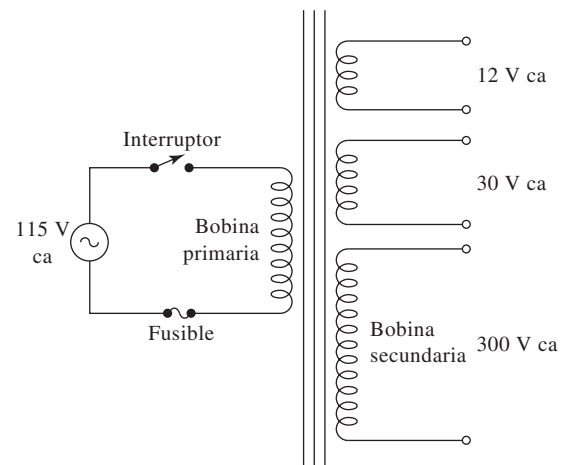


FIGURA 2.21 Esquema de un transformador de potencia típico con devanado secundario múltiple.

tan o disminuyen el voltaje del suministro doméstico, rectifican la intensidad de la corriente de modo que tenga una sola polaridad y, para finalizar, uniforman la salida para que haya un voltaje de cd casi sin variaciones. La mayor parte de las alimentaciones de energía contienen también un regulador de voltaje que conserva el voltaje de salida en un nivel constante deseado.

2D.1 Transformadores

La tensión de las líneas de energía de ca aumenta o disminuye si se instala un transformador de potencia como el que se muestra en la figura 2.21. El campo magnético variable que se forma alrededor de la *bobina primaria* o *devanado primario* de este dispositivo a partir de 110 V ca induce corrientes alternas en la *bobina secundaria* o *devanado secundario*. El voltaje V_x en cada uno es

$$V_x = 115 \times N_2/N_1$$

donde N_2 y N_1 representan el número de espiras en las bobinas secundaria y primaria, respectivamente. Las fuentes de alimentación con varias salidas, como la de la figura 2.21, se encuentran en el comercio, y se pue-

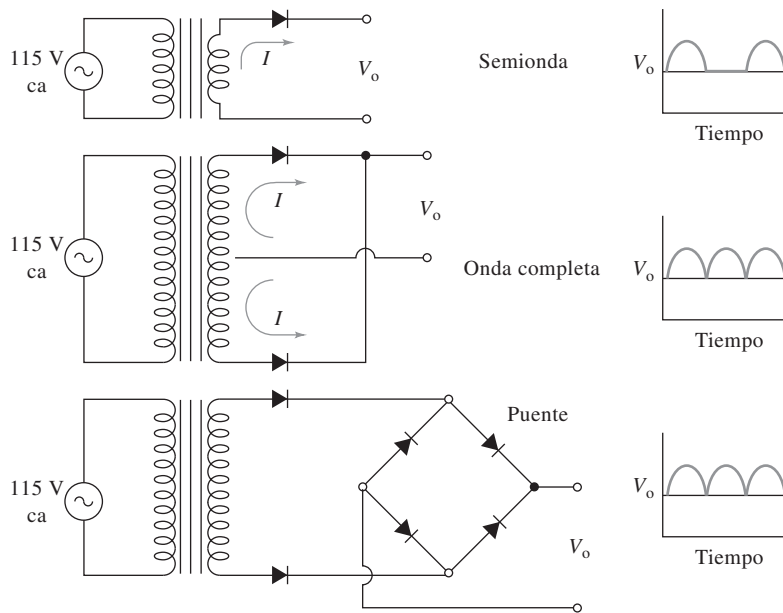


FIGURA 2.22 Tres tipos de rectificadores: de semionda, onda completa y puente.

den obtener distintas combinaciones de tensión. Por tanto, un solo transformador puede servir como una fuente de potencia para varios componentes de un instrumento que requieran tensiones diferentes.

2D.2 Rectificadores y filtros

En la figura 2.22 se pueden ver tres tipos de rectificadores y las formas de sus señales de salida. Cada uno tiene diodos semiconductores (véase la sección 2C.2) para impedir que la corriente avance en una dirección y permitir el paso en la otra. Con el fin de reducir al mínimo las variaciones de la corriente que se muestran en la figura 2.22, la salida de un rectificador por lo regular se filtra por medio de un capacitor con alta capacitancia conectado en paralelo con la carga R_L , según se ilustra en la figura 2.23. La carga y descarga del capacitor tiene el efecto de reducir las variaciones a unas pequeñas *ondulaciones*. En algunas aplicaciones, un inductor en serie y un capacitor en paralelo con la carga hacen las veces de filtro. Este tipo de filtro se conoce como *sección L*. Mediante una selección conveniente de capacitancia e inductancia, la ondulación de máximo a máximo se reduce a un valor que se mide en milivolts o menor.

2D.3 Reguladores de voltaje

Con frecuencia, los componentes de un instrumento requieren voltajes de cd que sean constantes independientemente de las fluctuaciones de la corriente o de la tensión de la línea. Los *reguladores de voltaje* sirven a este propósito. En la figura 2.24 se ilustra un regulador de voltaje sencillo que lleva un *diodo Zener* que está diseñado para funcionar en condiciones de ruptura. Observe el símbolo especial para este tipo de diodo. En la figura 2.16 se muestra que un diodo semiconductor sufre una ruptura repentina a cierta polarización inversa, después de lo cual la corriente cambia con rapidez. Por ejemplo, por debajo de las condiciones de ruptura, un cambio de corriente de 20 a 30 mA provoca un cambio en el voltaje de 0.1 V o menos. En el comercio se encuentran diodos Zener con una variedad de tensiones de ruptura específicas.

En lo que se refiere a los reguladores de voltaje, se elige un diodo Zener de tal manera que funcione siem-



Simulación: aprenda más acerca de las **fuentes de potencia**.

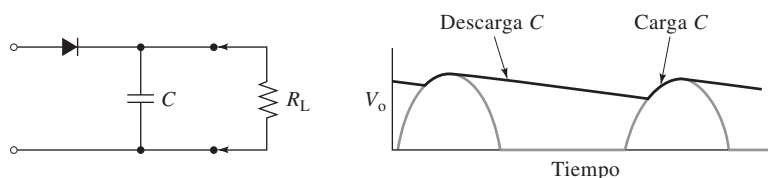


FIGURA 2.23 Filtración de la salida de un rectificador.

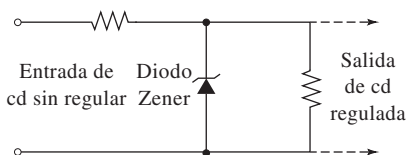


FIGURA 2.24 Regulador de voltaje estabilizado con un diodo Zener.

pre por debajo de las condiciones de ruptura; es decir, la tensión de entrada que se regulará es mayor que la tensión o voltaje de ruptura. En cuanto al regulador que se ilustra en la figura 2.24, un aumento en la tensión da como resultado un incremento en la corriente en el diodo. Debido a lo empinado de la curva de corriente-tensión en la región de ruptura (figura 2.16), la caída de voltaje en el diodo, y por lo tanto, de la carga, es virtualmente constante.

Los reguladores de voltaje modernos con circuitos integrados aprovechan las propiedades de los diodos Zener para entregar voltajes de referencia estables. Estos voltajes se utilizan junto con circuitos de retroalimentación y transistores de potencia para construir fuentes de alimentación regulada a ± 1 mV o incluso mejores. Estos reguladores tienen tres terminales: entrada, salida y circuito común. La salida original de una fuente de alimentación rectificada y filtrada se conecta al regulador de voltaje de tres terminales para producir un suministro que es estable respecto a las fluctuaciones de temperatura, y que se desactiva en forma automática cuando la intensidad de la corriente de carga excede un valor nominal máximo, que casi siempre es un amperio en la mayoría de los circuitos más usados. Los reguladores de tensión con circuitos integrados están incorporados en las fuentes de alimentación de la mayoría de los dispositivos electrónicos.

Los reguladores de este tipo tienen la desventaja de disipar una gran cantidad de energía, de tal modo que con la proliferación de las computadoras y otros aparatos electrónicos, se requieren reguladores más efectivos. La solución a esta dificultad son los *reguladores de conmutación*, los cuales proporcionan potencia a la carga sólo cuando se necesita mantener una

tensión constante. La mayoría de las fuentes de alimentación de las computadoras poseen reguladores de conmutación. Los detalles del funcionamiento de las fuentes de potencia de este tipo están fuera de los objetivos de este texto, pero sus principios se estudian en las referencias generales que se proporcionan en la sección 2C.

2E DISPOSITIVOS DE LECTURA

En esta sección se describen tres instrumentos comunes de lectura, a saber, el tubo de rayos catódicos, el registrador de laboratorio y la pantalla alfanumérica.

2E.1 Osciloscopios

El osciloscopio es uno de los más útiles y versátiles instrumentos del laboratorio que tiene incorporado un tubo de rayos catódicos como dispositivo de lectura. Se fabrican osciloscopios tanto analógicos como digitales, estos últimos se utilizan cuando se requiere procesar una señal compleja. Los osciloscopios analógicos son más sencillos que los digitales: casi siempre son portátiles, más fáciles de usar y más baratos, ya que cuestan unos cuantos cientos de dólares. En este libro sólo se describen los osciloscopios analógicos. El diagrama de bloques de la figura 2.25 muestra los componentes más importantes del instrumento y la trayectoria que sigue la señal al pasar por ellos. La pantalla real la proporciona un tubo de rayos catódicos.

Tubos de rayos catódicos

La figura 2.26 es un esquema en el que se muestra las partes principales de un tubo de rayos catódicos. En este caso, las imágenes se forman por la interacción de los electrones en un haz enfocado sobre la cubierta fosforescente en el interior de la gran superficie curva de un tubo al vacío. El haz de electrones se forma en un cátodo caliente que se mantiene a un potencial de tierra. Un acomodo de múltiples ánodos enfocadores genera un haz fino de electrones que han sido acelerados por un campo de varios miles de volts. A falta de

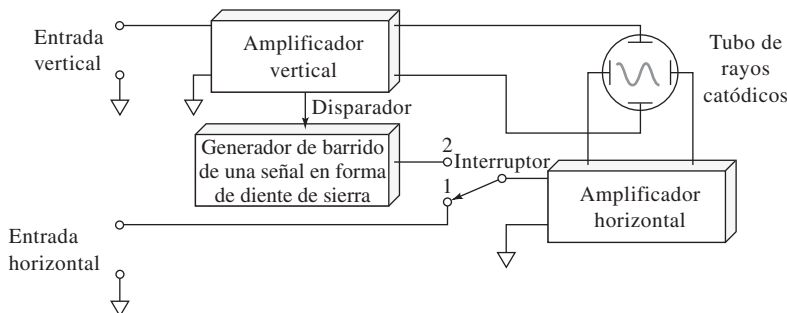


FIGURA 2.25 Partes de un osciloscopio analógico elemental.

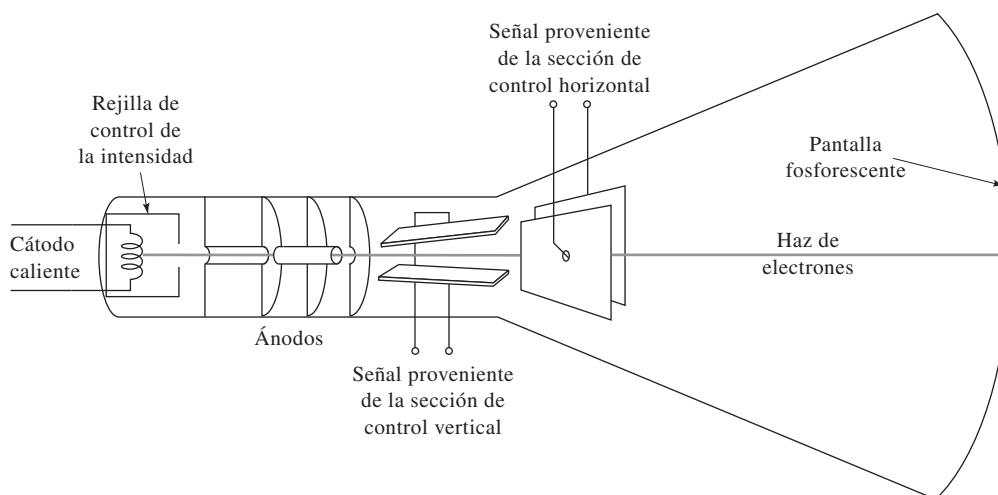


FIGURA 2.26 Diagrama de un tubo de rayos catódicos.

señales de entrada, el haz se ve como un pequeño punto brillante en el centro de la pantalla.

Placas de control vertical y horizontal. Las señales de entrada se aplican a dos conjuntos de placas, uno de los cuales desvía el haz en forma horizontal y el otro de manera vertical. Por consiguiente, es posible ver una gráfica x - y de dos señales relacionadas en la pantalla del tubo de rayos catódicos cuando el interruptor de la figura 2.25 está en la posición 1. Como la pantalla es fosforescente, el movimiento del punto parece como un trazo continuo luminoso que se desvanece después de un corto periodo.

El modo más común de operar el tubo de rayos catódicos es hacer que, en forma periódica y a una velocidad constante, el punto barra el eje horizontal del tubo mediante la aplicación de una señal de barrido en dientes de sierra a las placas de desviación horizontal. El osciloscopio funciona de esta manera cuando el interruptor de la figura 2.25 pasa a la posición 2. Cuando trabaja de este modo, el eje horizontal de la pantalla corresponde al tiempo. Al aplicar una señal periódica a las láminas verticales se obtiene la imagen de las ondas de dicha señal. Las velocidades más altas de barrido en la mayoría de los osciloscopios están entre $1 \mu\text{s}/\text{cm}$ y $1 \text{ ns}/\text{cm}$. Por lo regular, la velocidad de barrido se puede reducir en factores de 10 hasta que la velocidad esté en el orden de segundos por centímetro.

La sección del control horizontal de la mayoría de los osciloscopios se puede, si así se desea, activar mediante una señal externa en lugar de una señal interna en forma de dientes de sierra. En este modo de operación, el osciloscopio se transforma en un graficador

x - y que muestra la relación funcional entre dos señales de entrada.

Control de disparo. Para mostrar en forma continua en la pantalla una señal repetitiva, como sería una onda seno, es esencial que cada barrido inicie en un lugar idéntico sobre el perfil de la señal, por ejemplo, en un máximo, un mínimo, una intersección cero o en un cambio repentino en la señal. Por lo regular, se logra la sincronización mezclando una parte de la señal de prueba con la señal de barrido de tal manera que se produzca un pico de voltaje para cada máximo o algún múltiplo de éste, por ejemplo. Entonces, este pico sirve como disparador del barrido. Por tanto, la onda se puede observar como una imagen continua en la pantalla.

Los osciloscopios son instrumentos muy útiles en una diversidad de aplicaciones en las que se requieren imágenes y diagnósticos. Se pueden utilizar para ver el perfil de tiempo de señales provenientes de transductores, para comparar las relaciones entre formas de onda repetitivas en circuitos que procesan señales analógicas, o bien, para mostrar ruido de alta frecuencia u otras señales de interés que no pueden ser observadas mediante un multímetro digital u otro dispositivo de medición de cd . El osciloscopio es una herramienta de diagnóstico esencial en todo laboratorio que tenga instrumentos.

2E.2 Registradores

El registrador⁹ de laboratorio típico es un ejemplo de servosistema, un dispositivo nulo que compara dos señales y luego efectúa un ajuste mecánico que reduce



Simulación: aprenda más acerca de los **tubos de rayos catódicos**.

⁹ Si desea más información acerca de registradores de laboratorio, refiérase a G. W. Ewing, *J. Chem. Educ.*, **1976**, 53, pp. A361, A407.

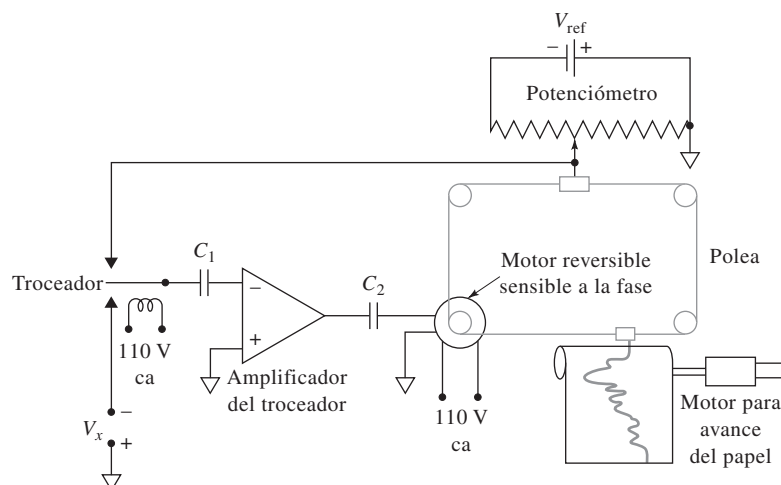


FIGURA 2.27 Esquema de un potenciómetro de registro autocompensado.

su diferencia a cero, es decir, un servosistema busca en forma continua la condición cero. En un tiempo, los registradores de laboratorio fueron muy comunes, pero en la actualidad casi todos han sido reemplazados por sistemas computarizados.

En el registrador cuyo esquema se ilustra en la figura 2.27, la señal que se desea registrar, V_x , se compara continuamente con la salida de un potenciómetro alimentado por una señal de referencia, V_{ref} . En muchos registradores, la señal de referencia es generada por un circuito con voltaje de referencia con un diodo Zener compensado por temperatura, el cual proporciona un voltaje de referencia estable. Cualquier diferencia de voltaje entre la salida del potenciómetro y V_x se convierte en una señal de ca de 60 ciclos mediante un troceador electrónico. Luego, la señal resultante se amplifica lo suficiente para que active un pequeño motor eléctrico sensible a la fase que está unido (mediante el arreglo de poleas que se muestra en la figura 2.27) a una pluma registradora y al contacto deslizante del potenciómetro. La dirección de rotación del motor es tal que la diferencia de potencial entre la salida del potenciómetro y V_x se reduce a cero, lo cual hace que se detenga el motor.

Para entender el control de la dirección del motor es importante hacer notar que un motor de ca reversible consta de dos conjuntos de bobinas, uno de los cuales, el estator, está fijo, y el otro gira, el rotor. Uno de ellos, por ejemplo el rotor, está alimentado por una línea de potencia de 110 V y, por tanto, está asociado a un campo magnético que fluctúa en forma continua. Por otro lado, la salida proveniente del amplificador de ca se alimenta a las bobinas del estator. El campo magnético que se induce aquí interactúa con el campo del rotor y hace que éste gire. La dirección del movimiento depende de la *fase* de la corriente del estator res-

pecto a la del rotor. Sin embargo, la fase de la corriente del estator difiere por 180° , dependiendo de si V_x es mayor o menor que la señal de V_{ref} . Por tanto, la señal de la diferencia amplificada puede accionar el servomecanismo hasta el estado nulo desde cualquier dirección.

En la mayor parte de los registradores de laboratorio, el papel avanza a velocidad constante. Así, se obtiene una gráfica de la intensidad de la señal en función del tiempo. Puesto que la tira de papel para el registro está acomodado en un rodillo este tipo de registrador se conoce como *registrador de tira de papel*. En los *registradores x-y*, el papel está fijo: se acomoda una sola hoja de papel en un lecho plano. Un brazo que se desplaza a lo largo del eje x hace trazos en el papel. La pluma se desliza por el brazo en la dirección y . El impulsor del brazo y el impulsor de la pluma están conectados a las entradas x y y , respectivamente, lo cual permite a ambos variar en forma continua. Con frecuencia, los registradores de este tipo están equipados con dos plumas, por lo que se tiene la posibilidad de graficar en forma simultánea dos funciones en el eje y . Un ejemplo de su aplicación es la cromatografía, en la que es deseable tener una gráfica de la salida del detector en función del tiempo, así como la integral de tiempo de esta salida. Otra posibilidad es usar un registrador de doble pluma para mostrar las salidas de dos detectores distintos que estén supervisando la corriente de salida de la misma columna cromatográfica.

Un registrador característico de tira de papel tiene varias velocidades de avance para graficar, que van de 0.1 a 20 cm/min. La mayoría ofrece varios voltajes, desde una escala completa de 1 mV a varios volts. En general, la precisión de estos instrumentos es del orden de unas pocas décimas de un porcentaje de la escala completa.

Los registradores y graficadores digitales tienen ahora un amplio uso. En este caso, la pluma se puede accionar mediante un motor de etapas, el cual responde a señales de tensión digitalizadas al girar una fracción de rotación precisa por cada pulso de voltaje. A menudo, los graficadores *x-y* computarizados utilizan servomotores de cd para mover la pluma, el papel o ambos, y trazar gráficas de datos provenientes de instrumentos analíticos. Las gráficas se obtienen en la actualidad en impresoras de chorro de tinta o impresoras láser. Los programas para computadoras, como Excel, SigmaPlot y Adobe Illustrator[®] facilitan la elaboración de formatos convenientes para hacer gráficas con estas impresoras.

2E.3 Pantallas alfanuméricas

Los resultados que proporciona el equipo digital se muestran mejor con números decimales y letras, es decir, en forma alfanumérica. El dispositivo de lectura de siete segmentos se sustenta en el principio de que cualquier carácter alfanumérico se puede representar iluminando una combinación adecuada de siete segmentos, como se muestra en la figura 2.28. Se puede ver que un cinco se puede formar iluminando los segmentos *a*, *f*, *g*, *c* y *d*; la letra C aparece con los segmentos iluminados *a*, *f*, *e* y *d*. Tal vez el método más común para iluminar siete segmentos en una pantalla es moldear cada segmento como un diodo emisor de luz (LED, por sus siglas en inglés). Un diodo representativo de este tipo consta de una unión *pn* con la forma de uno de los segmentos y se prepara a partir de arseniuro de galio, el cual se dopa con fósforo. En la polarización directa, la unión emite radiación roja, que es el efecto de la recombinación de los portadores minoritarios en la región de la unión. Cada uno de los siete segmentos se conecta a un circuito lógico descodificador, de modo que se activa en el momento adecuado.

Las pantallas de cristal líquido de siete segmentos se utilizan en todas partes. En este caso, una pequeña cantidad de cristal líquido está contenida en una celda óptica plana, cuyas paredes están revestidas con una

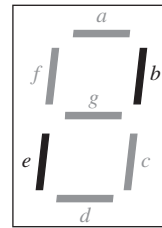


FIGURA 2.28 Pantalla con siete segmentos.

película conductora. Al aplicar un campo eléctrico a cierta región de la celda hay un cambio en la disposición de las moléculas del cristal líquido, por lo que se modifica su apariencia óptica.¹⁰ Tanto los diodos emisores de luz como las pantallas de cristal líquido se aprovechan en muchos tipos distintos de instrumentos, y cada tipo de dispositivo electrónico de lectura tiene sus propias ventajas. En especial, las pantallas de cristal líquido son útiles para instrumentos que funcionan con baterías porque consumen muy poca energía, pero tienen problemas con luces ambientales muy brillantes o muy tenues. Por otro lado, los diodos emisores de luz se pueden leer muy bien en ambientes con poca luz o muy brillantes, pero consumen mucho más energía, por lo que no se utilizan en instrumentos que funcionan con baterías.

2E.4 Computadoras

Muchos instrumentos modernos están equipados con computadoras y monitores de computadora como dispositivos de lectura. La organización de los datos, el proceso de los mismos y el formateo para conseguir representaciones gráficas e impresiones se pueden hacer ahora mediante una computadora. Los instrumentos computarizados se estudian con detalle en la sección 4D.

¹⁰Si desea más información sobre las propiedades y aplicaciones de los cristales líquidos, refiérase a P. P. Crooker, *Chem. Eng. News*, **1983**, enero 31, p. 24; G. H. Brown, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, p. 900.

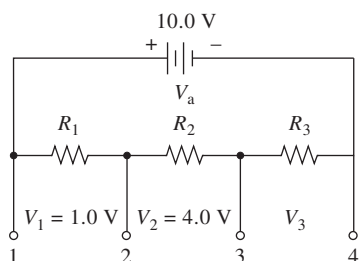
PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

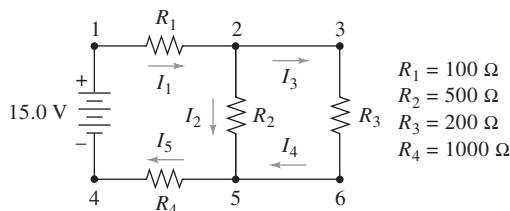


Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

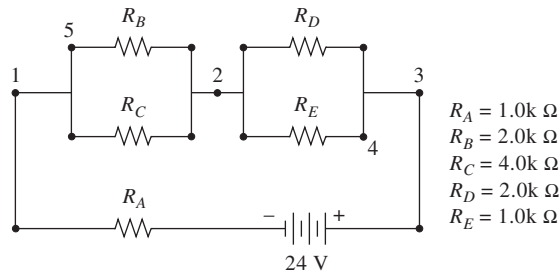
***2.1** Con el fin de ensamblar el divisor de tensión que se muestra enseguida se tienen dos de cada uno de los siguientes resistores: 500 Ω , 1.00 k Ω y 2.00 k Ω .



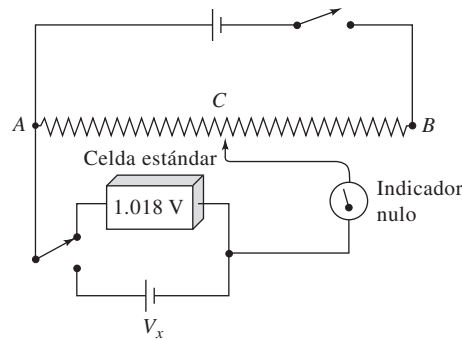
- a) Proporcione una combinación aceptable de los resistores que darían los voltajes que se indican.
- b) ¿De cuánto sería la caída IR en R_3 ?
- c) ¿Qué intensidad de corriente se extraería de la fuente?
- d) ¿Cuánta potencia disipa el circuito?
- *2.2** Suponga que para un circuito similar al que se muestra en el problema 2.1, $R_1 = 200\ \Omega$, $R_2 = 500\ \Omega$, $R_3 = 1.00\ \text{k}\Omega$ y $V_a = 15\ \text{V}$.
- a) ¿Cuánto vale el voltaje V_2 ?
- b) ¿De cuánto sería la pérdida de energía en el resistor R_2 ?
- c) ¿Qué fracción de la pérdida total de potencia en el circuito se disiparía en el resistor R_2 ?
- *2.3** En el caso de un circuito similar al que se muestra en el problema 2.1, $R_1 = 1.00\ \text{k}\Omega$, $R_2 = 2.50\ \text{k}\Omega$, $R_3 = 4.00\ \text{k}\Omega$ y $V_a = 12.0\ \text{V}$. Un voltímetro se coloca en los contactos 2 y 4. Calcule el error relativo en la lectura del voltaje si la resistencia interna del voltímetro fue de a) $5000\ \Omega$, b) $50\ \text{k}\Omega$ y c) $500\ \text{k}\Omega$.
- *2.4** Se utilizó un voltímetro para medir el voltaje de una celda cuya resistencia interna es de $750\ \Omega$. ¿Cuál debe ser la resistencia interna del medidor si el error relativo en la medida debe ser menor a) -1.0% , b) -0.10% ?
- *2.5** En el siguiente circuito calcule
- a) la diferencia de potencial en cada uno de los resistores.
- b) la magnitud de cada una de las corrientes que se muestran.
- c) la potencia que disipa el resistor R_3 .
- d) la diferencia de potencial entre los puntos 3 y 4.



- *2.6** Para el circuito que se muestra enseguida, calcule
- a) la potencia disipada entre los puntos 1 y 2.
- b) la corriente extraída de la fuente.
- c) la caída de voltaje en el resistor R_A .
- d) la caída de voltaje en el resistor R_D .
- e) la diferencia de potencial entre los puntos 5 y 4.



***2.7** El circuito siguiente es de un potenciómetro de laboratorio para medir voltajes desconocidos V_x .



Suponga que el resistor AB es un alambre deslizando cuya resistencia es directamente proporcional a su longitud. Con la celda de Weston estándar (1.018 V) en el circuito, se observó un punto nulo cuando el contacto C se movió a una posición a 84.3 cm del punto A . Cuando la celda de Weston se reemplazó con una celda de un voltaje desconocido V_x , se observó un punto nulo a 44.3 cm. Determine el valor de V_x .

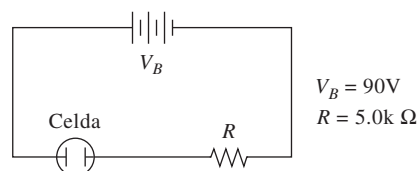
2.8 Demuestre que los datos en la última columna de la tabla 2.1 son correctos.

2.9 Demuestre que los datos en la última columna de la tabla 2.2 son correctos.

***2.10** Se necesita determinar la corriente en un circuito al medir la caída de voltaje en un resistor de precisión en serie con el circuito.

- ¿Cuál debe ser la resistencia del resistor en ohms si 1.00 V corresponde a $50 \mu\text{A}$?
- ¿Cuál debe ser la resistencia del dispositivo que mide el voltaje si el error en la medida de la corriente ha de ser menor que 1.0% relativo?

2.11 Se puede efectuar una electrólisis a corriente casi constante con el acomodo siguiente:



La fuente de 90 V consta de celdas secas cuyo voltaje se supone que permanece constante durante periodos cortos. Durante la electrólisis la resistencia de la celda

se incrementa de $20\ \Omega$ a $40\ \Omega$ debido al agotamiento de las especies iónicas. Calcule el cambio porcentual en la corriente si se supone que la resistencia interna de las baterías es cero.

2.12 Repita los cálculos del problema 2.11, suponga que $V_B = 9.0\ \text{V}$ y $R = 0.50\ \text{k}\Omega$.

***2.13** Una fuente de voltaje de cd de $24\ \text{V}$ se conectó en serie con un resistor y un capacitor. Calcule la intensidad de la corriente después de 0.00 , 0.010 , 0.10 , 1.0 y $10\ \text{s}$ si la resistencia era de $10\ \text{M}\Omega$ y la capacitancia de $0.20\ \mu\text{F}$.

***2.14** ¿Qué tanto tardaría en descargarse un capacitor de $0.015\ \mu\text{F}$ a 1% de su carga total por medio de una resistencia de a) $10\ \text{M}\Omega$, b) $1\ \text{M}\Omega$, c) $1\ \text{k}\Omega$?

***2.15** Calcule las constantes de tiempo para cada uno de los circuitos RC del problema 2.14.

 **2.16** Un circuito RC en serie consta de una fuente de cd de $25\ \text{V}$, un resistor de $50\ \text{k}\Omega$ y un capacitor de $0.035\ \mu\text{F}$.

a) Calcule la constante de tiempo del circuito.

b) Calcule las caídas de corriente y de voltaje en el capacitor y el resistor durante un ciclo de carga; utilice como tiempos 0 , 1 , 2 , 3 , 4 , 5 y $10\ \text{ms}$.

c) Repita los cálculos en b) para un ciclo de descarga suponiendo un tiempo de carga de $10\ \text{ms}$.

 **2.17** Repita los cálculos del problema 2.16 suponiendo que la fuente de voltaje es de $15\ \text{V}$, la resistencia de $20\ \text{M}\Omega$, y la capacitancia de $0.050\ \mu\text{F}$. Use los tiempos 0 , 1 , 2 , 3 , 4 , 5 y $10\ \text{s}$.

 **2.18** Calcule la reactancia capacitiva, la impedancia y el ángulo de fase ϕ para los siguientes circuitos RC en serie:

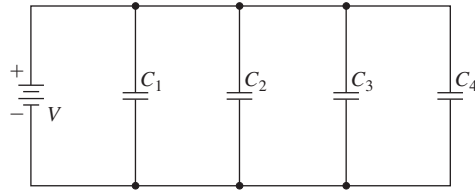
Frecuencia, Hz	R, Ω	$C, \mu\text{F}$
a) 1	20 000	0.033
b) 10^3	20 000	0.033
c) 10^6	20 000	0.0033
d) 1	200	0.0033
e) 10^3	200	0.0033
f) 10^6	200	0.0033
g) 1	2000	0.33
h) 10^3	2000	0.33
i) 10^6	2000	0.33

 **2.19** Deduzca una curva de respuesta de frecuencia para un filtro RC pasabajas en el cual $R = 2.5\ \text{k}\Omega$ y $C = 0.015\ \mu\text{F}$. Use un intervalo de $(V_p)_o/(V_p)_i$ de 0.01 de 0.9999 . Grafique $(V_p)_o/(V_p)_i$ contra $\ln f$.

 **2.20** Deduzca una curva de respuesta para la frecuencia de un filtro RC pasaaltas en el cual $R = 500\ \text{k}\Omega$ y $C = 100\ \text{pF}$ ($1\ \text{pF} = 10^{-12}\ \text{F}$). Use un intervalo de $(V_p)_o/(V_p)_i$ de 0.001 a 0.9999 . Grafique $(V_p)_o/(V_p)_i$ contra $\ln f$.

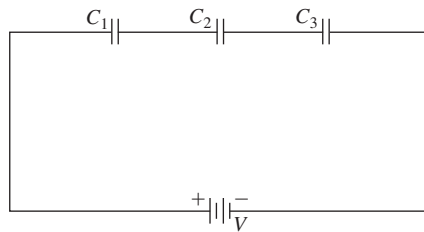
Problema de reto

2.21 a) El circuito que se muestra a continuación es una red de cuatro capacitores conectados en paralelo. Demuestre que la capacitancia en paralelo C_p es $C_p = C_1 + C_2 + C_3 + C_4$.

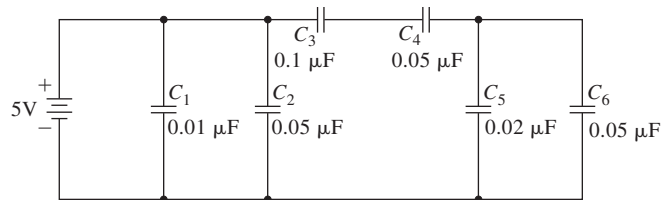


- b) Si $V = 5.00 \text{ V}$, $C_1 = 0.050 \text{ } \mu\text{F}$, $C_2 = 0.010 \text{ } \mu\text{F}$, $C_3 = 0.075 \text{ } \mu\text{F}$ y $C_4 = 0.020 \text{ } \mu\text{F}$, determine la capacitancia en paralelo C_p , la carga en cada capacitor y la carga total Q_p .
- c) Una combinación en serie de capacitores se muestra en la siguiente figura. Demuestre que la capacitancia en serie C_s está definida por

$$\frac{1}{C_s} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2} + \frac{1}{C_3}$$



- d) Si $V = 3.0 \text{ V}$, $C_1 = 1.00 \text{ } \mu\text{F}$, $C_2 = 0.75 \text{ } \mu\text{F}$ y $C_3 = 0.500 \text{ } \mu\text{F}$, determine la capacitancia en serie C_s y las caídas de voltaje en cada capacitor.
- e) Para el circuito en serie del inciso d) suponga que sólo hay dos capacitores, C_1 y C_2 . Demuestre que la capacitancia en serie en este caso es el producto de las dos capacitancias dividido entre la suma de las dos.
- f) La red capacitiva compleja que se ilustra enseguida está conectada con alambre. Determine la capacitancia de la red, el voltaje en cada capacitor y la carga en cada uno de ellos.



Amplificadores operacionales en los instrumentos químicos

Los circuitos más modernos que actúan sobre la señal analógica han tenido gran aceptación porque utilizan una clase de circuitos integrados conocida como **amplificadores operacionales**. Éstos se encuentran en todas partes. Abra cualquier instrumento o pieza de un equipo electrónico o inspeccione cualquier esquema de algún instrumento y encontrará un amplificador o varios. Este hecho, junto con la facilidad con la que realizan funciones relativamente complejas, recalca la importancia de entender los principios de operación de estos amplificadores. En este capítulo se tratan varios amplificadores operacionales y sus aplicaciones, y se investigan sus propiedades, ventajas y limitaciones.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad de estudiar en línea en <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, que le enlaza con clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

3A PROPIEDADES DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES

Su nombre proviene de la aplicación original que tenían en las computadoras analógicas, en las que se utilizaban para efectuar operaciones matemáticas como sumas, multiplicaciones, derivación e integración.¹ Asimismo, los amplificadores operacionales se utilizan mucho en las mediciones precisas de voltaje, intensidad de corriente y resistencia, las cuales son variables que se miden con los transductores que vienen incorporados en los instrumentos químicos. Este tipo de amplificadores también son muy útiles como fuentes de corriente y de voltaje constantes.²

3A.1 Símbolos para los amplificadores operacionales

En la figura 3.1 se ilustra una representación de un circuito equivalente de un amplificador operacional. En la figura, los voltajes de entrada se representan mediante v_+ y v_- . La diferencia de voltaje de entrada v_s es la diferencia entre las dos tensiones, es decir, $v_s = v_+ - v_-$. Las conexiones de la fuente de alimentación se llaman $+FA$ y $-FA$ y por lo regular son de $+15$ y -15 V cd, o bien, algunas veces $+5$ y -5 V. La llamada *ganancia de lazo abierto* del amplificador operacional se muestra como A , y el voltaje de salida v_o es $v_o = Av_s$. Para finalizar, Z_i y Z_o son las impedancias de entrada y de salida del amplificador operacional. La señal de entrada puede ser ca o cd y la señal de salida tiene que corresponder con esto.³ Observe que todos los voltajes de los circuitos del amplificador operacional se miden respecto al *circuito común* que se ilustra en la figura 3.1. Con frecuencia, al circuito común o básico se le llama en forma errónea *tierra*. Estos términos se definen con mayor cuidado y su significado se analiza en la sección 3A.2.

¹Si desea información general sobre electrónica, computadoras e instrumentos, sin olvidar los amplificadores operacionales y sus características, refiérase a H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Micromputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, Washington, DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3a. ed., Filadelfia: Saunders, 1994; J. J. Brophy, *Basic Electronics for Scientists*, 5a. ed., Nueva York: McGraw-Hill, 1990; Horowitz y W. Hill, *The Art of Electronics*, 2a. ed., Nueva York: Cambridge University Press, 1989.

²Para información más detallada sobre los amplificadores operacionales consulte R. Kalvoda, *Operational Amplifiers in Chemical Instrumentation*, Nueva York: Halsted Press, 1975. Véanse también las referencias de la nota 1.

³En todo el libro se sigue la convención de usar letras mayúsculas I , V y Q para representar respectivamente la corriente, el voltaje y la carga en la corriente directa o continua, y con minúsculas se representan las cantidades ca: i , v y q .

Como se ve en la figura 3.2, casi siempre se usan dos versiones de la figura 3.1 para simbolizar los amplificadores operacionales en los diagramas de circuitos. Un símbolo tan completo como el de la figura 3.2a se ve raras veces, por lo que se usa casi exclusivamente el diagrama simplificado de la figura 3.2b. En este caso se omiten las conexiones de la energía y del circuito básico.

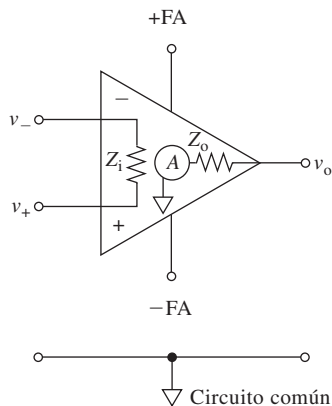


FIGURA 3.1 Representación de un circuito equivalente de un amplificador operacional.

3A.2 Características generales de los amplificadores operacionales

Como se ve en la figura 3.3, el amplificador operacional representativo es un dispositivo analógico que está constituido por una etapa con alta impedancia de entrada, una etapa con voltaje de alta ganancia y una etapa con impedancia de salida baja. La mayor parte consta de 20 transistores y resistores que están incorporados en un solo microcircuito integrado, aunque en el dispositivo también pueden estar presentes otros elementos, como capacitores y diodos. Las dimensiones físicas de un amplificador operacional, sin contar la fuente de alimentación, son del orden de un centímetro o menos. Los amplificadores operacionales modernos, además de ser compactos, son muy confiables y muy baratos. Su precio varía desde pocos centavos para los amplificadores de uso general, hasta más de 50 dólares para las unidades especializadas. Hay una gran variedad de amplificadores operacionales, con diferente ganancia, impedancias de entrada o de salida, tensiones de operación, velocidad y potencia máxima. Un amplificador operacional representativo que se encuentra en el mercado es el fabricado con cerámica o resina epóxica de ocho terminales que se muestra en la figura 3.2c.

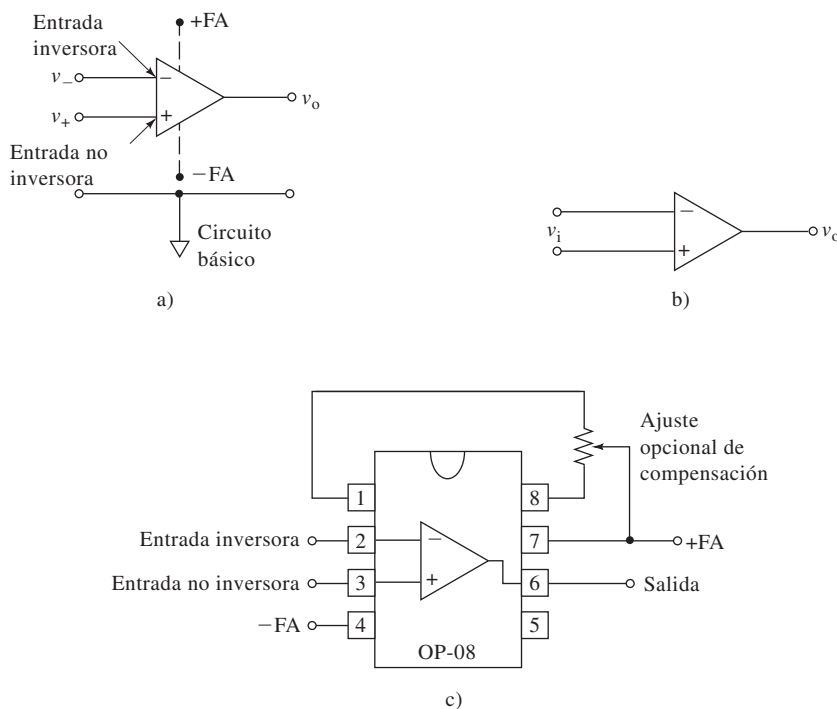


FIGURA 3.2 Símbolos de amplificadores operacionales. En a) se proporcionan más detalles que los que se acostumbra. Observe que los dos voltajes de entrada v_- y v_+ así como el voltaje de salida v_o se miden respecto al circuito común, que casi siempre está en el potencial de tierra o cerca de él. b) Manera común de representar un amplificador operacional en los diagramas de circuitos. c) Representación del amplificador operacional de ocho terminales, que es representativo de los que se encuentran en el mercado.

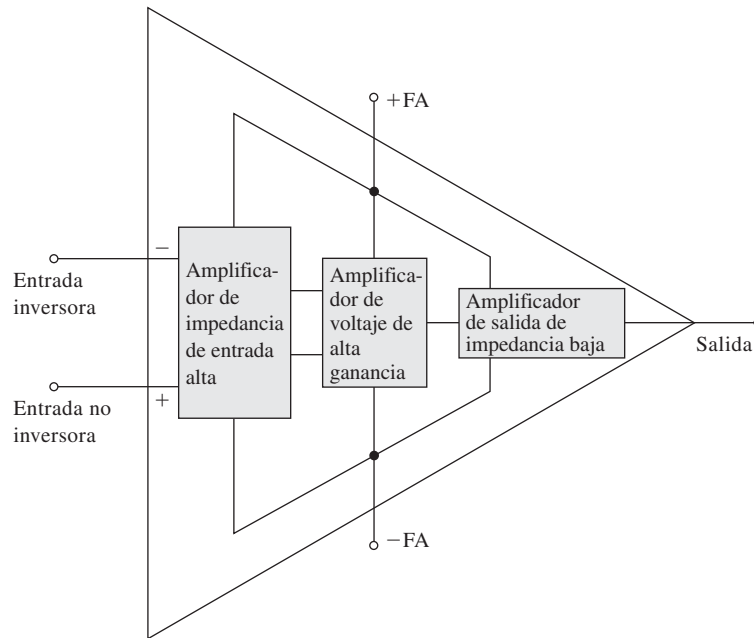


FIGURA 3.3 Diseño del circuito de un amplificador operacional característico. A la etapa de entrada le sigue la etapa de amplificación de alta ganancia. La etapa de salida es capaz de suministrar corriente a una carga para un intervalo de voltaje determinado por los valores de la fuente de alimentación + y -.

Los amplificadores operacionales tienen las propiedades siguientes: 1) ganancias de lazo abierto grandes ($A = 10^4$ a $>10^6$); 2) impedancias de entrada altas ($Z_i = 10^8$ a $10^{15} \Omega$); 3) impedancias de salida bajas ($Z_o = 0.001$ a 1Ω); y voltajes de salida casi de cero para una entrada cero. De hecho, casi todos los amplificadores operacionales manifiestan un voltaje de salida pequeño con entrada cero debido a las características del circuito o a la inestabilidad de los componentes. El *voltaje de compensación* es el que se requiere en la entrada para generar un voltaje de salida cero. Los amplificadores operacionales modernos tienen voltaje de compensación de menos de 5 mV debido al corte con láser en el proceso de manufactura. Algunos amplificadores de este tipo cuentan con un *ajuste* para reducir la compensación a un valor insignificante (véase la figura 3.2c).

Circuito básico y potencial de tierra

Como se ve en la figura 3.2a, cada uno de los dos voltajes de entrada, así como el voltaje de salida de un amplificador operacional representativo se miden respecto al circuito común o básico, el cual se representa con una flecha con punta triangular hacia abajo ($\downarrow$). El circuito común es un conductor que proporciona a todas las corrientes un retorno común hacia sus fuentes. Como consecuencia, todas las tensiones del circuito se miden respecto al circuito básico. Lo ordinario es

que el equipo electrónico no esté directamente conectado a la tierra, lo cual se simboliza con $\perp$. Sin embargo, el potencial del circuito básico no difiere de manera importante del potencial de tierra, pero es importante reconocer que el circuito común no posee necesariamente el mismo potencial que la tierra. Observe que en la figura 3.2b no se muestra un circuito básico, pero usted puede suponer que hay un circuito común y que todas las tensiones se miden respecto a él.

Entradas inversoras y no inversoras

Es importante darse cuenta de que en la figura 3.2 los *signos negativo y positivo señalan las entradas inversora y no inversora* del amplificador, pero *no* significa que se conectarán a señales positivas y negativas. Cualquiera de las entradas se puede conectar a señales positivas o negativas, lo que depende de la aplicación del circuito. Por tanto, si se conecta un voltaje negativo a una entrada inversora o de inversión, la salida del amplificador es positiva respecto a ella. Por otro lado, si se conecta un voltaje positivo a la entrada inversora del amplificador, el resultado es una salida negativa. Una señal ca conectada a la entrada inversora origina una salida *que está desfasada 180°* respecto a la señal en la entrada. Por otra parte, la entrada no inversora de un amplificador produce una señal en fase; en el caso de una señal cd en la entrada no inversora, la

salida será una señal cd de la misma polaridad que la entrada.

3B CIRCUITOS PARA LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES

Los amplificadores operacionales se usan de tres modos distintos, a saber, el modo de *comparador*, el modo de *seguidor de voltaje* y el modo de *seguidor de corriente* u *operacional*.

3B.1 Comparadores

En el modo de comparador, el amplificador operacional se usa en *lazo abierto*, sin ninguna retroalimentación, como se ilustra en la figura 3.4a. En este modo, el amplificador está casi siempre en uno de los límites impuestos por las fuentes de alimentación (FA) + y - (a menudo, de ± 15 V). Por lo regular, los voltajes que se comparan se conectan en forma directa a las dos entradas del amplificador operacional. La salida del dispositivo está dada por $v_o = Av_s = A(v_+ - v_-)$. Por ejemplo, si $A = 10^6$ y los límites de la fuente de alimentación son ± 13 V,⁴ el amplificador estaría en uno de los límites excepto para una pequeña región en la que $v_s \geq -13 \text{ V}/10^6$ o $v_s \leq 13 \text{ V}/10^6$. Por consiguiente, a menos que v_s esté entre $-13 \mu\text{V}$ y $+13 \mu\text{V}$, la salida está en un límite, como se muestra en la figura 3.4b. Observe también que el signo del voltaje de salida v_o señala si $v_+ > v_-$ o $v_+ < v_-$. Si $v_+ > v_-$ por más de $13 \mu\text{V}$, la salida está en el límite positivo ($+13 \text{ V}$ en este caso). En cambio, si $v_- > v_+$ por más de $13 \mu\text{V}$, la salida está en el límite negativo (-13 V). En las secciones 3F y 4C se proporcionan algunas aplicaciones de los circuitos comparadores.

3B.2 Seguidor de voltaje

En la sección 2A.3 se trató el problema de cargar una fuente de voltaje y distorsionar su salida. Con la finalidad de evitar esta carga, la resistencia de entrada del dispositivo de medición o circuito conectado debe ser mucho mayor que la resistencia interna inherente de la fuente de voltaje. Cuando esta última es un transductor con alta resistencia interna, como un electrodo de vidrio para pH o un electrodo pIon, se requiere introducir un circuito conocido como *seguidor de voltaje* para evitar el error de la carga.

Un amplificador operacional seguidor de voltaje representativo es el que se ilustra en la figura 3.5. La impedancia de entrada de los amplificadores opera-

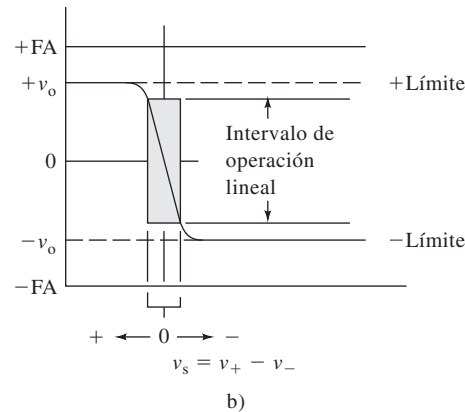
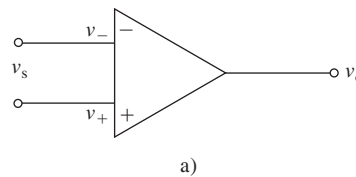


FIGURA 3.4 a) Modo de comparador. Observe que el amplificador operacional no tiene retroalimentación y, por tanto, es un amplificador en lazo abierto. b) Voltaje de salida v_o del amplificador operacional en función de la diferencia de voltaje de entrada v_s . Observe que sólo una pequeña diferencia de voltaje en las dos entradas ocasiona que la salida del amplificador vaya a un límite o al otro.

cionales modernos de alta calidad es de 10^{12} a $10^{15} \Omega$ y las impedancias de salida son menores de 1Ω . Por tanto, la fuente de voltaje conectada a la entrada no inversora no está cargada por circuitos o medidores conectados a la salida del amplificador v_o . Más aún, la salida tiene el mismo voltaje que la entrada, pero aislado de ella. El seguidor de voltaje es un amortiguador casi ideal que protege a las fuentes de alta impedancia de ser cargadas.

Cuando la señal de salida de un amplificador operacional se conecta a una de las entradas, el proceso se denomina *retroalimentación*. En el caso del seguidor de voltaje, la señal de salida se conecta a la entrada inversora de modo que sea de sentido opuesto al de la señal de entrada v_i . Este tipo de retroalimentación que reduce los errores se llama *retroalimentación negativa*.

En realidad, v_s no es cero en los circuitos seguidores de voltaje. Siempre debe haber un pequeño error, dado por v_s , para producir el voltaje de salida del amplificador. En el caso del seguidor, es posible escribir, de acuerdo con la ley de voltaje de Kirchhoff que,

$$v_o = v_i + v_s \quad (3.1)$$

⁴Con frecuencia los límites a los cuales el amplificador operacional puede operar son ligeramente menores que los voltajes de alimentación ($\pm 15 \text{ V}$) debido a las caídas de voltaje internas en el amplificador.



Simulación: aprenda más acerca de los **seguidores de voltaje**.

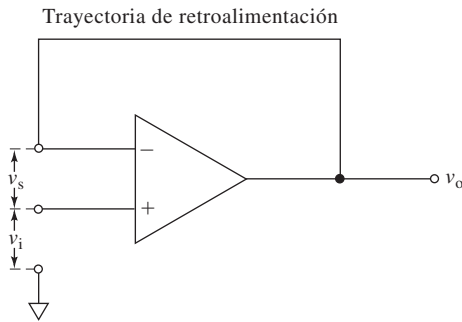


FIGURA 3.5 Seguidor de voltaje. La salida del amplificador se conecta en forma directa de regreso a la salida inversora del amplificador. El voltaje de entrada v_i se conecta a la entrada no inversora. El voltaje de salida es la suma del voltaje de entrada y la diferencia de voltaje v_s . Si el voltaje de salida no está en un límite, v_s es muy pequeño. Por tanto, $v_o \approx v_i$ y el voltaje de salida sigue al voltaje de entrada.

Si el amplificador no está en un límite, $v_s = -v_o/A$. Al sustituir en la ecuación 3.1,

$$v_o = v_i - \frac{v_o}{A} = v_i \left(\frac{A}{1 + A} \right) \quad (3.2)$$

Cuando el amplificador no está en un límite, v_s debe ser muy pequeño ($-13 \mu\text{V}$ a $+13 \mu\text{V}$ para un amplificador operacional con una ganancia de 10^6 y límites de $\pm 13 \text{ V}$). Por tanto, si $|v_o| \geq 10 \text{ mV}$, el error $v_s \leq 0.13\%$. Para fines prácticos, $v_o = v_i$.

Observe que aunque este circuito tiene una ganancia de voltaje unitaria ($v_o/v_i = 1$), puede tener una ganancia de potencia muy grande porque los amplificadores operacionales tienen impedancias de entradas altas, pero bajas impedancias de salida. Con el fin de mostrar el efecto de esta gran diferencia en la impedancia, se define la ganancia de potencia como P_o/P_i , donde P_o es la potencia de la salida de un amplificador operacional y P_i es la potencia de entrada. Si se sustituye entonces la ley de la potencia ($P = iv = v^2/R$) y la ley de Ohm en esta definición, y se toma en cuenta que v_o y v_i son casi iguales en un seguidor de voltaje, se llega a la expresión

$$\text{ganancia de potencia} = \frac{P_o}{P_i} = \frac{i_o v_o}{i_i v_i} = \frac{v_o^2/Z_o}{v_i^2/Z_i} = \frac{Z_i}{Z_o}$$

donde Z_i y Z_o son las impedancias de entrada y de salida del amplificador operacional. Este resultado es importante porque quiere decir que el seguidor de voltaje casi no extraerá corriente de una entrada. Sin embargo, los circuitos internos del amplificador operacional y la fuente de alimentación son capaces de suministrar grandes corrientes en la salida del amplificador operacional.

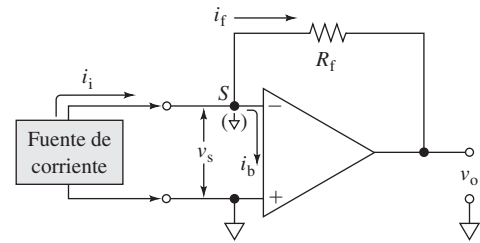


FIGURA 3.6 Amplificador operacional seguidor de corriente. Se conecta una fuente de corriente entre la entrada inversora y la entrada no inversora. Esta última se conecta al circuito básico. Un resistor de retroalimentación R_f se conecta desde la salida hasta la entrada inversora.

3B.3 Circuitos seguidores de corriente

Los amplificadores operacionales se usan para medir o procesar corrientes si se les conecta en el modo de *seguidor de corriente*. Éste proporciona una carga de resistencia casi cero a la fuente de corriente y evita la carga proveniente de un dispositivo de medición o de un circuito. El efecto de la carga en las mediciones de corriente se trató en la sección 2A.3.

El seguidor de corriente

En el modo de seguidor de corriente del amplificador operacional, la salida se conecta a la entrada inversora mediante un *resistor de retroalimentación* R_f como se ilustra en la figura 3.6. Si el amplificador se conserva dentro de los límites de la fuente de alimentación, la diferencia de voltaje v_s es muy pequeña, como ya se mencionó. Por tanto, el potencial en la entrada inversora es en esencia igual al de la entrada no inversora. Si esta última está conectada a un circuito básico, la entrada inversora se mantiene muy cerca en dicho circuito siempre y cuando el amplificador no esté en un límite. Se dice entonces que la entrada no inversora está *virtualmente en el circuito básico* o en un *voltaje virtual básico*. De acuerdo con la ley de corriente de Kirchhoff, la corriente de entrada i_i es igual a la corriente de retroalimentación i_f más la corriente polarizada de la entrada del amplificador i_b .

$$i_i = i_f + i_b \quad (3.3)$$

Con los amplificadores modernos, los valores característicos de i_b pueden ser 10^{-11} – 10^{-15} A . De aquí que, $i_i \approx i_f$.

Si el punto S de la figura 3.6 está en un voltaje virtual básico, se infiere que el voltaje de salida v_o debe ser igual a la caída iR en el resistor R_f y de signo contrario. Por tanto, es posible escribir

$$v_o = -i_f R_f = -i_i R_f \quad (3.4)$$



Simulación: aprenda más acerca de los **seguidores de corriente**.

Como el punto S es un circuito básico virtual ($\downarrow$), se pueden conectar aquí varias fuentes de corriente sin interactuar entre sí. Por tanto, el punto S se llama *punto de suma*.

De acuerdo con la ecuación 3.4, se puede ver que el amplificador operacional genera una corriente de retroalimentación i_f que sigue a la corriente de entrada i_i y produce un voltaje de salida v_o que es directamente proporcional a i_i . Si, por ejemplo, si $R_f = 100 \text{ M}\Omega$ ($10^8 \Omega$) e $i_i = 5.00 \text{ nA}$ ($5.0 \times 10^{-9} \text{ A}$), el voltaje de salida v_o sería de 0.50 V , lo cual se mide con facilidad. Puesto que se produce un voltaje de salida proporcional a la corriente de entrada, el seguidor de corriente recibe a menudo el nombre de *convertidor de corriente a voltaje*.

Hay un efecto de carga muy pequeño en el circuito seguidor de corriente. Como la fuente de corriente de entrada está conectada entre el punto S y el circuito básico, y el punto S se mantiene en básico virtual, la fuente de la señal de entrada experimenta una resistencia casi cero en sus terminales de salida. La resistencia de entrada efectiva R_i es el error de voltaje v_s dividido entre la corriente de entrada, i_i ; es decir, $R_i = v_s/i_i$. Como $v_s = -v_o/A$ y según la ecuación 3.4 $i_i = -v_o/R_f$, es válido escribir

$$R_i = \frac{R_f}{A} \quad (3.5)$$

El efecto de carga de R_f sobre el circuito se reduce por un factor de A . Por ejemplo, si $R_f = 100 \text{ M}\Omega$ y $A = 10^7$, la resistencia efectiva de entrada disminuye a 10Ω .

Una relación más exacta entre v_o e i_i se encuentra en la ecuación 3.6 y manifiesta las limitaciones del seguidor de corriente:

$$\begin{aligned} v_o &= -R_f(i_i - i_b) \left(\frac{A}{1 + A} \right) \\ &= -i_i R_f + i_b R_f \frac{v_o}{A} \end{aligned} \quad (3.6)$$

Cuando A es muy grande e i_b es pequeña, la ecuación 3.6 se reduce a la ecuación 3.4. La medición de corrientes bajas está limitada por la corriente polarizada de entrada del amplificador, casi siempre de $10^{-11} \Omega$ o menor. En el extremo de corriente alta, la capacidad de la corriente de salida del amplificador, de ordinario 2 a 100 mA) es una restricción. La ganancia de lazo abierto del amplificador A es una restricción sólo cuando el voltaje de salida es pequeño o la corriente polarizada es grande.

Amplificador inversor de voltaje

El modo de seguidor de corriente se puede usar para hacer un amplificador inversor de voltaje si la corrien-

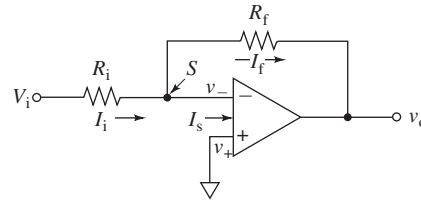


FIGURA 3.7 Amplificador inversor de voltaje. En este caso, la corriente de entrada en el punto de suma S proviene del voltaje de entrada v_i y de la resistencia de entrada R_i .

te de entrada i_i proviene de una fuente de voltaje y un resistor en serie R_i como se muestra en la figura 3.7. Como el punto de suma S está en un potencial común virtual, la intensidad de corriente de entrada es

$$i_i = \frac{v_i}{R_i} \quad (3.7)$$

Si se sustituye este resultado en la ecuación 3.4, se obtiene

$$v_o = -i_i R_f = -v_i \frac{R_f}{R_i} \quad (3.8)$$

Por tanto, el voltaje de salida v_o es el voltaje de entrada v_i multiplicado por el cociente de los dos resistores R_f/R_i , con polaridad contraria. Si los dos resistores son de precisión, la *ganancia de lazo cerrado* del amplificador, R_f/R_i , puede ser muy exacta. Por ejemplo, si R_f fuera de $100 \text{ k}\Omega$ y R_i fuera de $10 \text{ k}\Omega$, la ganancia sería de 10 y $v_o = -10 \times v_i$. Observe que la exactitud de la ganancia depende de qué tanto se conocen los valores de las dos resistencias y no de la *ganancia de lazo cerrado*, A , del amplificador operacional.

Con frecuencia, el amplificador de la figura 3.7 se llama *amplificador de inversión* o *inversor* cuando $R_i = R_f$ porque en este caso el signo del voltaje de entrada está invertido. Sin embargo, tenga en cuenta que hay una posibilidad de cargar el voltaje de entrada v_i porque la corriente que da la ecuación 3.7 se extrae de la fuente.

3B.4 Respuesta de frecuencia de un circuito de retroalimentación negativa

La ganancia de un amplificador operacional representativo disminuye con rapidez en respuesta a las señales de entrada de alta frecuencia. Esta dependencia de la frecuencia surge de las pequeñas capacitancias que se forman en el interior de los transistores que están en el amplificador operacional. En general, la respuesta de frecuencia de un amplificador operacional representativo se da en la forma de un *diagrama de Bode*, como el que se presenta en la figura 3.8 (véase también sección 2B.5). En este caso, la curva continua de la ganancia de lazo abierto representa el comportamiento del amplificador *cuando no está presente el resistor*

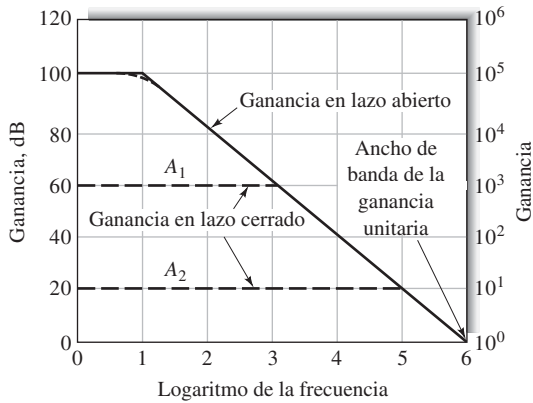


FIGURA 3.8 Diagrama de Bode en el que se presenta la respuesta de frecuencia de un amplificador operacional representativo. Línea continua: ganancia en lazo abierto de un amplificador operacional sin retroalimentación negativa; línea discontinua: configuración del amplificador inversor como el de la figura 3.7 con $A_1 = R_f/R_i = 1000$ y $A_2 = R_f/R_i = 10$.

de retroalimentación R_f de la figura 3.7. Observe que tanto la ordenada como la abscisa son escalas logarítmicas y que la ganancia se presenta en decibels, dB, donde $1 \text{ dB} = 20 \log(v_o/v_i)$.

A frecuencias de señal de entrada bajas, $A = 10^5$, o 100 dB; pero a medida que la frecuencia aumenta por arriba de 10 Hz, la ganancia en lazo abierto baja a -20 dB/década , o decena, en el mismo modo que sucede en un filtro pasabajas (sección 2B.5). El intervalo de frecuencia desde cd hasta la frecuencia en la cual $A = 1$, es decir, 0 dB, se denomina *ancho de banda de ganancia unitaria*, la cual es de 1 MHz para este amplificador. El punto en el cual $A = 1$ fija también el *producto del ancho de banda de la ganancia* en 1 MHz, lo cual es una característica constante del amplificador operacional en todas las frecuencias por arriba de 10 Hz. Esta característica permite calcular el ancho de banda de una configuración de un amplificador.

Como ejemplo, considérese el amplificador de la figura 3.7 con una ganancia de señal de $A_1 = R_f/R_i = 1000$, como se indica mediante la línea discontinua superior de la figura 3.8. Entonces, el ancho de banda del amplificador es $1 \text{ MHz}/1000 = 1 \text{ kHz}$, lo cual corresponde a la intersección de la línea discontinua superior con la curva de ganancia en lazo abierto. Un amplificador similar con $A_2 = 10$ tiene entonces un ancho de banda de 100 kHz, como se señala mediante la línea discontinua inferior, y así sucesivamente para otros valores de ganancia de señal que podrían ser elegidos

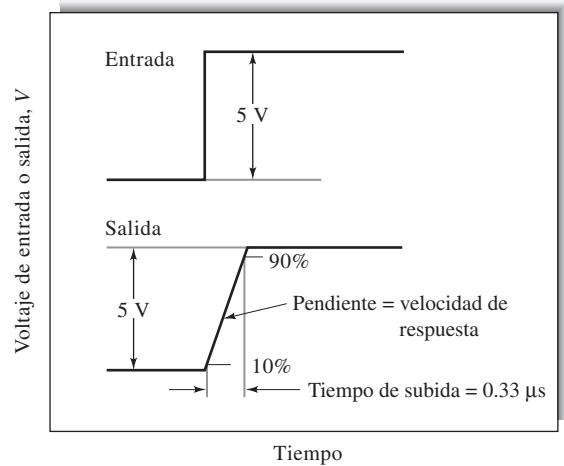


FIGURA 3.9 Respuesta de un amplificador operacional a un cambio brusco en el voltaje de entrada. La pendiente de la parte que se modifica de la señal de salida es la velocidad de respuesta, y el tiempo que se necesita para que la salida pase de 10% a 90% del cambio total es el tiempo de subida.

para un amplificador operacional. Por tanto, se ve que la retroalimentación negativa aumenta el ancho de banda del amplificador, lo cual se puede calcular a partir de la ganancia de la señal y el ancho de banda de la ganancia unitaria del amplificador operacional.

Los otros parámetros que se relacionan con la rapidez o ancho de banda Δf de un amplificador se ilustran en la figura 3.9. La respuesta de la salida de un seguidor de voltaje a una entrada en escalón se caracteriza por el *tiempo de subida* t_r , que es el lapso que se requiere para que la salida pase de 10 a 90% del cambio total. Se puede demostrar que

$$t_r = \frac{1}{3\Delta f} \quad (3.9)$$

En el caso del seguidor de voltaje con ganancia en lazo cerrado de 1 y ancho de banda de ganancia unitaria de 10^6 , $t_r = 1/(3 \times 1.00 \text{ MHz}) = 0.33 \mu\text{s}$. A partir de la pendiente del cambio de voltaje en la salida durante la transición de 5 V a 10 V, la *velocidad de respuesta* se determina mediante:

$$\text{velocidad de respuesta} = \frac{\Delta v}{\Delta t} = \frac{5 \text{ V}}{0.33 \mu\text{s}} = 17 \text{ V}/\mu\text{s}$$

La velocidad de respuesta es la razón máxima de variación de la salida de un amplificador en respuesta al cambio en escalón de la entrada. Los valores representativos de la velocidad de respuesta son del orden de unos cuantos voltios por microsegundo, pero se pueden conseguir amplificadores operacionales especiales con velocidades de respuesta de hasta varios cientos de voltios por microsegundo.



Simulación: aprenda más acerca de la **respuesta de frecuencia de los amplificadores operacionales**.

3C AMPLIFICACIÓN Y MEDICIÓN DE LAS SEÑALES DE LOS TRANSDUCTORES

Los amplificadores operacionales se utilizan para amplificar y medir las señales eléctricas de los transductores. Éstos pueden generar salidas de voltaje, salidas de corriente o salidas de carga. Con frecuencia, las señales provenientes de los transductores se relacionan con la concentración. En esta sección se trata las aplicaciones básicas de los amplificadores operacionales en la medición de cada tipo de señal.

3C.1 Medición de corriente

Es importante medir con exactitud intensidades de corriente pequeñas en métodos analíticos tales como: voltamperometría, coulombimetría, fotometría y cromatografía. Como se señala en el capítulo 2, una preocupación que surge en todas las mediciones físicas, sin olvidar las de corriente, es si el mero proceso de medición alterará en forma importante la señal que se desea medir y llevará a un error de carga. Es inevitable que cualquier proceso de medición perturbe al sistema en estudio, de tal manera que la cantidad que se cuantifica en realidad difiere del valor original antes de la medición. Por tanto, es necesario tener la seguridad de que la perturbación sea pequeña. En el caso de la medición de corriente, esta consideración requiere que la resistencia interna de los medidores sea mínima, de modo que no modifique la corriente de manera significativa. El seguidor de corriente que se estudia en la sección 3B.3 es, de manera muy cercana, el dispositivo ideal para medir la corriente.

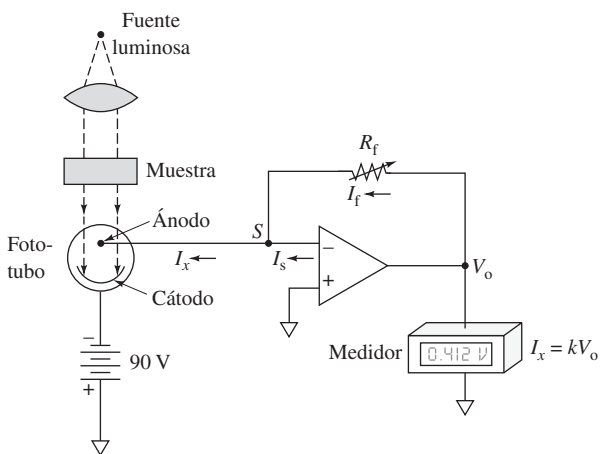


FIGURA 3.10 Aplicación de un amplificador operacional seguidor de corriente para medir una pequeña corriente fotoeléctrica I_x .

Un ejemplo de un seguidor de corriente que se utiliza para medir una corriente fotoeléctrica pequeña es el de la figura 3.10. El transductor es un fototubo que transforma la intensidad de la luz en una intensidad de corriente, I_x . La radiación que impacta en el fotocátodo ocasiona una emisión de electrones desde su superficie. Si el ánodo se mantiene con un potencial que es positivo respecto al cátodo (cátodo negativo respecto al ánodo), los fotoelectrones emitidos son atraídos, dando lugar a una corriente fotoeléctrica proporcional a la potencia del haz incidente.

A partir de la ecuación 3.4, el voltaje de salida V_o se puede expresar como

$$V_o = -I_f R_f = -I_x R_f$$

e

$$I_x = -V_o / R_f = k V_o$$

Entonces, al medir V_o se obtiene la corriente I_x siempre que se conozca R_f . Es posible medir corrientes en nanoamperes con un alto grado de exactitud si R_f tiene un valor grande.

Como se muestra en el ejemplo 3.1, un amplificador operacional seguidor de corriente puede ocasionar errores mínimos de perturbación al medir corriente.

EJEMPLO 3.1

Suponga que la R_f de la figura 3.10 es de $1 \text{ M}\Omega$, la resistencia interna de los fototubos es de $5.0 \times 10^4 \Omega$, y que la ganancia en lazo abierto del amplificador es de 1.0×10^5 . Calcule el error relativo al medir la corriente que resulta de la presencia del circuito de medición.

Solución

De acuerdo con la ecuación 3.5, la resistencia de entrada del seguidor de corriente R_i es

$$R_i = \frac{R_f}{A} = \frac{1 \times 10^6}{1 \times 10^5} = 10 \Omega$$

La ecuación 2.20 muestra que el error de carga relativo en una medición de corriente está dado por

$$\text{error rel} = \frac{-R_M}{R_L + R_M}$$

donde la resistencia del medidor R_M es la resistencia de entrada del seguidor de corriente R_i y R_L es la resistencia interna del fototubo. Por tanto,

$$\begin{aligned} \text{error rel} &= \frac{-10.0 \Omega}{(5.0 \times 10^4 \Omega) + 10.0 \Omega} \\ &= -2.0 \times 10^{-4}, \text{ o } 0.020\% \end{aligned}$$

El instrumento que se muestra en la figura 3.10 se llama *fotómetro*. Este aparato se puede usar para medir la atenuación de un haz luminoso por la absorción ocasionada por un analito presente en una solución. La absorbancia está relacionada con la concentración de las especies causantes de la absorción. Los fotómetros se describen con detalle en la sección 13D.3.

Además de los fototubos, otros transductores, como los electrodos de oxígeno, los detectores de ionización por llama, los fotodiodos y los tubos fotomultiplicadores, producen corrientes de salida relacionadas con la concentración o con un fenómeno físico de interés. El seguidor de corriente es un circuito indispensable para medir las pequeñas intensidades de corriente que se producen.

3C.2 Mediciones de voltaje

Varios transductores producen voltajes de salida relacionados con la concentración o con una cantidad física de interés. Por ejemplo, los electrodos selectivos de iones generan salidas de voltaje en relación con el pH o la concentración de un ion en solución. Los termopares producen salidas de voltaje relacionadas con la temperatura. De manera similar, los transductores de efecto Hall causan voltajes de salida proporcionales a la fuerza del campo magnético. Los circuitos del amplificador operacional, en particular los que se basan en el seguidor de voltaje (véase la sección 3B.2), se usan ampliamente en dichas mediciones.

La ecuación 2.19 muestra que las medidas exactas de voltaje requieren que la resistencia del dispositivo medidor sea grande en comparación con la resistencia interna de la fuente de voltaje que se desea medir. La necesidad de un medidor altamente resistivo es muy importante en la determinación del pH mediante un electrodo de vidrio, cuya resistencia interna casi siempre está en el intervalo de decenas o centésimas de megaohms. El circuito seguidor de voltaje que se ilustra en la figura 3.5 presenta una resistencia de entrada muy alta con el fin de evitar la carga del electrodo de vidrio. Si es necesaria la amplificación, el seguidor de voltaje se puede combinar con el amplificador inversor elemental de la figura 3.7 para dar lugar a un medidor de voltaje de alta impedancia con amplificación como se muestra en la figura 3.11. En este caso, la primera etapa consta de un seguidor de voltaje que, por lo regular, proporciona una impedancia de entrada en exceso de $10^{12} \Omega$. Luego, un circuito amplificador inversor incrementa la salida del seguidor en R_f/R_i , que es 20 en este caso. A un amplificador como éste, con una resistencia de $100 \text{ M}\Omega$ o más, se le llama casi siempre *electrómetro*. En el comercio se pueden encontrar electrómetros muy bien diseñados basados en amplificadores operacionales.

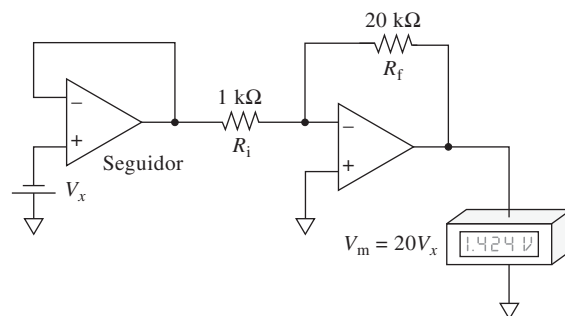


FIGURA 3.11 Circuito de alta impedancia para amplificar el voltaje y medirlo.

A veces, se desea la amplificación sin invertir la señal proveniente de un transductor de voltaje de salida. En este caso, un circuito conocido como *seguidor de voltaje con ganancia* se puede utilizar para retroalimentar sólo una fracción del voltaje de salida del seguidor de la figura 3.5 a la entrada inversora.⁵

3C.3 Mediciones de resistencia o conductancia

Las celdas electrolíticas y los instrumentos sensibles a la temperatura, como los termistores y los bolómetros son ejemplos comunes de transductores cuya resistencia o conductancia eléctrica varía en respuesta a una señal analítica. Estos dispositivos se usan en titulaciones conductimétricas y termométricas, en mediciones de absorción y emisión infrarroja y en el control de la temperatura en una variedad de aplicaciones analíticas.

El circuito que se muestra en la figura 3.7 es un medio aceptable para medir la resistencia o conductancia de un transductor. En este caso, una fuente de voltaje constante se usa para conseguir una V_i y el transductor se sustituye por R_i o R_f en el circuito. El voltaje de salida amplificado v_o se mide después con un medidor adecuado, un potenciómetro o con un sistema computarizado para obtener datos. Por consiguiente, si el transductor se sustituye por R_f en la figura 3.7, la salida, como se puede ver al reacomodar la ecuación 3.8, es

$$R_x = \frac{-v_o R_i}{V_i} = k v_o \quad (3.10)$$

donde R_x es la resistencia que se desea medir y k es una constante que se calcula si se conocen R_i y V_i . Otra

⁵H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, Washington, DC: American Chemical Society, 1994, pp. 131 y 132.

posibilidad es que k se puede determinar a partir de una calibración en la que R_x se reemplaza con un resistor estándar.

Si lo que interesa es la conductancia y no la resistencia, el transductor reemplaza en forma conveniente a R_i en el circuito. A partir de la ecuación 3.8 se tiene que

$$\frac{1}{R_x} = G_x = \frac{-v_o}{V_i R_f} = k' v_o \quad (3.11)$$

En la figura 3.12 se ilustran dos aplicaciones básicas de amplificadores operacionales para medir con-

ductancia o resistencia. En a), la conductancia de una celda para titulación conductimétrica es lo que interesa. En este caso, una señal ca de entrada v_i de tal vez 5 a 10 V la proporciona una fuente de alimentación ca. Luego, la señal de salida se rectifica, se filtra y se mide como un voltaje cd. La resistencia variable R_f proporciona un medio para variar el intervalo de conductancias que se pueden medir. La calibración se consigue al cambiar el resistor estándar R_s en el circuito por la celda de conductividad.

En la figura 3.12b se ilustra la manera en que el circuito de la figura 3.7 se puede aplicar a la medida de una relación de resistencias o conductancias. En este

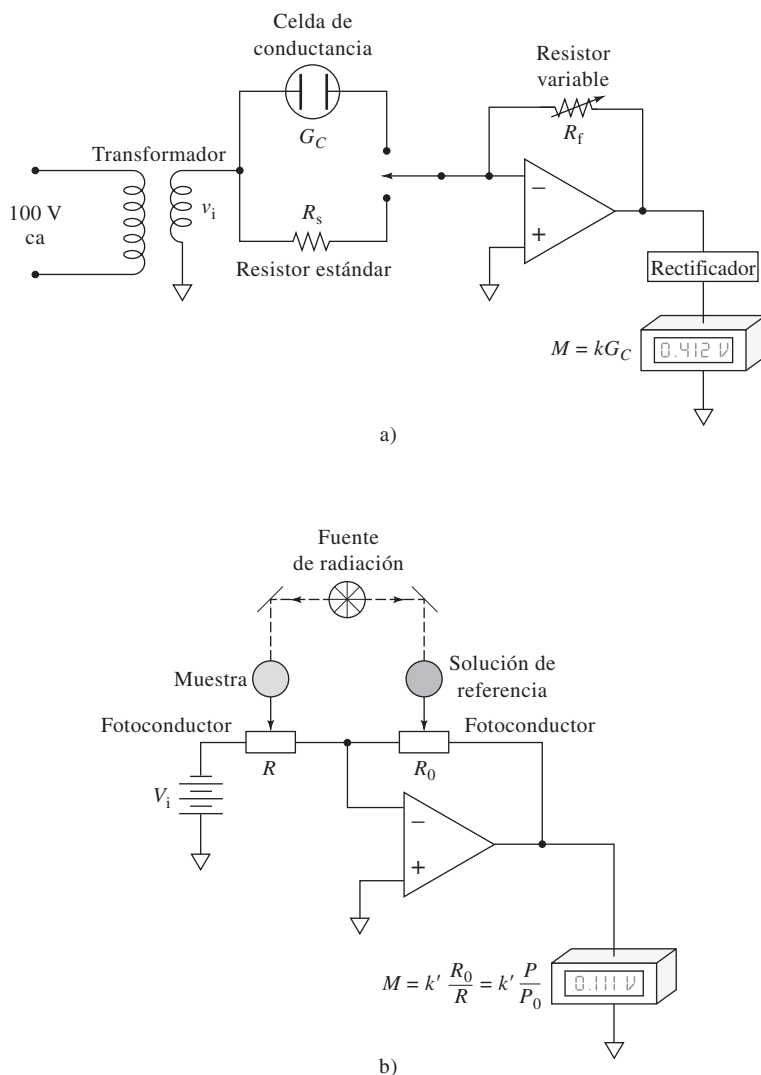


FIGURA 3.12 Dos circuitos para transductores en los que interesa la conductancia o la resistencia. a) La salida de la celda es una corriente proporcional a la conductancia del electrolito. b) La razón de las resistencias de las celdas fotoconductoras es proporcional a la lectura del medidor.

caso, la energía radiante que absorbe una muestra se compara con la de una solución de referencia. Los dos transductores fotoconductores, que son dispositivos cuyas resistencias están relacionadas inversamente con la intensidad de la luz que impacta sus superficies activas, reemplazan a R_f y R_i en la figura 3.7. Una fuente de alimentación cd cuyo voltaje es V_i funciona como una fuente de potencia, y el voltaje de salida M , como se ve en la ecuación 3.8, es

$$M = V_o = -V_i \frac{R_0}{R}$$

Por lo regular, la resistencia de una celda fotoconductora es inversamente proporcional a la potencia radiante P de la radiación que incide en ella. Si R y R_0 son un par de fotoconductores,

$$R = C \times \frac{1}{P} \quad \text{y} \quad R_0 = C \times \frac{1}{P_0}$$

donde C es una constante para ambas celdas fotoconductoras, se obtiene

$$V_o = M = -V_i \frac{C/P_0}{C/P} = -V_i \frac{P}{P_0} \quad (3.12)$$

Por tanto, la lectura del medidor M es proporcional al cociente de las potencias radiantes de los dos haces (P/P_0).

3C.4 Amplificadores de diferencias

Con frecuencia se desea medir una señal generada por una analito respecto a una señal de referencia, como en la figura 3.12b. Un amplificador de diferencias, como el que se ilustra en la figura 3.13, también se puede utilizar con este propósito. Aquí el amplificador se usa para medir temperatura. Observe que las resistencias de entrada R_i de los dos resistores son iguales. De manera similar el resistor de retroalimentación y el resistor que está entre la entrada no inversora y el circuito básico, ambos llamados R_k , también tienen valores idénticos.

Si se aplica la ley de Ohm al circuito de la figura 3.13, se tiene que

$$I_1 = \frac{V_1 - v_-}{R_i}$$

e

$$I_f = \frac{v_- - V_o}{R_k}$$

Como el amplificador operacional tiene una impedancia de entrada alta, I_1 e I_f son casi iguales.

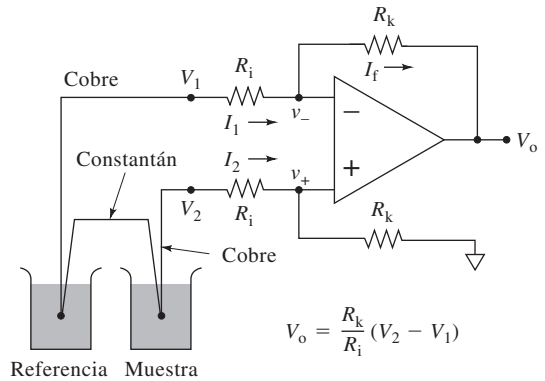


FIGURA 3.13 Un amplificador de diferencias mide el voltaje de salida de dos termopares.

$$I_1 \approx I_f$$

$$\frac{V_1 - v_-}{R_i} = \frac{v_- - V_o}{R_k}$$

Al despejar v_- de esta ecuación se obtiene

$$v_- = \frac{V_1 R_k + V_o R_i}{R_k + R_i} \quad (3.13)$$

El voltaje v_+ se puede expresar en función de V_2 por medio de la ecuación del divisor de voltaje, la 2.10:

$$v_+ = V_2 \left(\frac{R_k}{R_i + R_k} \right) \quad (3.14)$$

Recuerde que un amplificador operacional con un lazo de retroalimentación negativo hará lo que es necesario para cumplir con la ecuación $v_+ \approx v_-$. Cuando las ecuaciones 3.13 y 3.14 se sustituyen en esta relación, se obtiene, luego del reacomodo de términos,

$$V_o = \frac{R_k}{R_i} (V_2 - V_1) \quad (3.15)$$

Por consiguiente, lo que se amplifica es la diferencia entre las dos señales. Cualquier voltaje extraño *común a las dos entradas* que se muestran en la figura 3.13 se restará y no aparecerá en la salida. Por tanto, cualquier deriva lenta en la salida de los transductores o cualquier intensidad de corriente de 60 ciclos inducida desde las líneas de energía del laboratorio serán eliminadas de V_o . Esta propiedad tan útil explica el uso tan extendido de los circuitos amplificadores de diferencias en las primeras etapas de amplificación de muchos instrumentos.

Una característica importante de los circuitos de amplificador operacional, como el amplificador de diferencias descrito antes, es la *relación de rechazo de modo común*, que se conoce mejor por sus siglas en

inglés, CMRR. En el caso de un amplificador de diferencias, la CMRR es una medida de qué tan bien rechaza las señales que son comunes a ambas entradas. Es la razón entre la diferencia de ganancia A_d y la ganancia de modo común A_{cm} ; es decir,

$$CMRR = \frac{A_d}{A_{cm}}$$

Suponga que se aplican señales idénticas a las entradas V_1 y V_2 , que $R_k = 1000R_i$, y que $V_o = 0.1V_2$. Si el amplificador de diferencias fuera ideal, V_o sería igual a cero. En los amplificadores de diferencias reales, alguna fracción de V_2 , que es la señal que debe ser rechazada, aparece en la salida. En este caso, V_2 es la señal que se rechaza, o la señal de modo común, de manera que la ganancia de modo común es $A_{cm} = V_o/V_2 = 0.1$. La ganancia de diferencia A_d es justamente la ganancia del amplificador de diferencias, que es $A_d = R_k/R_i = 1000$. Entonces, la CMRR de esta configuración es

$$CMRR = \frac{A_d}{A_{cm}} = 1000/0.1 = 10\,000$$

Cuanto más grande es la CMRR del amplificador de diferencias, mejor es para rechazar señales de modo común, es decir, las señales que se aplican en ambas entradas en forma simultánea.

Los transductores que se ilustran en la figura 3.13 son un par de uniones de termopar. Uno de los transductores está sumergido en la muestra y el otro está dentro de una solución de referencia (con frecuencia un baño de hielo) que se mantiene a temperatura constante. En cada una de las dos uniones formadas con alambres de cobre y una aleación llamada constantán (también se usan otros pares de metales) se forma un potencial de contacto que depende de la temperatura. La diferencia de potencial $v_2 - v_1$ es de casi 5 mV por cada 100 °C de diferencia de temperatura.

3D APLICACIONES DE LOS AMPLIFICADORES OPERACIONALES AL CONTROL DEL VOLTAJE Y LA CORRIENTE

Los amplificadores operacionales se configuran con facilidad para que generen señales constantes de voltaje o de corriente.

3D.1 Fuentes de voltaje constante

Varios métodos instrumentales requieren una fuente de potencia cd cuyo voltaje se conozca con precisión y

a partir del cual se puedan extraer corriente razonables sin variaciones de voltaje. Un circuito que cumple con estas características se denomina *potenciostato*.

En la figura 3.14 se ilustran dos potenciostatos. Ambos usan una fuente de voltaje estándar en un circuito de retroalimentación. Por lo regular, esta fuente es un circuito integrado estabilizado con Zener, barato y disponible en el mercado (véase la sección 2D.3), que tiene la aptitud de producir un voltaje de salida constante con variaciones de sólo unas centésimas por ciento. Sin embargo, una fuente de este tipo no mantiene su voltaje cuando tiene que entregar una corriente grande.

Recuerde que, como ya se explicó antes, el punto de suma S de la figura 3.14a está en un potencial virtual común. Para que exista esta condición, es necesario que $V_o = V_{std}$, el voltaje estándar. Es decir, la corriente en la resistencia de carga R_L debe ser tal que $I_L R_L = V_{std}$. Es importante tener en cuenta que esta corriente

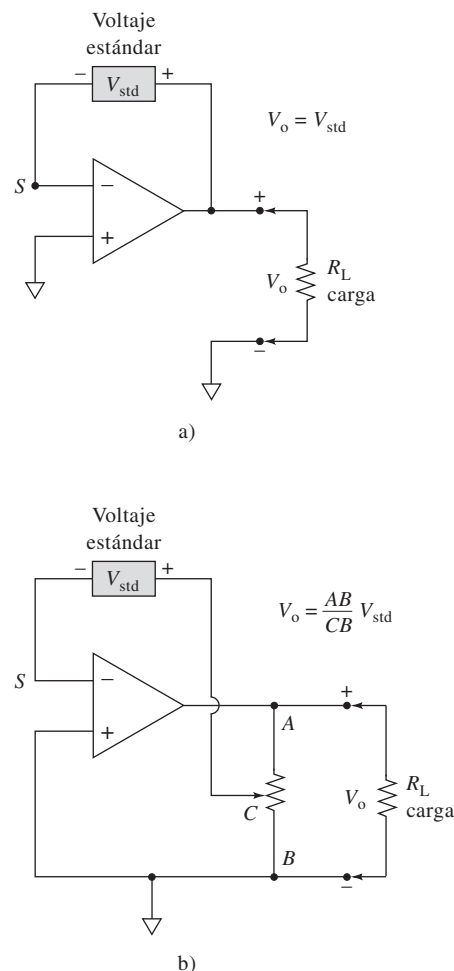


FIGURA 3.14 Fuentes de voltaje constante.

proviene de la fuente de potencia del amplificador operacional y *no de la fuente de voltaje estándar*. En esencia, no hay corriente en el lazo de retroalimentación porque la impedancia de la entrada inversora es muy grande. Por tanto, la celda estándar controla V_o pero no proporciona ninguna corriente a través de la carga.

En la figura 3.14b se ilustra una modificación del circuito en a) que facilita fijar el voltaje de salida del potenciómetro en un nivel que es un múltiplo conocido del voltaje de salida de la fuente de potencial estándar.

3D.2 Fuentes de corriente constante

Este tipo de fuente se conoce como *amperostato* y se utiliza en varios instrumentos analíticos. Por ejemplo, se usan para conservar una corriente constante en la celda electroquímica. Un amperostato reacciona ante los cambios en la potencia de entrada o al cambio de la resistencia interna de la celda al modificar su voltaje de salida de tal modo que la corriente se conserve en un nivel predeterminado.

En la figura 3.15 se ilustran dos amperostatos. El primero requiere un voltaje de entrada V_i cuyo potencial es constante mientras proporciona una corriente importante. Recuerde de lo que ya ha estudiado que:

$$I_L = I_i = \frac{V_i}{R_i}$$

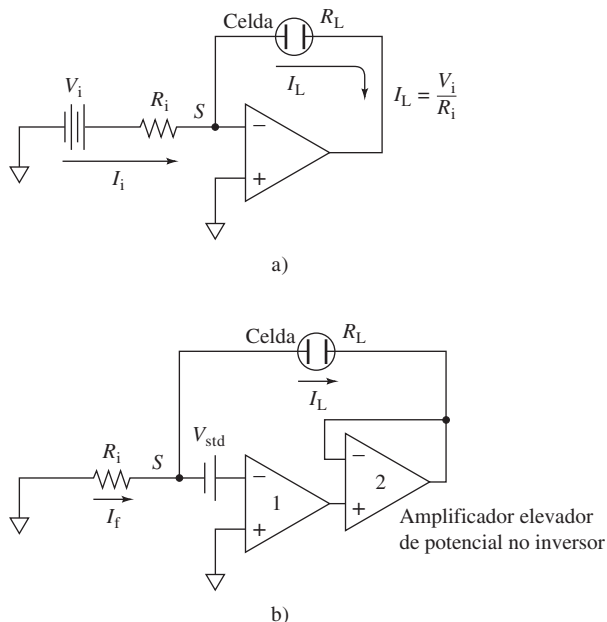


FIGURA 3.15 Fuentes de corriente constante.

Entonces, la corriente será constante e independiente de la resistencia de la celda, siempre que V_i y R_i permanezcan constantes.

La figura 3.15b ilustra un amperostato en el que se utiliza un voltaje estándar V_{std} para conservar una corriente constante. Observe que el amplificador operacional 1 tiene un lazo de retroalimentación negativa que contiene al amplificador operacional 2. Con el fin de cumplir con la condición $v_- = v_+$, el voltaje en el punto de suma S debe ser igual a $-V_{std}$. Más aún, es posible escribir que en S

$$I_i R_i = I_L R_L = -V_{std}$$

Como R_i y V_{std} son constantes en esta ecuación, el amplificador operacional funciona de tal manera que conserva I_L en un nivel constante determinado por R_i .

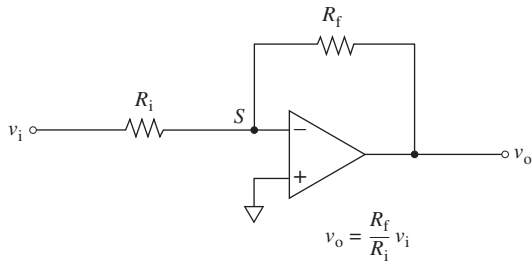
El amplificador operacional 2 de la figura 3.15b es simplemente un seguidor de voltaje que se ha insertado dentro del lazo de retroalimentación del amplificador operacional 1. Al seguidor de voltaje que se usa en esta configuración se le suele llamar *amplificador elevador de potencial no inversor* porque proporciona la intensidad de corriente relativamente grande que podría requerir el amperostato.

3E APLICACIÓN DE AMPLIFICADORES OPERACIONALES A OPERACIONES MATEMÁTICAS

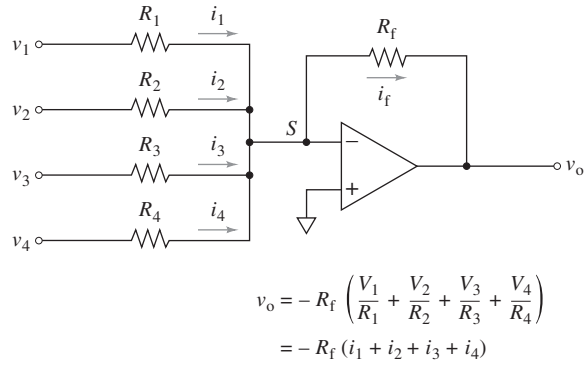
Como se muestra en la figura 3.16, al sustituir con R_i y R_f varios elementos del circuito que se muestra en la figura 3.7 facilita la ejecución de diversas operaciones matemáticas con las señales eléctricas a medida que son generadas por un instrumento analítico. Por ejemplo, los resultados de una columna cromatográfica tienen casi siempre la forma de un pico cuando la señal eléctrica proveniente de un detector se grafica en función del tiempo. Es necesario integrar este pico para determinar su área con el fin de calcular la concentración del analito. El amplificador operacional de la figura 3.16c es capaz de ejecutar esta integración en forma automática y proporciona una señal que es directamente proporcional a la concentración del analito.

3E.1 Multiplicación y división por una constante

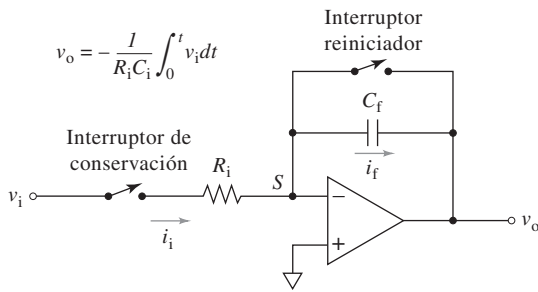
En la figura 3.16a se ilustra la manera en que la señal de entrada v_i se puede multiplicar por una constante cuya magnitud es $-R_f/R_i$. El equivalente a la división entre una constante se tiene cuando el cociente es menor que la unidad.



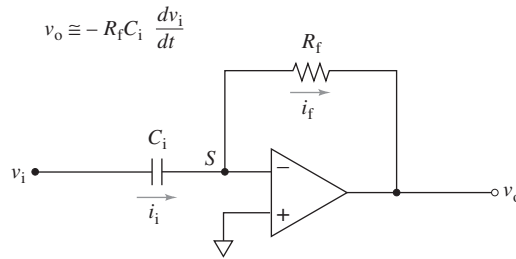
a) Multiplicación o división



b) Adiciones y sustracciones



c) Integración



d) Derivación

FIGURA 3.16 Operaciones matemáticas mediante amplificadores operacionales.

3E.2 Adición y sustracción

En la figura 3.16b se ilustra la manera en que un amplificador operacional produce una señal de salida o resultado que es la suma de varias señales de entrada. Puesto que la impedancia del amplificador es grande y la salida debe proporcionar una corriente i_f suficiente para conservar el punto de suma S en virtual común, es posible escribir

$$i_f = i_1 + i_2 + i_3 + i_4 \quad (3.16)$$

Pero $i_f = -v_o/R_f$, por tanto, también se puede escribir

$$v_o = -R_f \left(\frac{v_1}{R_1} + \frac{v_2}{R_2} + \frac{v_3}{R_3} + \frac{v_4}{R_4} \right) \quad (3.17)$$

Si $R_f = R_1 = R_2 = R_3 = R_4$, el voltaje de salida es la suma de los cuatro voltajes de entrada, pero de signo contrario.

$$v_o = -(v_1 + v_2 + v_3 + v_4)$$

Para determinar el promedio de las cuatro señales, sea $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = 4R_f$. Al sustituir esto en la ecuación 3.17 se tiene

$$v_o = -\frac{R}{4} \left(\frac{v_1}{R} + \frac{v_2}{R} + \frac{v_3}{R} + \frac{v_4}{R} \right)$$

y v_o se vuelve el promedio de las cuatro entradas, como se muestra en la ecuación 3.18.

$$v_o = \frac{-(v_1 + v_2 + v_3 + v_4)}{4} \quad (3.18)$$

De manera similar, se puede obtener un promedio ponderado al variar los cocientes de las resistencias de entrada.

La sustracción se puede ejecutar mediante el circuito de la figura 3.16b: se inserta un inversor con $R_i = R_f$ en serie con uno o más de los resistores. De esta manera cambia el signo de una o más de las entradas. La sustracción ponderada también se realiza variando los cocientes de las resistencias.

3E.3 Integración

En la figura 3.16c se muestra un circuito para integrar una señal de entrada variable v_i respecto al tiempo. Cuando el interruptor reiniciador está abierto y el interruptor de conservación está cerrado,

$$i_i = i_f$$

y el capacitor C_f empieza a cargar. La corriente en el capacitor i_f se obtiene con la ecuación 2.30 o con

$$i_f = -C \frac{dv_o}{dt}$$

De acuerdo con la ley de Ohm la corriente i_i está dada por $i_i = v_i/R_i$. Entonces, se puede escribir

$$\frac{v_i}{R_i} = -C \frac{dv_o}{dt}$$

o bien,

$$dv_o = -\frac{v_i}{R_i C} dt \quad (3.19)$$

Luego se integra la ecuación 3.19 para obtener una ecuación para el voltaje de salida v_o

$$\int_{v_{o1}}^{v_{o2}} dv_o = -\frac{1}{R_i C} \int_{t_1}^{t_2} v_i dt \quad (3.20)$$

o bien,

$$v_{o2} - v_{o1} = -\frac{1}{R_i C} \int_{t_1}^{t_2} v_i dt \quad (3.21)$$

Por lo general, la integral se obtiene al abrir primero el interruptor de conservación y cerrando el interruptor reiniciador para descargar el capacitor, que es lo mismo que hacer $v_{o1} = 0$ cuando $t_1 = 0$. La ecuación 3.21 se simplifica para obtener

$$v_o = -\frac{1}{R_i C} \int_0^t v_i dt \quad (3.22)$$

Para iniciar la integración, el interruptor reiniciador se abre y se cierra el interruptor de conservación. La integración se detiene en el tiempo t al abrir el interruptor de conservación. La integral para el periodo de 0 a t es v_o .

3E.4 Derivación

La figura 3.16d es un circuito básico para la derivación que es útil cuando la razón de cambio respecto al tiempo de una cantidad experimental es la variable de interés. Observe que difiere del circuito de integración sólo en lo que respecta a las posiciones de C y R que están invertidas. Si se procede como en la deducción anterior, se escribe

$$C \frac{dv_i}{dt} = -\frac{v_o}{R_f}$$

o bien,

$$v_o = -R_f C \frac{dv_i}{dt} \quad (3.23)$$

De hecho, el circuito que se muestra en la figura 3.16d no es práctico en muchas aplicaciones químicas, en las que la tasa de cambio en la señal del transductor suele ser baja. Por ejemplo, la derivación es útil para trabajar con los datos de una titulación potenciométrica. En este caso, el cambio del potencial que interesa se presenta en un periodo de un segundo o más ($f \leq 1$ Hz). La señal de entrada contendrá componentes extraños de 60-, 120- y 240-Hz (véase la figura 5.3), que son inducidos por la fuente de alimentación ca. Además, se observan a menudo fluctuaciones de la señal que resultan de la mezcla incompleta de las soluciones del reactivo y del analito. Casi siempre, la razón de cambio de estos componentes de ruido es más rápida que la de los componentes de la señal de interés.

Este problema se podría resolver en parte conectando en paralelo una capacitancia C_f pequeña en el circuito de retroalimentación y un resistor R_i , pequeño también, en serie en el circuito de entrada para filtrar los voltajes de alta frecuencia. Estos elementos añadidos se mantienen lo suficientemente bajos de modo que no se atenúe de manera importante la señal analítica. En general, los derivadores son circuitos que amplifican el ruido, en tanto que los integradores analógicos suavizan o promedian el ruido. Por tanto, los segundos se utilizan más que los primeros. Si se requiere derivar una señal, se hace en forma digital, como se explica en el capítulo 5.

3E.5 Generación de logaritmos y de antilogaritmos

Si se incorpora un transistor externo al circuito de un amplificador operacional se facilita la generación de voltajes de salida que son el logaritmo o el antilogaritmo del voltaje de entrada, lo cual depende del circuito. Los circuitos de amplificador operacional de esta clase dependen mucho de la frecuencia y de la temperatura, y son exactos sólo a un porcentaje bajo. Además, están limitados a una o dos decenas de voltaje de entrada. En el comercio se pueden adquirir módulos de compensación de temperatura y de frecuencia para generar logaritmos y antilogaritmos con exactitudes de unas pocas décimas de porcentaje. Estos circuitos se usaron en el pasado para producir señales proporcionales a la absorbancia en los espectrofotómetros y para comprimir datos. En la actualidad, los logaritmos y los antilogaritmos se calculan en forma numérica mediante computadoras y ya no se usan amplificadores operacionales.



Simulación: aprenda más acerca de **integradores y derivadores**.

3F AMPLIFICADORES OPERACIONALES COMO COMPARADORES

Otra importante aplicación ampliamente extendida de los amplificadores operacionales es la comparación entre señales analógicas. Dichos circuitos están incorporados en una gran variedad de dispositivos, como circuitos de muestreo, circuitos para la detección de picos, temporizadores analógicos, circuitos diseñados para generar niveles limitados de señales y circuitos en la interfase del límite entre los dominios digital y analógico. El modo de comparador de los amplificadores operacionales se presentó en la sección 3B.1. En la figura 3.17a y b se muestran dos circuitos comparadores elementales y su respuesta de salida frente a los voltajes de entrada. En el circuito en a), el voltaje de entrada se compara con el circuito básico, y en b) la comparación se hace con un voltaje de referencia V_{ref} .

El circuito de la figura 3.17a se llama *detector de paso por cero* porque el signo del voltaje de salida indica si el voltaje de entrada es mayor o menor que cero (respecto al circuito básico). Si $v_i > 0$ por más de unos cuantos microvoltios, la salida está en un límite negativo. Si $v_i < 0$ por unos microvoltios, v_o está en un límite positivo. Puesto que la respuesta del amplificador es muy rápida, este detector se puede utilizar para transformar una señal sinusoidal en una señal de onda cuadrada, como se muestra en las ondas de la parte derecha. Cada vez que la onda seno pasa por cero, el comparador cambia de estado. Dichos circuitos se usan con frecuencia para activar un osciloscopio. Un detector de paso por cero no inversor se puede hacer conectando la señal de la onda seno a la entrada no inversora y la entrada inversora al circuito básico.

En la figura 3.17b, la comparación se hace entre v_i y V_{ref} . Si $v_i > V_{\text{ref}}$, la salida está en un límite positivo, en tanto que se alcanza el límite opuesto cuando $v_i < V_{\text{ref}}$. A menudo, a este tipo de comparador se le llama *detector de niveles*. Por ejemplo, se puede utilizar para determinar si la salida de un transductor ha excedido cierto nivel. Como se puede ver en la figura 3.17b, el

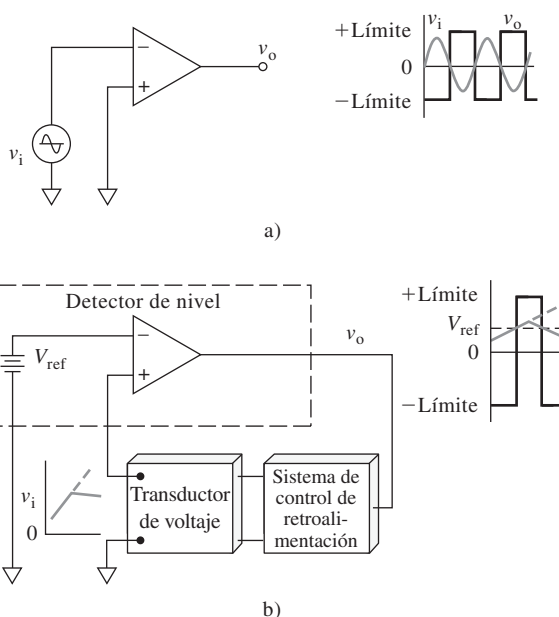


FIGURA 3.17 a) Amplificador operacional detector de paso por cero y b) detector de nivel.

detector de nivel puede formar parte de un sistema de control de retroalimentación. En un proceso químico, este detector se podría aplicar para determinar cuándo la temperatura ha excedido un valor crítico y suministrar un refrigerante, o determinar cuándo el pH está por abajo de cierto valor y es necesario suministrar una base. El detector de niveles se usa también en los circuitos que activan un osciloscopio.

Aunque se puede usar cualquier amplificador operacional en el modo de comparador, se dispone de amplificadores especiales cuya ganancia es alta ($>10^6$) y tiempos de subida muy rápidos. Estos *comparadores* especializados se usan mucho en interfases para computadoras y otras aplicaciones de conmutación.



Simulación: aprenda más acerca de los **comparadores**.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

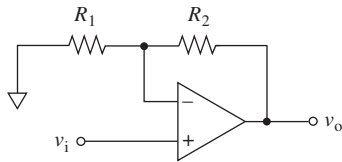
*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

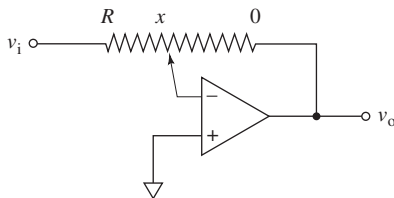
- *3.1** Los límites del voltaje de salida de un amplificador operacional son de +13 V y -14 V cuando se usa con una alimentación de ± 15 V. Si el amplificador se utiliza como comparador, en qué cantidad v_+ debe superar a v_- y en cuánto debe exceder v_- a v_+ para que el amplificador esté en el límite si la ganancia de lazo abierto A es
- 200 000
 - 500 000
 - 1.5×10^6

- *3.2** La relación de rechazo de modo común es importante para los comparadores y otros amplificadores de diferencias. Si el voltaje de salida cambia en 10 V para una diferencia de voltaje de entrada v_s de 500 μV , y en 1.0 V para un voltaje de entrada en el modo común de 500 mV, ¿cuál es la relación de rechazo en el modo común del amplificador?
- *3.3** En el caso de un comparador cuyos límites de voltaje de salida son de $\pm 13\text{ V}$, ¿cuál debería ser la ganancia en lazo abierto A para que se conserve un valor absoluto del voltaje de diferencia $|v_s| \leq 5.0\text{ }\mu\text{V}$?
- *3.4** Se usa un amplificador operacional con una ganancia de 1.0×10^5 y una resistencia de entrada de 1.0×10^{12} en el circuito seguidor de voltaje de la figura 3.5. Se tiene que medir una fuente de voltaje de 2.0 V y resistencia interna de 10.0 k Ω . Determine el error relativo porcentual en el voltaje de salida del seguidor debido a a) la ganancia finita del amplificador y b) la carga de la fuente de voltaje.
- 3.5** Demuestre que el voltaje de salida v_o y el voltaje de entrada v_i del circuito siguiente están relacionados mediante $v_o = v_i \left(\frac{R_1 + R_2}{R_1} \right)$.



¿Por qué a este circuito se le llama seguidor de voltaje con ganancia?

- *3.6** Para el circuito que se muestra en el problema 3.5, se desea que $v_o = 3.5v_i$. Si la resistencia total $R_1 + R_2$ es igual a 10.0 k Ω , calcule los valores pertinentes de R_1 y R_2 .
- 3.7** En el circuito siguiente, R es un resistor variable. Deduzca una ecuación que describa a v_o en función de v_i y la posición x del contacto móvil del divisor de voltaje. Plantee la deducción de tal modo que x sea cero si hay resistencia cero en el lazo de retroalimentación.

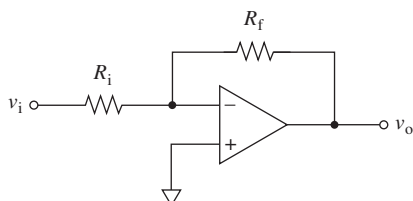


- 3.8** Un amplificador operacional que se usará en un seguidor de corriente tiene una ganancia en lazo abierto A de 2×10^5 y una corriente polarizada de entrada de 2.5 nA.
- Diseñe un seguidor de corriente que produzca una salida de 1.0 V para una corriente de entrada de 10.0 μA .
 - ¿Cuál es la resistencia de entrada efectiva del seguidor de corriente que diseñó en el inciso a)?
 - ¿Cuál es el error relativo porcentual para el circuito que diseñó en el inciso a) para una corriente de entrada de 25 μA ?
- 3.9** Se usará un amplificador operacional en la configuración de amplificador inversor cuya ganancia en lazo abierto es $A = 1.0 \times 10^5$, corriente polarizada de entrada

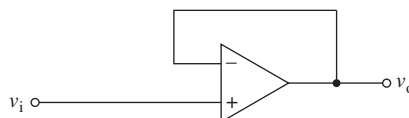
de 5.0 nA, un intervalo de voltaje de salida lineal de ± 10 V, y resistencia de entrada de $1.0 \times 10^{12} \Omega$.

- Diseñe un amplificador inversor con una ganancia de 25 tal que la resistencia de entrada R_i sea 10 k Ω .
- Determine el intervalo de los valores de voltaje de entrada que se pueden usar en el amplificador que diseñó en a).
- Determine la resistencia de entrada del amplificador inversor que diseñó en a).
- ¿Cómo podría evitar un error de carga si la fuente de voltaje estuviera cargada por la resistencia de entrada que determinó en c)?

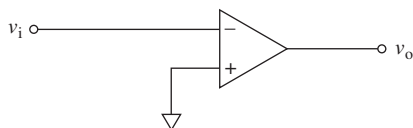
3.10 En la entrada de los siguientes circuitos se alimenta un voltaje de onda seno de baja frecuencia. Grafique la salida que espera de cada uno de ellos.



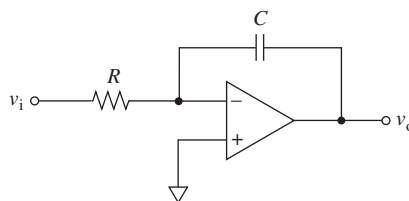
a)



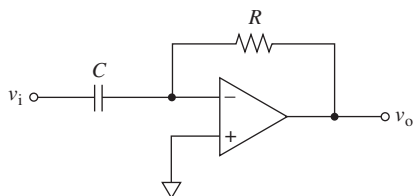
b)



c)



d)



e)

***3.11** Calcule la tasa de respuesta y el tiempo de subida para un amplificador operacional con ancho de banda de 50 MHz en el cual la salida cambia por 10 V.

3.12 Diseñe un circuito que tenga una salida dada por

$$-V_o = 3V_1 + 5V_2 - 6V_3$$

3.13 Diseñe un circuito para calcular el valor promedio de los tres voltajes de entrada multiplicados por 1000.

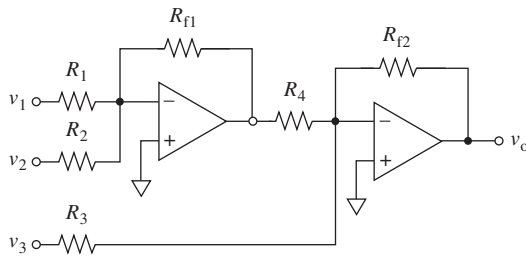
3.14 Diseñe un circuito que ejecute la operación siguiente:

$$-V_o = \frac{1}{10}(5V_1 + 3V_2)$$

3.15 Diseñe un circuito que desempeñe la siguiente función:

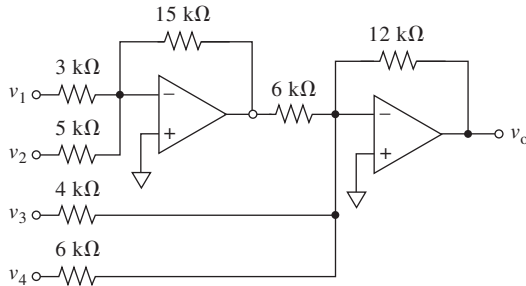
$$V_o = -4V_1 - 1000I_1$$

***3.16** Para el siguiente circuito

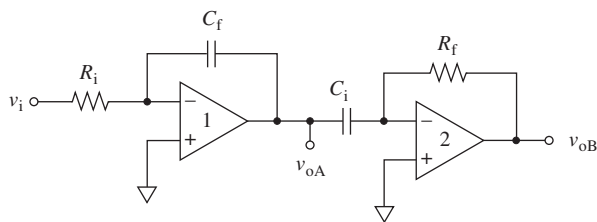


- Escriba una expresión que proporcione el voltaje de salida en función de los tres voltajes de entrada y las distintas resistencias.
- Señale la operación matemática que ejecuta el circuito cuando $R_1 = R_{f1} = 200 \text{ k}\Omega$; $R_4 = R_{f2} = 400 \text{ k}\Omega$; $R_2 = 50 \text{ k}\Omega$; $R_3 = 10 \text{ k}\Omega$.

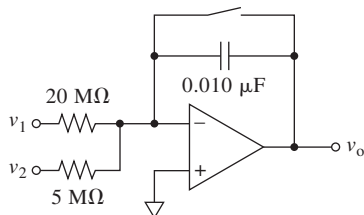
3.17 Demuestre la relación algebraica entre el voltaje de salida y el voltaje de entrada para el siguiente circuito:



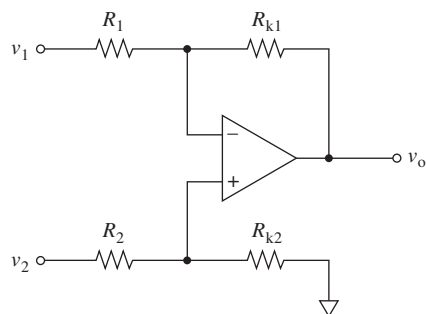
3.18 En el caso del siguiente circuito elabore un esquema de las salidas en v_{oA} y v_{oB} si la entrada es inicialmente cero, pero se cambia a un voltaje positivo constante en el tiempo cero.



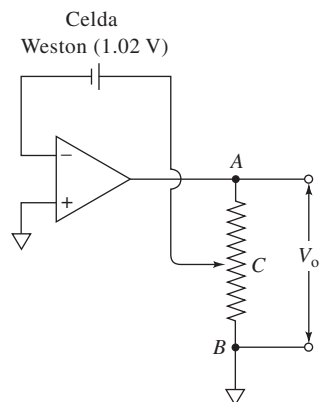
3.19 Deduzca una expresión para el voltaje de salida del circuito siguiente:



3.20 Demuestre que cuando las cuatro resistencias son iguales, el circuito siguiente se vuelve un circuito de sustracción.



- *3.21** La resistencia de hilo lineal AB del circuito que se muestra mide 100 cm de longitud. ¿En qué parte se debe colocar C para que proporcione exactamente 3.00 V en V_o ? El voltaje de la celda Weston es 1.02 V.



- 3.22** Diseñe un circuito que produzca la siguiente salida:

$$v_o = 4.0 \int_0^t v_1 dt + 5.0 \int_0^t v_2 dt$$

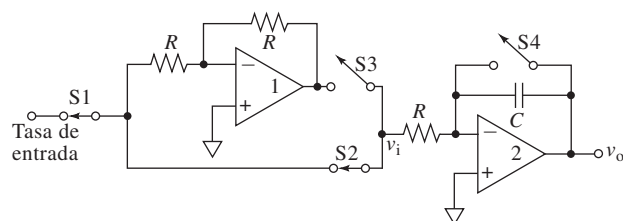
- 3.23** Diseñe un circuito que produzca la siguiente salida:

$$v_o = 2.0 \int_0^t v_1 dt - 6.0(v_2 + v_3)$$

- 3.24** Grafique el voltaje de salida de un integrador 1, 3, 5 y 7 s después de iniciar la integración si el resistor de entrada es de $2.0 \text{ M}\Omega$, el capacitor de retroalimentación es de $2.0 \text{ M}\Omega$, F y el voltaje de entrada es de $0.25 \text{ }\mu\text{F}$, y el voltaje de entrada es de 4.0 mV .

Problemas de reto

- 3.25** El siguiente circuito es un derivador tipo integrador basado en un circuito que se describió originalmente en E. M. Cordos, S. R. Crouch y H. V. Malstadt, *Anal. Chem.*, 1968, 40, pp. 1812-1818. American Chemical Society.



- a) ¿Cuál es la función del amplificador operacional 1?
- b) ¿Qué función ejecuta el amplificador operacional 2?
- c) Suponga que la señal de entrada es un voltaje que se incrementa linealmente y la tasa de cambio de esta señal es la que interesa. Durante el primer periodo Δt_1 , los interruptores S1 y S2 están cerrados y el interruptor S4 se abre. Describa y grafique la salida v_o durante este intervalo Δt_1 .
- d) Durante un segundo periodo consecutivo y de la misma duración $\Delta t_2 = \Delta t_1 = \Delta t$, el interruptor S2 se abre y se cierra el S3. Ahora describa y grafique la salida v_o durante este segundo intervalo.
- e) Al final del segundo intervalo el interruptor S1 se abre y desconecta la señal de entrada. Demuestre que el voltaje de salida v_o al final del ciclo de medición es

$$v_o = k \times \text{tasa de entrada}$$

- f) ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de este circuito en comparación con el amplificador operacional derivador de la figura 3.16d?
- g) ¿Qué sucedería si la señal de entrada cambiara de pendiente durante la medición del ciclo?
- h) ¿Cuál sería el resultado si los dos intervalos de tiempo no fueran consecutivos y estuvieran separados por un retraso Δt_3 ?
- i) ¿Cuál sería el resultado si los dos intervalos de tiempo fueran distintos?
- j) El circuito mostrado con intervalos consecutivos fue la base de varios medidores de velocidad que se usan en instrumentos para medir la cinética de las enzimas. El tiempo de medición total para estos instrumentos es $2\Delta t$. Reflexione por qué se desea que $2\Delta t$ sea tan largo como sea posible. Al medir la cinética de las enzimas, ¿qué limitaciones se podrían plantear si el tiempo de medición es demasiado grande? Recomendación: refiérase al inciso g).

Electrónica digital y computadoras

Este capítulo constituye una herramienta más para el estudio y el uso posterior de sistemas instrumentales modernos. Los objetivos son 1) proporcionar un breve panorama de cómo la información digital se puede codificar, 2) presentar algunos de los componentes elementales de los circuitos digitales y las microcomputadoras, 3) describir algunas de las relaciones más comunes entre instrumentos y computadoras y 4) mostrar la manera en que se usan las computadoras y los programas en un laboratorio analítico.

El índice de crecimiento de los adelantos técnicos en la electrónica, los instrumentos y las computadoras es casi incomprensible.¹ Fue a mediados de los años sesenta del siglo XX cuando empezaron a aparecer por primera vez las computadoras en los laboratorios de química, pero eran muy caras y difíciles de programar y usar. El surgimiento de la microcomputadora en los años setenta ocasionó que aumentaran sus aplicaciones en el laboratorio de química y en los instrumentos químicos. Pero fue el surgimiento de las computadoras personales (PC), producidas en serie y baratas, con su conjunto de dispositivos periféricos, lo que suscitó cambios revolucionarios en el modo en que trabajaban los científicos. En la actualidad las computadoras están presentes en casi todos los instrumentos de laboratorio. Además, los científicos tienen en su escritorio una computadora que cuenta con conexión de alta velocidad a Internet y a otras computadoras de su institución. Las computadoras se usan ahora no sólo para cálculos científicos (simulaciones, cálculos teóricos, elaboración de modelos, adquisición y análisis de datos, construcción de gráficas y control de experimentos), sino también para elaborar manuscritos, imágenes, compartir documentos y comunicarse con colegas y oficinas que proporcionan fondos.

Es importante que el científico de hoy entienda las ventajas y las limitaciones que tienen los modernos dispositivos electrónicos y las computadoras. Aunque es imposible, y quizá no sea lo mejor, que todos los químicos tengan conocimientos de electrónica y computadoras en el nivel de diseño, el perfeccionamiento de módulos de circuitos integrados de alto funcionamiento y de piezas para la adquisición de datos permite un acercamiento conceptualmente directo, de arriba hacia abajo, al establecimiento de la tecnología electrónica y de las computadoras. Desde un punto de vista de arriba hacia abajo se tiene la perspectiva de que un instrumento es una colección de módulos funcionales que se pueden representar como bloques en un diagrama similar al que se ilustra en las figuras 4.2, 4.4 y 4.5. De esta manera, es posible conseguir medidas fisicoquímicas muy complejas mediante la conexión de módulos funcionales, circuitos integrados o computadoras en el orden apropiado. Por lo regular no es necesario contar con el conocimiento detallado del diseño interno de cada uno de los componentes de un sistema instrumental. Además de facilitar el proceso de aprendizaje, la visión de arriba hacia abajo ayuda a diagnosticar el mal funcionamiento del sistema y la aplicación inteligente de los sistemas instrumentales para resolver problemas químicos.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad de estudiar en línea en <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, que lo enlaza con clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

¹ Por ejemplo, refiérase a S. R. Crouch y T. V. Atkinson, "The Amazing Evolution of Computerized Instruments", en *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 596A; P. E. Ceruzzi, *A History of Modern Computing*, Cambridge, MA: MIT Press, 1998.

Los circuitos digitales ofrecen importantes ventajas en comparación con sus equivalentes analógicos. Por ejemplo, son menos susceptibles al ruido ambiental, por lo que las señales codificadas en forma digital se pueden transmitir con un alto grado de integridad. Además, las señales digitales se pueden transmitir directamente a las computadoras digitales, lo cual quiere decir que los programas de las computadoras se pueden usar para extraer información de las señales de salida de los instrumentos químicos.²

4A SEÑALES ANALÓGICAS Y DIGITALES

Como se estableció en el capítulo 1, la información química se codifica en *dominios digitales, analógicos o de tiempo*. Un ejemplo de un fenómeno discreto en un dominio no eléctrico que podría pasar con facilidad al dominio digital es la energía radiante que se produce en la desintegración de las especies radiactivas. En este caso la información consta de una serie de pulsos o impulsos de energía que se produce con la desintegración de cada átomo. Estos impulsos se pueden convertir en un dominio eléctrico si se utiliza un transductor de entrada apropiado, primero como impulsos analógicos y luego como impulsos digitales que se puedan contar. La información resultante se puede interpretar y manipular como un número entero de desintegraciones, lo cual es una forma de información no eléctrica.

Es importante apreciar que el discernimiento acerca de si una señal resultante de un fenómeno químico es continua o discreta puede depender de su intensidad y de la manera en que es observada. Por ejemplo, la radiación de color amarillo que producen los iones de sodio al calentarse en una llama se mide con frecuencia con un fototransductor, el cual transforma la energía radiante en una corriente analógica que varía en forma continua en un intervalo considerable. No obstante, con una intensidad de radiación baja, un transductor de diseño adecuado puede responder a cada fotón. Esto origina una señal consistente en una serie de impulsos analógicos que se convierten en impulsos digitales y luego se cuentan.

A menudo, en los instrumentos modernos, una señal analógica —como la que se muestra en la figura 4.1a— se transforma en una digital (figura 4.1b) tomando muestras y registrando la salida analógica a intervalos regulares de tiempo. En una sección pos-

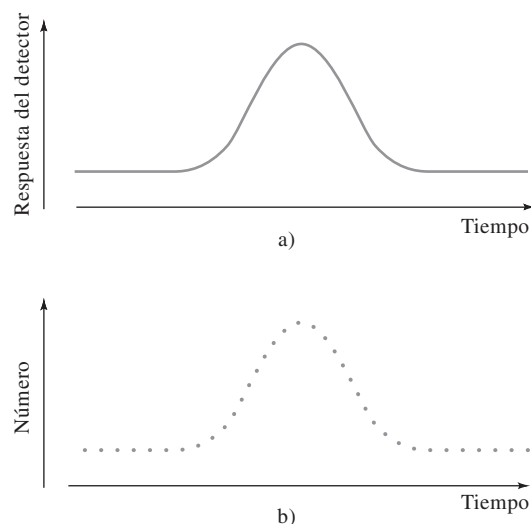


FIGURA 4.1 Gráficas de la respuesta del detector contra tiempo para la misma señal en a) un dominio analógico y b) un dominio digital.

terior se analiza cómo se logra dicha transformación mediante un *convertidor de señales analógicas en digitales* (ADC, por sus siglas en inglés).

4B CONTEO Y CÁLCULOS ARITMÉTICOS CON NÚMEROS BINARIOS

En un proceso de medición digital común se utiliza un contador electrónico de alta velocidad para hacer un conteo de todos los hechos que ocurren dentro de un conjunto de condiciones limitantes. Entre los ejemplos de dichas señales están la cantidad de fotones o de partículas alfa producto de la desintegración que emite un analito por segundo, el número de gotas de titulante o la cantidad de etapas de un motor que se utiliza para añadir reactivo contenido en una jeringa. Entre las condiciones límite podría estar un intervalo de tiempo como un segundo, lo cual proporciona la frecuencia de la señal en hertz, o bien, un cambio dado en una variable experimental, como el pH, la absorbancia, la corriente o el voltaje.

El conteo de dichas señales en forma electrónica requiere primero convertirlas en señales digitales para que proporcionen una serie de impulsos de igual voltaje, compatible con los circuitos digitales del contador. Después, el contador transforma los impulsos en un número binario para que los procese una computadora o en un número decimal para que se puedan representar en una pantalla. El conteo electrónico se ejecuta con números decimales codificados en binario o con números binarios. En ambos esquemas de codificación se requieren sólo dos dígitos, el 0 y el 1, para representar cualquier número. En muchos contadores electrónicos, el 0 se representa mediante una señal de alrededor de 0 V y el 1 casi siempre por un voltaje

²Si desea mayor información consulte H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, Washington, DC: American Chemical Society, 1994; A. J. Diefenderfer y B. E. Holton, *Principles of Electronic Instrumentation*, 3a. ed., Philadelphia: Saunders, 1994; K. L. Ratzlaff, *Introduction to Computer Assisted Experimentation*, Nueva York: Wiley, 1987; S. C. Gates y J. Becker, *Laboratory Automation Using the IBM-PC*, Nueva York: Prentice-Hall, 1989.

de 5 V. Es importante tener en cuenta que estos niveles de voltaje dependen de los adelantos técnicos actuales y son diferentes para las distintas familias lógicas. Por ejemplo, muchas de las computadoras más modernas usan internamente 3 V para representar al 1 y 0 V para el 0.

4B.1 El sistema binario

Cada uno de los dígitos del sistema numérico decimal representa el coeficiente de alguna potencia de 10. Por tanto, el número 3076 se puede expresar como

$$\begin{array}{rcl}
 3 & 0 & 7 & 6 \\
 | & | & | & | \\
 \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\
 3 \times 10^3 & 0 \times 10^2 & 7 \times 10^1 & 6 \times 10^0 \\
 = 3000 & = 0000 & = 0070 & = 0006 \\
 \hline
 \text{Suma} & = & 3076
 \end{array}$$

De igual manera, cada dígito del sistema de números binarios corresponde a un coeficiente de una potencia de 2.

4B.2 Conversión de números binarios y números decimales

En la tabla 4.1 se ilustra la relación entre algunos números decimales y binarios. Los ejemplos que siguen ejemplifican los métodos de conversión entre los dos sistemas.

EJEMPLO 4.1

Convierta el número binario 101011 en un número decimal.

Solución

Los números binarios se expresan en función de la base 2. Entonces,

$$\begin{array}{rcl}
 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 \\
 | & | & | & | & | & | \\
 \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\
 1 \times 2^5 & 0 \times 2^4 & 1 \times 2^3 & 0 \times 2^2 & 1 \times 2^1 & 1 \times 2^0 \\
 = 32 & = 0 & = 8 & = 0 & = 2 & = 1 \\
 \hline
 \text{Suma} & = & 43
 \end{array}$$

TABLA 4.1 Relación entre algunos números decimales y números binarios.

Número decimal	Representación binaria
0	0
1	1
2	10
3	11
4	100
5	101
6	110
7	111
8	1000
9	1001
10	1010
12	1100
15	1111
16	10000
32	100000
64	1000000

EJEMPLO 4.2

Convierta 710 en un número binario.

Solución

Como primer paso, se determina la máxima potencia de 2 que es menor que 710. Entonces, como $2^{10} = 1024$,

$$2^9 = 512 \quad \text{y} \quad 710 - 512 = 198$$

El proceso se repite para 198:

$$2^7 = 128 \quad \text{y} \quad 198 - 128 = 70$$

Se continúa de esta manera y encuentra que

$$2^6 = 64 \quad \text{y} \quad 70 - 64 = 6$$

$$2^2 = 4 \quad \text{y} \quad 6 - 4 = 2$$

$$2^1 = 2 \quad \text{y} \quad 2 - 2 = 0$$

El número binario se determina de la siguiente manera:

$$\begin{array}{cccccccc}
 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \\
 2^9 & - & 2^7 & 2^6 & - & - & - & 2^2 & 2^1 & -
 \end{array}$$

Vale la pena hacer notar que en el sistema de numeración binario, el dígito binario, o *bit*, que queda más a la derecha en un número se llama *bit menos significativa*.



Asesorías interactivas: aprenda más acerca de los **binarios y del sistema decimal codificado en binario**.

tivo (LSB, por sus siglas en inglés), y el que está más a la izquierda es el *bit más significativo* (MSB, por sus siglas en inglés).

4B.3 Cálculos con números binarios

Los cálculos son similares, pero más sencillos que con los números decimales. En el caso de la suma, sólo hay cuatro combinaciones posibles:

$$\begin{array}{r} 0 \\ +0 \\ \hline 0 \end{array} \quad \begin{array}{r} 0 \\ +1 \\ \hline 1 \end{array} \quad \begin{array}{r} 1 \\ +0 \\ \hline 1 \end{array} \quad \begin{array}{r} 1 \\ +1 \\ \hline 10 \end{array}$$

Observe que en la última suma, se lleva un 1 a la siguiente potencia más alta de 2. Por lo que se refiere a la multiplicación,

$$\begin{array}{r} 0 \\ \times 0 \\ \hline 0 \end{array} \quad \begin{array}{r} 0 \\ \times 1 \\ \hline 0 \end{array} \quad \begin{array}{r} 1 \\ \times 0 \\ \hline 0 \end{array} \quad \begin{array}{r} 1 \\ \times 1 \\ \hline 1 \end{array}$$

El ejemplo siguiente ilustra el uso de estas operaciones.

EJEMPLO 4.3

Ejecute las siguientes operaciones con números binarios: a) $7 + 3$, b) $19 + 6$, c) 7×3 y d) 22×5 .

Solución

$$\begin{array}{lcl} \text{a)} & \begin{array}{r} 7 \\ +3 \\ \hline 10 \end{array} & \begin{array}{r} 111 \\ +11 \\ \hline 1010 \end{array} \\ \text{b)} & \begin{array}{r} 19 \\ +6 \\ \hline 25 \end{array} & \begin{array}{r} 10011 \\ +110 \\ \hline 11001 \end{array} \\ \text{c)} & \begin{array}{r} 7 \\ \times 3 \\ \hline 21 \end{array} & \begin{array}{r} 111 \\ \times 11 \\ \hline 111 \\ 111 \\ \hline 10101 \end{array} \\ \text{d)} & \begin{array}{r} 22 \\ \times 5 \\ \hline 110 \end{array} & \begin{array}{r} 10110 \\ \times 101 \\ \hline 10110 \\ 00000 \\ 10110 \\ \hline 1101110 \end{array} \end{array}$$

Note que la operación de llevar es similar a la del sistema decimal. Por tanto, en a) la suma de dos 1 en la columna derecha es igual a 0 más 1 para llevar a la columna siguiente. En el caso de la suma de los tres 1 es 1 más 1 que se lleva a la columna siguiente. Para finalizar, lo que se lleva se combina con el 1 de la columna siguiente para tener 0 más 1 como el dígito más significativo.

4B.4 Sistema decimal codificado en binario (DCB)

En este sistema de números decimales codificados en el sistema binario (DCB), los bits se acomodan en grupos de cuatro para representar cada uno de los números decimales del 0 al 9. Cada grupo de cuatro bits representa un dígito decimal de un número. Este sistema DCB es lo mismo que los binarios normales para los numerales de 0 a 9. Por ejemplo, en el número 97, el nueve se podría representar por los cuatro bits binarios 1001 y el siete por los cuatro bits 0111, de tal manera que 1001 0111 en el DCB representaría al 97_{10} . En la tabla 4.2 se representan varios números decimales tanto en codificación binaria como en el sistema DCB para mostrar las diferencias.

4C CIRCUITOS DIGITALES ELEMENTALES

La figura 4.2 es un diagrama de bloques de un instrumento con el que se cuenta la cantidad de impulsos eléctricos que se reciben por unidad de tiempo desde un transductor. La señal de voltaje desde el transductor primero pasa a un modelador que elimina las pequeñas señales de fondo y convierte los impulsos de la señal mayor en impulsos cuadrados que tienen la misma frecuencia que la señal de entrada. La señal resultante es la entrada a una compuerta que es abierta por un reloj interno que proporciona un lapso preciso t durante el cual se permite que los impulsos de entrada se acumulen en el contador. Para finalizar, la salida DCB del contador se decodifica y se presenta como un número decimal.

TABLA 4.2 Comparación entre números binarios y el sistema DCB para varios números decimales.

Número decimal	Equivalente binario								Equivalente DCB		
	2^7 (128)	2^6 (64)	2^5 (32)	2^4 (16)	2^3 (8)	2^2 (4)	2^1 (2)	2^0 (1)	Centenas	Decenas	Unidades
83	0	1	0	1	0	0	1	1	0000	1000	0011
97	0	1	1	0	0	0	0	1	0000	1001	0111
135	1	0	0	0	0	1	1	1	0001	0011	0101
198	1	1	0	0	0	1	1	0	0001	1001	1000
241	1	1	1	1	0	0	0	1	0010	0100	0001

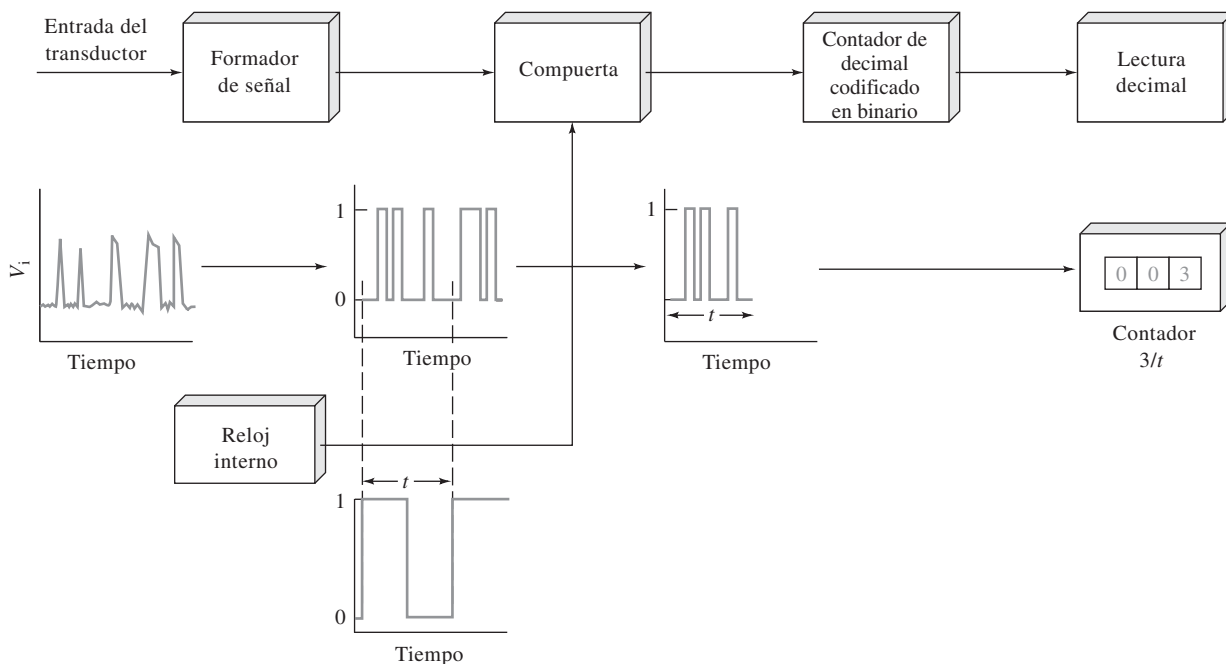


FIGURA 4.2 Contador que determina los pulsos de voltaje por segundo.

4C.1 Formadores de señal

En la figura 4.3a se ilustra el circuito de un formador de señales representativo. Consta de un comparador de voltajes para transformar la señal de entrada en ondas de forma rectangular que se muestran en la figura 4.3c. Como se puede ver en la figura 3.17b, la salida de un comparador está en límite+ o límite-. Con frecuencia, estos dos niveles reciben el nombre de *niveles lógicos*. Los comparadores de los circuitos integrados comerciales se diseñan de tal manera que sus salidas tengan límites de 0 V (nivel lógico LO) o 5 V (nivel lógico HI). Por lo regular, el nivel HI se escoge para que represente al binario 1 y el nivel LO represente al binario 0, como se muestra en las figuras 4.2 y 4.3. Estos niveles lógicos HI y LO son compatibles con los más modernos circuitos integrados digitales. Como se ve en las figuras 4.3b y c, cuando el voltaje de entrada v_i del comparador es mayor que el voltaje de referencia V_{ref} , la salida es HI (nivel lógico 1). Por otro lado, cuando v_i es menor que V_{ref} , la salida es LO (nivel lógico 0). Observe que el comparador responde sólo a señales mayores que V_{ref} e ignora la fluctuación en la señal de fondo siempre y cuando el ruido de la señal o cualquier fluctuación de fondo sea suficientemente pequeña para que la señal permanezca por abajo de V_{ref} . A menudo, un comparador que se utiliza para dar forma a la señal se llama *discriminador*.

4C.2 Contadores binarios y DCB

Hay contadores binarios y DCB en la forma de circuitos integrados para contar los impulsos eléctricos. De hecho, el sistema de conteo completo que se ilustra en la figura 4.2 se puede adquirir en un solo circuito integrado. Aunque se muestra un contador DCB, también hay sistemas de conteo binarios. En el interior del chip de un contador binario los circuitos consisten en interruptores o conmutadores electrónicos que poseen sólo dos estados lógicos posibles, HI y LO, o 1 y 0. Cada circuito se puede usar para representar un bit de un número binario (o el coeficiente de una potencia de 2). Dos circuitos pueden tener cuatro salidas posibles: 0/0, 0/1, 1/0 y 1/1. Se puede demostrar fácilmente que tres de dichos circuitos tienen ocho combinaciones distintas y cuatro tienen 16. Por tanto, n circuitos tienen 2^n combinaciones de salidas diferentes. Si se usa una cantidad suficiente de etapas de circuitos, la cantidad de bits significativos en un conteo puede ser tan grande como se quiera. Entonces, ocho etapas tienen 256 estados, lo cual permitiría contar desde 0 hasta 255. Con frecuencia, los circuitos de conteo tienen un error de ± 1 de modo que ocho etapas binarias proporcionarían una cuenta que tiene una exactitud de 1 parte en 256, mejor que 0.5% relativo.

Los contadores DCB se acomodan de tal modo que en la décima cuenta se envíe un pulso a la siguiente

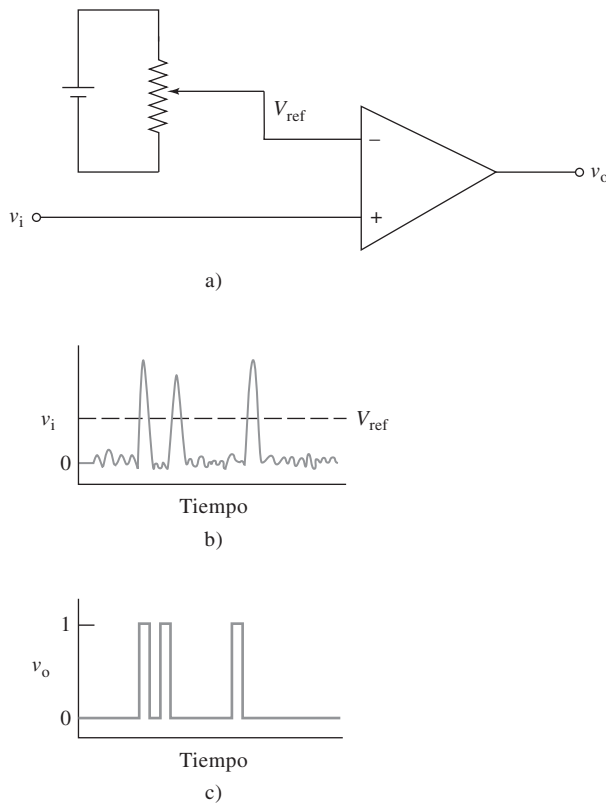


FIGURA 4.3 Un formador de señal: a) circuito, b) señal de entrada, c) señal de salida.

decena de una *unidad de conteo de decenas*, y se establece que la primera decena sea cero. Se pueden adquirir contadores con 10 decenas de conteo.

Los contadores están elaborados con circuitos *basculantes*. Éstos se usan en diversos contadores para cambiar los niveles de salida siempre que la señal de entrada cambie desde el nivel lógico 1 al 0; *no hay ningún cambio en la salida* cuando el cambio de entrada es de 0 a 1. Los circuitos basculantes son también circuitos integrados hechos de una combinación apropiada de diodos, resistores y transistores. En los contadores de circuito integrado están reunidos varios circuitos basculantes en un solo microprocesador para formar el contador, y en los sistemas de conteo con circuitos integrados están incorporados un solo microprocesador, un contador, una compuerta, un reloj y un dispositivo en el que se puede leer el resultado. Los circuitos basculantes del circuito integrado son ejemplos de la *integración en pequeña escala* (SSI, por sus siglas en inglés), y los sistemas de conteo completos son ejemplos de la *integración a gran escala* (LSI, por sus siglas en inglés).



Simulación: aprenda más acerca de los **contadores**.

4C.3 Mediciones de conteo

Contar es una de las formas más confiables de medir. Como se menciona en la sección 4B, siempre se cuentan hechos que suceden dentro de un conjunto de condiciones límite, por ejemplo, el tiempo por cada 100 m, la cantidad de manzanas en una canasta, impulsos por segundo, revoluciones por minuto, etcétera. En la figura 4.2, los hechos que se tienen que contar son los impulsos provenientes del transductor, y se utilizan las condiciones límite para abrir la compuerta. En este caso, el tiempo del reloj t es la condición límite. El contador de la figura 4.2 es un *medidor de frecuencias* porque puede medir la cantidad de impulsos por unidad de tiempo (frecuencia). Un medidor de frecuencia general se ilustra en la figura 4.4a.

En el caso de un medidor de frecuencia, la apertura y el cierre de la compuerta no están sincronizados con la entrada de impulsos. Debido a esto, siempre hay una incertidumbre de ± 1 en los resultados. Por tanto, para obtener resultados de frecuencia con menos de 0.1% de incertidumbre, se deben acumular por lo menos 1000 cuentas. En el caso de señales en baja frecuencia, hay que contar durante un largo periodo o reacomodar los componentes de la figura 4.4a. Por ejemplo, si la frecuencia de entrada fuera de 10 Hz, se tendrían que contar durante 100 s para obtener 1000 cuentas y una incertidumbre de 0.1%. En el caso de una señal de 1 Hz se tendría que contar durante 1000 s para tener una incertidumbre similar en el conteo. Un *medidor de periodos*, como el que se muestra en la figura 4.4b, logra una incertidumbre menor en las señales de baja frecuencia usando la salida del transductor después de la modulación para abrir y cerrar la compuerta y contar la cantidad de ciclos del reloj de precisión. Si la base del tiempo del reloj es de 1 ms, por ejemplo, y la señal de entrada proveniente del transductor es de 1 Hz se contarían 1000 pulsos del reloj durante un ciclo de la señal de entrada (1 s). En el caso de una señal de entrada de 0.1 Hz, se tendrían que contar 10 000 pulsos durante un ciclo de la señal de entrada (10 s). Por tanto, el modo de periodo es mucho mejor para las señales de frecuencia baja.

En la figura 4.4c se muestra otro modo para el caso de un sistema de conteo digital para uso general, a saber, el modo de intervalo de tiempo. El lector podría estar interesado en medir el tiempo que transcurre entre dos hechos, como el disparo de una pistola y el rompimiento de una cinta colocada a 100 m. Como se puede ver, uno de los hechos abre la compuerta de conteo y el otro la cierra. El reloj de precisión cuenta otra vez durante este intervalo. Las mediciones del tiempo son muy importantes en muchos campos de la

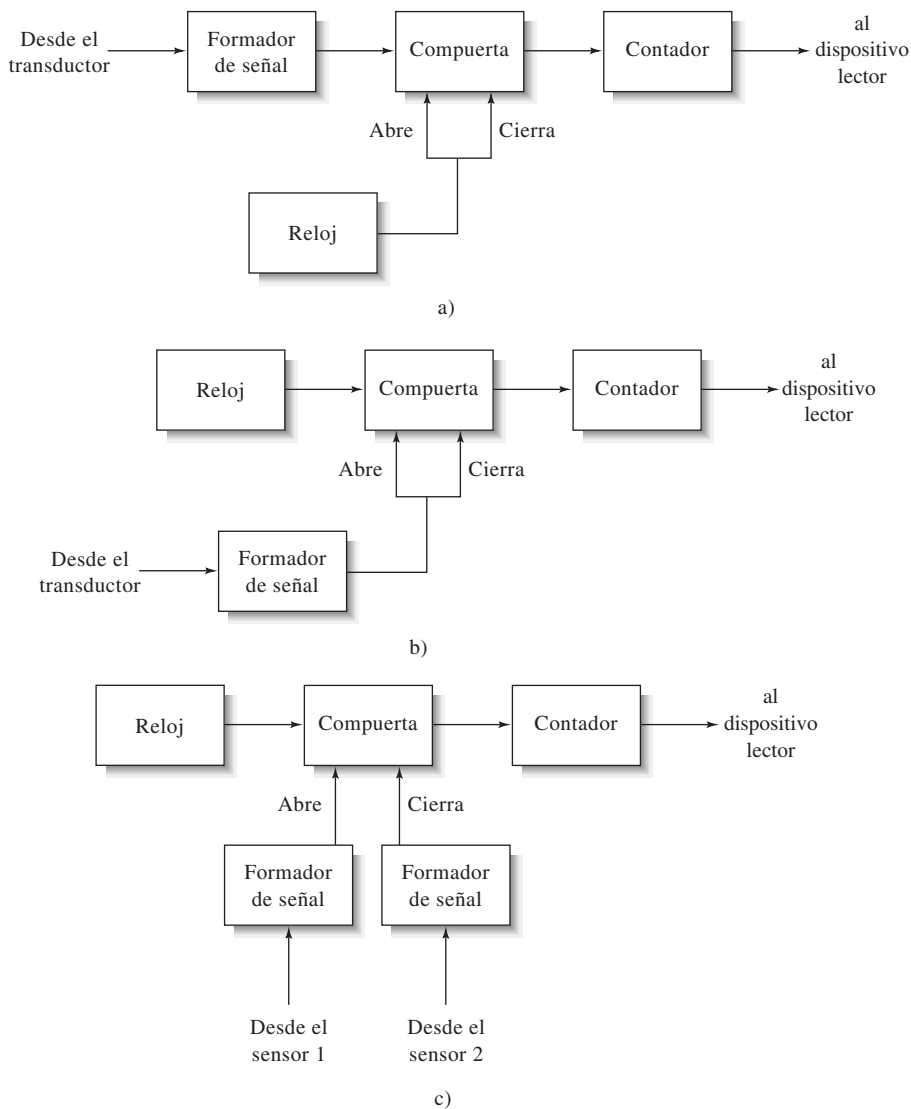


FIGURA 4.4 Mediciones de conteo. En a) se muestra un medidor de frecuencia. Los impulsos formados provenientes del transductor están en la entrada de una compuerta de conteo, que se abre o se cierra mediante un reloj digital de precisión. En b) se ilustra un medidor de periodos. En este caso, el reloj de precisión cuenta un ciclo de la señal de entrada. En c) se representa el modo intervalo de tiempo. En este caso la compuerta se abre gracias a una señal desde el sensor 1 y se cierra por una señal del sensor 2. El tiempo que transcurre entre estos dos hechos se mide contando la cantidad de ciclos del reloj de precisión.

ciencia. Por ejemplo, se sabe que la distancia de la Tierra a la Luna se puede determinar midiendo el tiempo que se necesita para que un rayo láser llegue a la Luna, sea reflejado por un espejo que esté en su superficie y regrese a la Tierra. Aquí, al lanzar el rayo se inicia el temporizador, es decir, se abre la compuerta de conteo y el impulso de regreso lo detiene, es decir, cierra la compuerta. Si se conoce la velocidad de la luz y el tiempo que se requiere para un viaje redondo se puede determinar la distancia de la Tierra a la Luna.

4C.4 Escaladores

Una unidad de conteo de decenas produce un impulso para llevar en la décima cuenta. En el conteo, este impulso se alimenta a la siguiente etapa de conteo de las decenas. No obstante, es importante hacer notar que la frecuencia de salida de una unidad de conteo de decenas es la frecuencia de entrada dividida por 10. Una entrada de 1 MHz a una unidad de conteo de décadas origina una salida de 100 kHz. La división de la frecuencia es exacta y la exactitud de la frecuencia de sa-

lida es igual que la de la frecuencia de entrada. Las unidades de conteo de decenas se pueden conectar en cascada para reducir la frecuencia de entrada en múltiplos exactos de 10. A este proceso se le conoce como *escalado*. Se utiliza también cuando la frecuencia de entrada de una señal es mayor a la que un contador puede medir. En estas circunstancias, se conecta un *escalador* entre el formador de señal y el contador de la figura 4.4a. Al medir el periodo (figura 4.4b), si la frecuencia de la señal de entrada es demasiado alta, con frecuencia se introduce un escalador entre el modulador y la compuerta de conteo. Este acomodo permite que durante la medición sean promediados múltiples periodos.

4C.5 Relojes

En muchas aplicaciones digitales se requiere usar una fuente de frecuencia conocida con exactitud y que se pueda reproducir muy bien junto con la medición del tiempo, como se muestra en las figuras 4.4b y c. En general, las fuentes de frecuencia electrónica se elaboran con cristales de cuarzo que exhiben el *efecto piezoeléctrico*, como se explicó en la sección 1C.4. La frecuencia resonante de un cristal de cuarzo depende de la masa y de las dimensiones del cristal. Si se hacen variar estos parámetros, se puede obtener frecuencias que varíen desde 10 kHz a 50 MHz o mayores. Por lo regular estas frecuencias son constantes a 100 ppm. Con precauciones especiales, tal como el control preciso de la temperatura, se pueden fabricar osciladores de cristal para estándares de tiempo que son exactos a una parte en 10 millones.

Si se usa una serie de escaladores de decenas con un oscilador de cuarzo, se obtiene un reloj preciso, como se ilustra en la figura 4.5. La frecuencia se puede seleccionar en pasos de decenas a partir de los originales 10 MHz, y de este valor hasta 0.1 Hz. Como no hay ruido o variación en la operación de conteo, todas las salidas son tan exactas y precisas como el oscilador de cristal usado. Hay en el mercado circuitos integrados que contienen varias decenas de escalado. Dichos circuitos son susceptibles de ser programados de acuerdo con la decena de salida seleccionada por una entrada binaria.

4C.6 Convertidores de señales digitales en analógicas

A menudo, las señales digitales se transforman en sus equivalentes analógicos para controlar instrumentos, representar resultados en pantallas, como en los medidores y osciloscopios, o bien, como parte de los con-

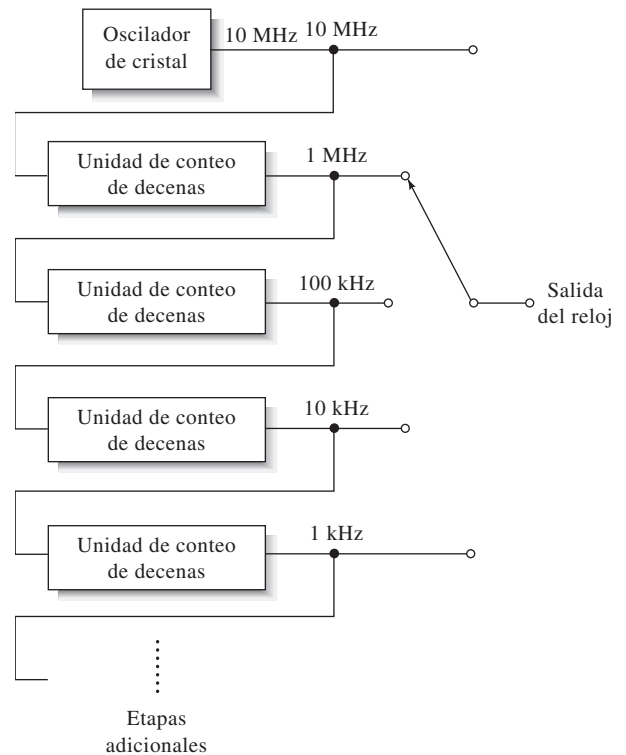


FIGURA 4.5 Circuito de un reloj de precisión. Cada unidad de conteo de decenas divide exactamente entre 10 la frecuencia de salida. La exactitud de cada frecuencia de salida es igual a la del oscilador de cristal.

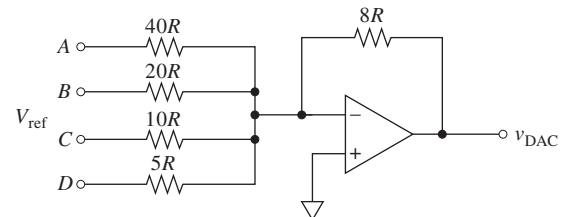


FIGURA 4.6 Convertidor de señales digitales en analógicas de 4 bits. En este caso, A, B, C y D son +5 V para el estado lógico 1 y 0 V para el estado lógico 0.

vertidores de señales analógicas en digitales. En la figura 4.6 se ilustra un convertidor digital en analógico (DAC, por sus siglas en inglés) y el principio de una de las maneras comunes de lograr esta conversión, la cual se basa en la red de *escala de resistores ponderados*. Observe que el circuito es similar al circuito sumador que se ilustra en la figura 3.16b, con cuatro resistores ponderados en la relación 8:4:2:1. De acuerdo con el análisis de los circuitos suma se puede demostrar que la salida v_{DAC} es

$$v_{DAC} = -V_{ref} \left(\frac{D}{1} + \frac{C}{2} + \frac{B}{4} + \frac{A}{8} \right) \quad (4.1)$$



Simulación: aprenda más acerca de los **convertidores de señales digitales en analógicas**.

donde V_{ref} es el voltaje del estado lógico 1, y D , C , B y A designan los estados lógicos (0 o 1) para un número binario de 4 bits, en donde A es el bit menos significativo y D el más significativo. En la tabla 4.3 se muestra la salida analógica de acuerdo con la escala de resistores ponderados que se muestra en la figura 4.6 cuando V_{ref} es de 5 V.

La resolución de un convertidor de señales digitales en analógicas depende de la cantidad de bits de entrada que pueda acomodar. La resolución de un dispositivo de n -bit es de 1 parte en 2^n . Por consiguiente, un convertidor de señales digitales en analógicas de 10 bits tiene un voltaje de salida de 2^{10} , es decir 1024, y por tanto, su resolución es de 1 parte en 1024; la resolución de un convertidor de 12 bits es de 1 parte en 4096. Observe que al tratar los convertidores de señales digitales en analógicas y los convertidores de señales analógicas en digitales se usa la letra n para representar la cantidad de bits de resolución del dispositivo y N para representar la salida digital.

TABLA 4.3 Salida analógica del convertidor de señales digitales en analógicas de la figura 4.6.

Número binario DCBA	Equivalente decimal	v_{DAC} , V
0000	0	0.0
0001	1	-1.0
0010	2	-2.0
0011	3	-3.0
0100	4	-4.0
0101	5	-5.0

4C.7 Convertidores de señales analógicas en digitales

La salida de la mayor parte de los transductores que se utilizan en los instrumentos analíticos es una señal analógica. Para darse cuenta de las ventajas de la electrónica digital y del manejo de los datos mediante una computadora es necesario pasar la señal analógica del dominio analógico al dominio digital. En la figura 4.1 se ilustra el proceso de digitalización. Se aplican numerosos métodos para esta clase de conversiones. Dos tipos comunes de convertidor analógico digital se describen en esta sección: el convertidor en escalera y el de aproximación sucesiva.

Convertidor en escalera de señales analógicas en digitales

En la figura 4.7 se ilustra un esquema simplificado de un dispositivo para transformar un voltaje analógico desconocido v_i en un número digital N . En este caso se usa un contador binario de n bits controlado mediante una señal proveniente de un reloj de cuarzo para activar un convertidor de señales digitales en analógicas de n bits, similar al que se describe en la sección anterior. La salida del convertidor digital analógico es la salida de voltaje en escalera v_{DAC} que se observa en la parte inferior de la figura. Cada paso de esta señal corresponde a un incremento de voltaje, como de 1 mV. La salida del convertidor digital se compara con la entrada desconocida v_i mediante el comparador. Cuando los dos voltajes se vuelven idénticos dentro de



Simulación: aprenda más acerca de los **convertidores de señales analógicas en digitales**.

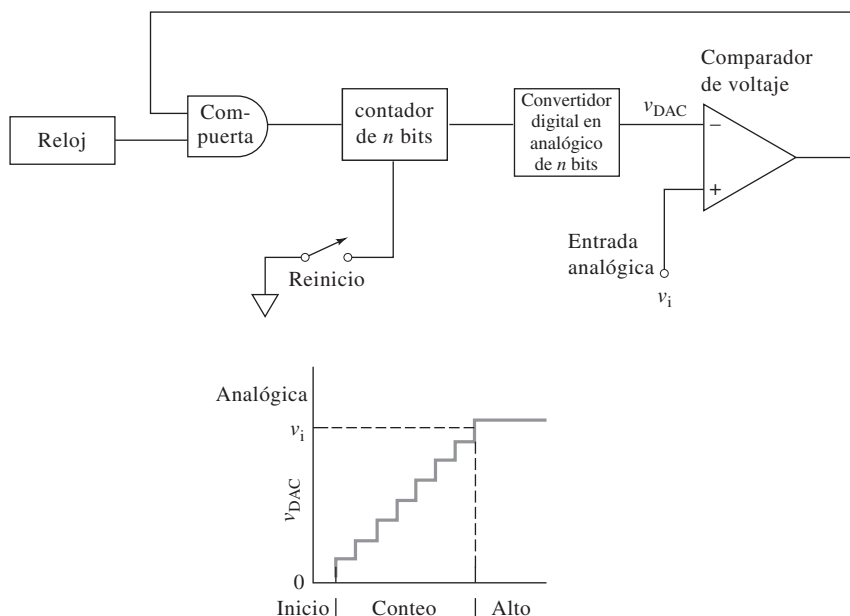


FIGURA 4.7 Convertidor en escalera de señales analógicas en digitales.

la resolución del convertidor, el comparador cambia de estado desde HI a LO, lo cual detiene a su vez el contador. Entonces, el conteo N corresponde al voltaje de entrada en unidades de milivolt. Al cerrar el conmutador reiniciador se restaura el contador en cero como preparación para la conversión de un nuevo voltaje, lo cual inicia al abrir el conmutador reiniciador. El voltaje de entrada v_i se debe mantener constante durante el proceso de conversión con el fin de asegurar que la salida digital corresponda al voltaje deseado.

Cuanto más alta es la resolución del convertidor de señales digitales en analógicas, con más precisión representará el número a v_i . Este tipo de convertidor ilustra con claridad el proceso de medición. La salida del convertidor de señales digitales es una referencia estándar que se compara con v_i mediante el detector diferencial, es decir, el comparador. El tiempo de conversión es $t_c = Nt_p$, donde N es la salida del contador, que varía con v_i , y t_p es el periodo del reloj. Este tiempo de conversión es ventajoso si se sabe que v_i es relativamente pequeño la mayor parte del tiempo. Si v_i es grande la mayor parte del tiempo, entonces t_c será mayor en proporción. Este tipo de convertidor de señales analógicas en digitales se utiliza con frecuencia en la espectroscopía nuclear y los campos relacionados en los cuales se detectan señales de fondo de baja intensidad. La frecuencia del oscilador puede ser hasta de 100 MHz cuando se usan contadores de alta velocidad, convertidores de señales digitales en analógicas y comparadores.

La operación del convertidor en escalera de señales analógicas en digitales tiene la capacidad de ser continua si se reemplaza el contador por un contador/descontador controlado por el comparador. Si v_i se incrementa, la salida del comparador es HI y el contador cuenta, pero si v_i disminuye, el contador descuenta. Cuando la salida del convertidor de señales digitales en analógicas cruza v_i , el contador alterna entre N y $N - 1$, un intervalo que está dentro de $\pm \frac{1}{2}$ LSB de v_i . Este tipo de convertidor de señales analógicas en digitales funciona en forma aceptable sólo cuando v_i varía lentamente en relación con el tiempo de conversión o cuando es importante una lectura continua.

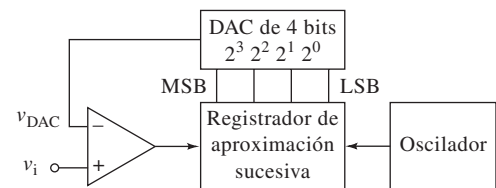
Convertidor de señales analógicas en digitales de aproximación sucesiva

Para entender cómo trabaja un convertidor de señales analógicas en digitales de aproximación sucesiva, reflexione sobre la cuestión siguiente: ¿cuál es la cantidad mínima de ensayos para determinar *con certeza*, un número N que esté entre 0 y 15? Suponga que después de cada intento se le dice si su número es mayor o menor. La respuesta es que no se necesitan más de cuatro intentos. Para ilustrarlo, suponga que 10 es el número blanco. Primero divida el intervalo a la mitad y conjeture que el número desconocido es 7. El número 7 es menor que 10, de modo que la mitad superior

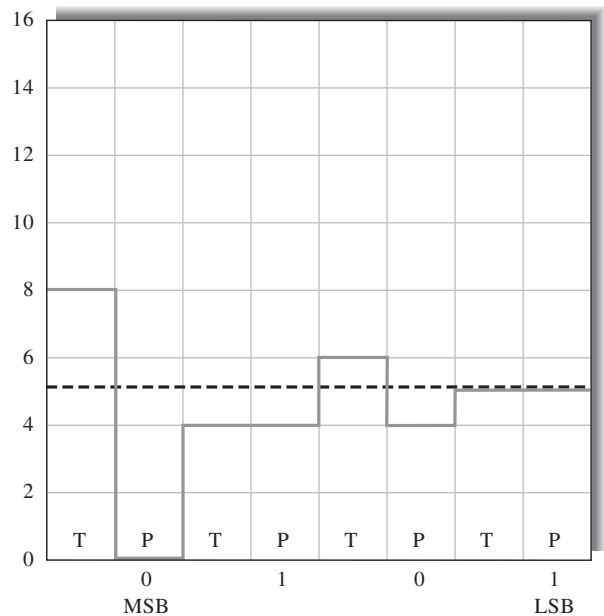
del intervalo 1-7 se parte a la mitad y se suma a 7 para obtener un segundo número para intentarlo, $N = 7 + 4 = 11$. Este número es mayor, de modo que se desecha el 4 y la mitad de 4 se suma a 7, con lo que se tiene $N = 9$, que es menor. Para terminar, la mitad de 2 se suma a 9 y así se obtiene el valor blanco $N = 10$. Las reglas para las aproximaciones sucesivas son las siguientes:

1. Empezar con una conjetura de una mitad del intervalo completo.
2. Si es demasiado grande, desechar la conjetura.
3. Si es demasiado pequeño, conservarlo.
4. Sumar la mitad del incremento anterior.
5. Repetir los pasos 2 a 4 hasta finalizar.

Observe que para determinar un número en el intervalo de 0 a $2^n - 1$ se requieren n conjeturas. Por ejemplo, se necesita hacer 12 suposiciones para determinar con certeza un número entre 0 y 4095.



a)



b)

FIGURA 4.8 Convertidor de señales analógicas en digitales por aproximación sucesiva: a) diagrama de bloques del convertidor de señales analógicas en digitales, b) salida del convertidor de señales digitales en analógicas durante el proceso de conversión.

El convertidor de señales analógicas en digitales de aproximación sucesiva aplica exactamente la misma lógica para llegar a un número binario o número decimal codificado en binario para representar un voltaje desconocido v_i como se ilustra en la figura 4.8a. En este caso, el convertidor de señales digitales en analógicas de 4 bits de la figura 4.6 se utiliza para ilustrar la manera en que se efectúa el proceso de aproximación sucesiva. Suponga que $v_i = 5.1$ V y que todos los bits están inicialmente en 0. El primer ciclo del oscilador fija el MSB = 2^3 en 1, lo cual ocasiona que el voltaje del convertidor de señales digitales en analógicas v_{DAC} cambie a 8 V, como se muestra en la figura 4.8b. A esto se le llama periodo de *prueba* y se designa con T en la figura. Puesto que $v_{DAC} > v_i$, el registrador de aproximación sucesiva (SAR, por sus siglas en inglés) quita el 2^3 bit = 1 durante el periodo *posterior*, señalado P . El ciclo siguiente del oscilador ocasiona que el 2^2 bit se fije en el estado lógico 1 para dar $v_{DAC} = 4$ V. Como $v_{DAC} < v_i$, la salida del comparador va al estado lógico 1 (HI), lo cual resulta en que el SAR establece este bit en un estado lógico 1 durante el periodo posterior. El ciclo siguiente causa entonces que el bit 2^1 quede en 1, lo que da como resultado $v_{DAC} = 6$ V, que es mayor que v_i . La salida del comparador va a 0, por tanto el SAR quita el bit 2^1 . Para finalizar, el registrador de aproximación sucesiva fija $2^0 = 1$, para dar $v_{DAC} = 5$ V, que es $< v_i$. Esto da como resultado que se conserve el bit 2^0 en el estado lógico 1. El proceso se presenta en un esquema en la figura 4.8b. El número binario resultante, 0101, representa la tensión de entrada $5 \text{ V} \pm 0.5 \text{ V}$. Observe que la resolución es $\pm \frac{1}{2} \text{ LSB}$, que en este caso es $\pm 0.5 \text{ V}$.

Con el fin de aumentar la resolución del convertidor de señales analógicas en digitales se necesita un convertidor de señales digitales en analógicas de la resolución requerida y el SAR debe tener un correspondiente número grande de bits. Los más usados son los convertidores de señales analógicas en digitales con entradas de $\pm 5 \text{ V}$, $\pm 10 \text{ V}$, o de 0 a 10 V. Éstos tienen un tiempo de conversión fijo, casi siempre de 2 a 8 μs para 12 bits. Los convertidores de aproximación sucesiva de este tipo se usan ampliamente en la adquisición de datos temporizados mediante computadora. Puesto que es importante que no se modifique el voltaje que se desea medir durante el proceso de conversión, se usa casi siempre una memoria analógica rápida llamada *amplificador de muestreo y retención* para tomar muestras y conservar constante la señal que interesa durante el proceso de conversión.

4D COMPUTADORAS E INSTRUMENTOS COMPUTARIZADOS

Las primeras computadoras que se utilizaron en los laboratorios de los años sesenta se fabricaron con piezas discretas, como transistores, diodos, resistores, capaci-

tores, etcétera. Había dificultad para usar y programar estas computadoras y, con frecuencia, conectarlas a instrumentos era una tarea frustrante. Había muy pocos programas para el control de experimentos, la adquisición de datos y el análisis de los mismos, de modo que los científicos tenían que convertirse en programadores para crear y usar instrumentos computarizados.

En los años setenta cambió la situación en forma espectacular con el surgimiento de los microprocesadores y la microcomputadora fabricada con ellos. Un *microprocesador* es un circuito integrado a gran escala hecho de cientos de miles y hasta de millones de transistores, resistores, diodos y otros elementos de circuito miniaturizados, todo esto instalado en una simple pieza de silicio (*chip*) de unos cuantos milímetros de lado. A menudo, un microprocesador funciona como un componente aritmético y lógico, que se llama unidad central de proceso (CPU, por sus siglas en inglés) de la microcomputadora. Los microprocesadores también tienen amplia aceptación para operar diversos dispositivos, como instrumentos analíticos, sistemas de ignición de los automóviles, hornos de microondas, cajas registradoras y juegos electrónicos.

Las *microcomputadoras* constan de uno o más microprocesadores que están combinados con otros componentes de circuito que proporcionan las funciones de memoria, sincronización, entrada y salida. Las microcomputadoras se usan cada vez más para el control de los instrumentos analíticos, y para procesar, almacenar y representar los datos generados. Existen por lo menos dos razones para conectar una computadora a un instrumento analítico. La primera es que se ha vuelto posible la automatización parcial o total de las mediciones. Por lo regular, con la automatización los datos se adquieren con mayor rapidez, lo cual reduce el tiempo que se necesita para realizar un análisis, o aumenta la precisión, ya que hay tiempo para repetir mediciones. Además, la automatización ofrece un control mejor y más rápido sobre las variables experimentales que el operador humano no puede lograr. El resultado son datos más precisos y exactos.

Una segunda razón para conectar computadoras a los instrumentos es aprovechar sus inmensas capacidades de cálculo y de manejo de información. Éstas permiten el uso rutinario de técnicas que serían imprácticas debido a que requieren un tiempo enorme para hacer los cálculos. Notables entre dichas aplicaciones son los cálculos de la transformada de Fourier, el promedio de señales y las técnicas de correlación en la espectroscopia para extraer pequeñas señales analíticas de medios ruidosos.

La conexión de estos dispositivos a los instrumentos es un tema demasiado largo como para tratarlo en forma minuciosa en este libro. Sin embargo, hay muchos avances en las tarjetas de interfase y en los programas que las controlan. En la actualidad hay equipos y programas fáciles de conseguir que permiten llevar a

cabo interconexiones para ejecutar tareas complejas en tanto que los químicos realizan experimentos. El estudio en este libro se limita a las generalidades de la terminología de las computadoras, a algunas piezas y programas útiles que se utilizan en las aplicaciones instrumentales y a las ventajas de usar estos dispositivos notables.

4D.1 Terminología de las computadoras

Uno de los problemas que enfrenta el que apenas entra al campo de las computadoras y sus aplicaciones es la sorprendente cantidad de términos nuevos, acrónimos y siglas, como CPU, RAM, ROM, BIOS, FTP, GUI, HTTP, USB, WiFi, LAN, *firewall* y TCP/IP. Por desgracia, estos términos no están definidos ni en publicaciones elementales. Algunos de los términos y abreviaturas más importantes se definen en esta sección; otros se definirán a medida que aparezcan en los temas posteriores de este capítulo.

Bits, bytes y palabras

En las computadoras, los bits se representan por dos estados eléctricos (HI/LO, o bien, 1/0) que difieren uno de otro casi siempre por 2 a 5 V. Un grupo de ocho bits se llama *byte*. Una serie de bytes acomodados en una sucesión para representar un trozo de información o una instrucción se llama *palabra*. La cantidad de bits o de bytes por palabra depende de la computadora. Algunos tamaños comunes son 8, 16, 32 y 64 bits, o 1, 2, 4 y 8 bytes.

Registadores

La pieza fundamental de la construcción de las computadoras digitales es el *registrador*, que es un dispositivo físico que puede almacenar un byte completo o una palabra. Por ejemplo, un contador binario de 16 bits puede funcionar como un registrador que es capaz de contener una palabra de 16 bits.

La información que está contenida en un registrador puede manipularse de varias maneras. Por ejemplo, un registrador se puede borrar, un proceso mediante el cual el registrador se reinicia todo en ceros; se pueden tomar los *complementos* de un registrador, es decir, todos los 1 cambian a 0 y todos los 0 pasan a ser 1. El contenido de un registrador puede ser transferido a otro. Además, el contenido de un registrador se puede sumar, restar, multiplicar o dividir entre el contenido de otro. Un registrador en el que se desarrollen estos procesos recibe el nombre de *acumulador*. Está demostrado que la sucesión correcta de operaciones del registrador puede resolver cualquier problema de cálculo o de procesamiento de información sin que importe su complejidad, siempre que haya un *algoritmo* para la solución. Un algoritmo es un enunciado detallado de cada uno de los pasos necesarios para llegar a una solución. Uno o más algoritmos constituyen un *programa para computadora*.

Componentes y programas

Los componentes o *hardware* son todos los dispositivos físicos que conforman una computadora. Entre los ejemplos están las unidades de disco, las impresoras, los relojes, las unidades de memoria, los módulos de adquisición de datos y las unidades lógicas aritméticas. La colección de programas e instrucciones para la computadora, sin olvidar los discos y las cintas para conservarlos es lo que se conoce como *software*. Los componentes y los programas tienen la misma importancia para que el uso de la computadora dé resultados satisfactorios, y el costo de los programas puede ser igual al de la computadora. En especial, esto es cierto con los paquetes de *software* complejo diseñado para fines especiales, como la manipulación de datos, el ajuste de curvas o el análisis estadístico. Desde hace pocos años se pueden encontrar con mucha facilidad computadoras de bajo precio, alta capacidad y rapidez, lo cual ha producido una demanda correspondiente de programas útiles y que sean fáciles de usar. La producción y venta de decenas o tal vez cientos de millones de computadoras en todo el mundo garantizan que haya programas variados y a un precio razonable. Estas fuerzas del mercado han generado costos bajos incluso para programas especiales para científicos, como se ve en la sección siguiente.

4D.2 Modos de operación de los instrumentos computarizados

En la figura 4.9 se sugieren tres formas de usar las computadoras junto con mediciones analíticas. En el método fuera de línea (*off-line*) que se muestra en la figura 4.9a, un ser humano recopila los datos y después los transfiere a la computadora para procesarlos. El método en línea (*on-line*) de la figura 4.9b difiere del procedimiento fuera de línea en que la comunicación directa entre el instrumento y la computadora es posible mediante una *interfase* electrónica, en la cual la señal proveniente del instrumento se modula, digitaliza y almacena. En este caso, la computadora permanece como una entidad distinta con capacidad para almacenar los datos y con instrucciones para procesarlos. La operación fuera de línea también es posible en este acomodo.

Los instrumentos más modernos están configurados como se muestra en la figura 4.9c. En este acomodo *dentro de la línea o inmediato (in-line)* el instrumento tiene incorporada una microcomputadora o un microprocesador. Entonces, el operador se comunica con el instrumento y dirige su operación mediante la computadora. El operador no tiene que programar la computadora, aunque a menudo existe la opción de hacerlo. La serie de programas afines (*suite*) principales está ya incluida en los instrumentos comerciales junto con un lenguaje de programación, de tal modo que el usuario puede programar modos optativos de

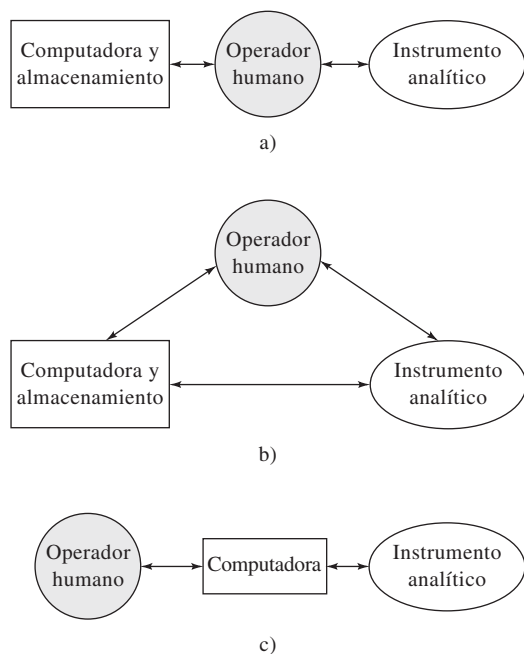


FIGURA 4.9 Tres métodos para usar las computadoras en el caso de las mediciones analíticas: a) fuera de línea, b) en línea, c) dentro de la línea o inmediato.

adquisición de datos y de manipulación de los mismos. Con frecuencia hay varias computadoras o microprocesadores en un instrumento dado. El usuario puede comunicarse con el instrumento mediante una computadora, y otras personas pueden controlar el instrumento y sacar la información de él.

En las operaciones dentro de línea y en línea la información se transfiere a la computadora en *tiempo real*, es decir, a medida que el instrumento genera los datos. A menudo, la rapidez con la que un instrumento produce la información es lo suficientemente baja para que sólo una pequeña fracción del tiempo de la computadora se ocupe en la adquisición de datos. En estas circunstancias, el periodo entre la recolección de los datos se puede aprovechar para procesar la información de varios modos. Por ejemplo, el proceso de los datos puede ser cálculo de concentración, suavización de una curva, combinación de datos con otros reunidos y almacenados con anterioridad para promediarlos después y elaborar gráficas o imprimir los resultados. Para el *proceso en tiempo real* se requiere organizar los datos en forma simultánea con la adquisición de los mismos. Este proceso tiene dos ventajas principales. Primero, reduce de manera notable la cantidad necesaria de espacio de almacenamiento, por lo que permite usar computadoras menos complejas y menos caras. Segundo, si hay tiempo suficiente entre la adquisición de datos, la señal procesada se puede utilizar para ajustar los parámetros del instrumento y así mejorar la calidad de las señales de salida posteriores.

A medida que ha aumentado la velocidad y la capacidad de almacenamiento de las microcomputadoras, lo mismo ha sucedido con la capacidad del proceso en tiempo real. En la actualidad, las operaciones en tiempo real se han vuelto muy comunes en los instrumentos que contienen varios procesadores.

Un ejemplo de un sistema de proceso en tiempo real es un instrumento controlado por un microprocesador para ejecutar en forma automática titulaciones potenciométricas. Por lo regular, dichos instrumentos poseen una capacidad de almacenamiento suficiente para almacenar una forma digitalizada de la curva de potencial contra el volumen de reactivo, y toda la demás información que se requeriría en el proceso para la generación de un informe sobre la titulación. Asimismo, es común el caso de que tales instrumentos calculen en tiempo real la primera derivada del potencial respecto al volumen y usen esta información para controlar la velocidad a la cual se añade el titulante por medio de una jeringa activada por un motor. En la primera parte de la titulación, cuando la rapidez del cambio de potencial es baja, la derivada es pequeña, de modo que el titulante se añade a una velocidad alta. Cuando se acerca al punto de equivalencia, la derivada se vuelve más grande y la computadora hace más lenta la velocidad a la cual se añade el titulante. El proceso inverso se presenta más allá del punto de equivalencia.

4E COMPONENTES DE UNA COMPUTADORA

En la figura 4.10 se presenta un diagrama de bloques en el cual están los componentes principales de una computadora y sus dispositivos periféricos.

4E.1 Unidad central de proceso

El corazón de una computadora es la unidad central de proceso, la cual en el caso de una microcomputadora es un microcircuito o chip microprocesador. Un microprocesador está hecho de una unidad de control y una unidad aritmético-lógica. La unidad de control determina la sucesión de operaciones por medio de instrucciones a partir de un programa que está almacenado en la memoria de la computadora. La unidad de control recibe información desde el dispositivo de entrada, busca las instrucciones y datos en la memoria y transmite las instrucciones a la unidad aritmético-lógica, a la salida y a la memoria.

La unidad aritmético-lógica de una CPU está constituida por una serie de registradores, o acumuladores, en los cuales se guardan los resultados intermedios de la aritmética binaria y las operaciones lógicas. El procesador Pentium 4 de Intel contiene casi 50 millones de transistores, y es capaz de funcionar a velocidades mayores a 3.5 GHz. El procesador Itanium de

Intel contiene 22 millones de transistores (el procesador Itanium 2 tiene 410 millones de transistores). La computadora más veloz puede ejecutar casi mil millones de instrucciones por segundo.

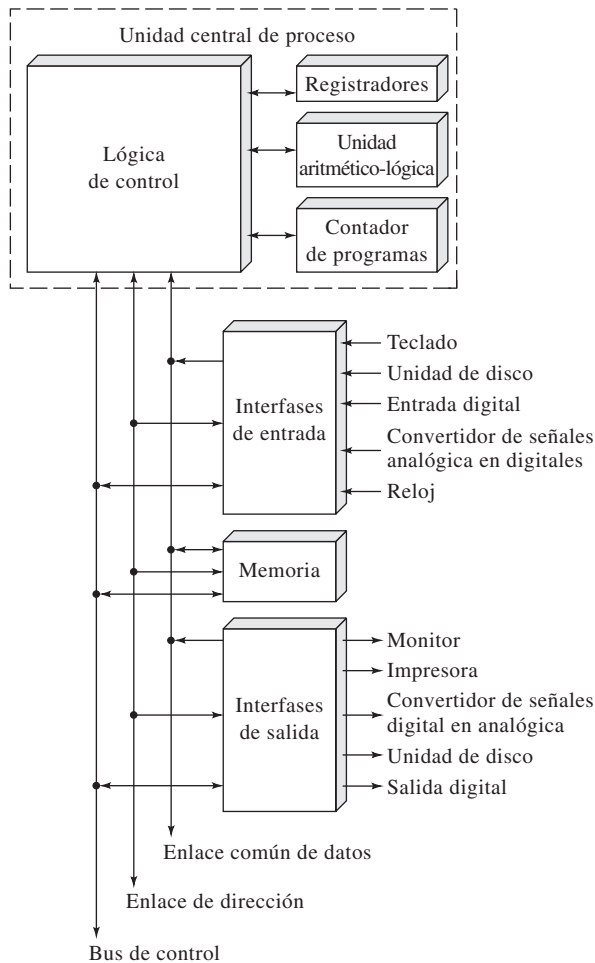


FIGURA 4.10 Elementos básicos de la computadora digital y dispositivos periféricos.

4E.2 Enlaces de interconexión (buses)

Las partes de una computadora y su memoria más los dispositivos periféricos se unen mediante enlaces de interconexión (*buses*, en inglés), cada uno de los cuales está constituido por una cantidad de líneas de transmisión. Para que la comunicación sea rápida entre las distintas partes de una computadora, todas las señales digitales que forman una palabra se transmiten de modo simultáneo por las líneas paralelas del bus. La cantidad de líneas que hay en los buses internos de la unidad central de proceso es igual al tamaño de la palabra que procesa la computadora. Por ejemplo, el bus interno para una CPU de 32 bits requiere 32 líneas de transmisión paralela, cada una de las cuales transmite uno de los 32 bits.

Los datos son llevados hacia dentro y fuera de la CPU mediante un bus de datos, como se puede ver en la figura 4.10. Tanto el origen como el destino de las señales en la línea del bus de datos están especificados por el bus de dirección. Un bus de dirección con 32 líneas puede guiar directamente 2^{32} (es decir, 4 294 967 296) registros o sitios dentro de la computadora, que equivalen a 4 gigabytes de memoria. El bus de control transporta información de control y de estado hacia la unidad central de proceso y desde ella. Estas transferencias siguen una secuencia que es indicada por señales de sincronización que lleva el bus.

Los datos también tienen que ser transmitidos entre los componentes de los instrumentos o dispositivos periféricos y la CPU. Para este tipo de transferencia de datos se usa un enlace de interconexión externo o línea de comunicación. En la tabla 4.4 se resumen algunas especificaciones para ciertos estándares de comunicación externos más comunes.

4E.3 Memoria

En una computadora, la memoria es una zona de almacenamiento a la que se tiene acceso directamente a través de la CPU. Como la memoria contiene tanto datos como información de los programas, la unidad central de proceso tiene que entrar en la memoria por

TABLA 4.4 Especificaciones de estándares de comunicación comunes.

	RS-232	IEEE-488	Ethernet 10BaseT	Ethernet 100BaseT	USB*	IEEE-1394 (FireWire)
Tipo	Serial	En paralelo	En serie	En serie	En serie	En serie
Distancia (m)	30	20	100	100	4.8	4.5
Máximo de baudios**	19.2 kbps	10 Mbps	10 Mbps	100 Mbps	12 Mbps (1.1) 480 Mbps (2.0)	400 Mbps (1394a) 800 Mbps (1394b)
Cables	Par torcido	Haz blindado	Par torcido	Par torcido	Par torcido blindado	Par torcido blindado

*USB son las siglas en inglés de bus en serie universal.

**El baud o baudio es una medida de la rapidez a la cual se puede transmitir la información. Las unidades de rapidez en baudios son bits por segundos.

lo menos una vez en cada paso del programa. El tiempo que se requiere para recuperar un trozo de información de la memoria se llama *tiempo de acceso*, el cual, por lo regular, es del orden de décimas de nanosegundos.

Chips de memoria

La unidad elemental de un circuito integrado (*chip*) de memoria es una celda que puede tener uno de dos estados y, por consiguiente, es capaz de almacenar un bit de información. En general, varios miles de millones de estas celdas podrían estar contenidas en un solo circuito integrado de memoria hecho de silicio. En la figura 4.11 se ilustran las funciones de una celda de memoria. Con un comando READ desde la CPU, el estado lógico (1 o 0) aparece como uno de los dos posibles estados en la salida. Un comando WRITE permite que el estado 1 o 0 desde la terminal de entrada desplace el contenido que esté presente en la celda y que se almacene el nuevo valor en su lugar.

Las celdas se acomodan de acuerdo con ciertos arreglos sobre los *chips* de memoria, los cuales se instalan a su vez en tarjetas de circuitos impresos que se insertan directamente en la caja de una computadora. Por lo regular, las computadoras personales tienen de 128 a 1024 megabytes (MB) de memoria, pero hay varias configuraciones distintas. Puesto que el proceso real de dirigir y almacenar la información en la memoria está ya establecido desde la fabricación o está controlado por la CPU, la mayoría de los químicos no tienen que entender el diseño detallado de las memorias. No obstante, es muy útil conocer la terminología que se usa para describir las memorias con el fin de seleccionar la cantidad apropiada de memoria para efectuar una tarea especial con la computadora.

Tipos de memoria

En la mayoría de las computadoras hay dos tipos de memoria: la memoria de acceso aleatorio (RAM, por sus siglas en inglés) y la memoria de sólo lectura (ROM, por sus siglas en inglés). La expresión “acceso aleatorio” es algo engañosa, porque el acceso a la ROM también puede ser aleatorio. Acceso aleatorio quiere decir que todos los lugares que hay en la memoria son igual-

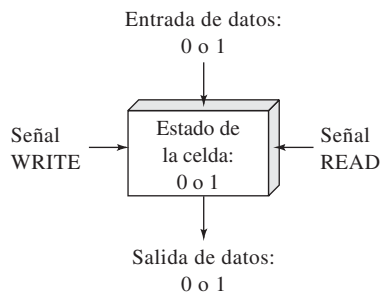


FIGURA 4.11 Una celda de memoria de una computadora para almacenar 1 bit.

mente accesibles y que se puede llegar a ellos casi a la misma velocidad. Entonces, un término más descriptivo para RAM sería memoria de escritura y lectura. Los primeros tipos de semiconductor RAM eran volátiles, es decir, la información no se conservaba a menos que la memoria se restaurara en forma regular. En la actualidad las tarjetas de RAM poseen suministros auxiliares de energía mediante baterías, lo cual evita que se pierda la información si se carece de energía por 8 h o más. Este tipo de memoria es similar a la que se encuentra en las calculadoras de bolsillo que conservan los datos y las instrucciones aun cuando estén apagadas.

Las memorias de sólo lectura contienen instrucciones y datos permanentes que se colocan en ellas en el momento que las fabrican. Estas memorias son verdaderamente estáticas en el sentido de que conservan sus estados originales durante toda la vida de la computadora o de la calculadora. El contenido de la ROM no se puede modificar mediante una nueva programación. Una variante de la ROM es la EPROM o PROM borrable, una memoria de sólo lectura que se puede borrar y programar. En esta memoria, los programas que contiene se pueden borrar si se le expone a la radiación ultravioleta. Después de este tratamiento, la memoria se reprograma mediante un equipo especial. También hay ROM que se pueden reprogramar mediante señales lógicas relativamente directas. Estas ROM son las llamadas EAROM diseñadas (ROM eléctricamente alterables). Los programas de carga que sirven para establecer las condiciones iniciales del sistema cuando se enciende una computadora están almacenados casi siempre en algún tipo de ROM. Cuando la información del sistema se tiene que guardar a causa de la falta de energía, y cuando ocasionalmente se tiene que reprogramar para instalar dispositivos nuevos en la computadora, se usa de ordinario una RAM activada con baterías para almacenar dicha información.

En algunos dispositivos digitales sencillos y en las calculadoras de mano, las ROM sirven para almacenar los programas que se necesitan para ejecutar operaciones matemáticas, como cálculo de logaritmos, funciones exponenciales y trigonométricas, determinación de cantidades estadísticas, como desviación estándar y parámetros de mínimos cuadrados, y datos para establecer un formato en un punto fijo, notación científica o notación para ingeniería. En la mayor parte de las computadoras, estas operaciones se efectúan mediante un programa.

Dispositivos de almacenamiento

Además de las memorias de semiconductores, las computadoras están equipadas con dispositivos de almacenamiento. Las cintas magnéticas fueron durante muchos años el medio principal para almacenar información, pero fueron reemplazadas por los discos, memorias *flash* que se conectan por medio de buses en

serie universales (USB), discos compactos y discos para datos digitales y video (DVD). La capacidad de almacenamiento de los discos está en aumento constante. Los disquetes de 3 1/2" fueron un medio común de almacenamiento, pero ya se están volviendo obsoletos. Los discos extraíbles, como los ZIP, se usan ampliamente y su capacidad es de varios cientos de megabytes. La memoria *flash* USB es un dispositivo semiconductor de memoria que se inserta en un puerto USB; su capacidad va de 32 MB a 1 GB o más de memoria no volátil. Estos dispositivos son del tamaño de una estilográfica y se pueden llevar fácilmente en el bolsillo.

La capacidad de las unidades de disco duro más pequeñas es del orden de gigabytes, y ya son comunes los discos duros en los que se puede almacenar 250 GB o más de información. El tiempo que se necesita para llegar a un punto seleccionado en forma aleatoria de un disco es el *tiempo de búsqueda*, y en la mayor parte de los casos está en el orden de 10 ms. El CD ROM es un dispositivo de almacenamiento con particular atracción para las bases de datos grandes, enciclopedias y para respaldar datos debido a que su capacidad de almacenamiento es de 750 MB. Al principio, las unidades de CD para las computadoras eran unidades de sólo lectura. Sin embargo, las unidades de CD ROM de lectura y escritura ya son muy comunes. Muchas computadoras contienen unidades de DVD. Recuerde que en un principio eran capaces de leer, es decir, sólo reproducir DVD que habían sido grabados previamente. Pero ahora las unidades de DVD que son capaces de escribir ya están muy extendidas. Algunos pueden almacenar 8.5 GB de información o de video. Nuevos dispositivos para almacenamiento de datos surgen a cada instante. Las unidades de DVD equipadas con rayos láser de longitud de onda corta capaces de escribir y leer 25 GB en cada una de las dos capas de un disco ya se pueden conseguir en las tiendas especializadas.

4E.4 Sistemas de entrada-salida

Los dispositivos de entrada-salida proporcionan los medios para que el usuario o los instrumentos conectados se comuniquen con la computadora. Entre los dispositivos de entrada están los teclados, los ratones, las cámaras digitales, los discos duros, los CD ROM, las memorias flash y las señales que emiten los instrumentos analíticos. Entre los dispositivos de salida están las impresoras, los CD ROM, las memorias *flash*, las bocinas, los monitores y los discos duros. Es importante entender que muchos de estos dispositivos proporcionan o usan una señal *analógica*, aunque, como ya se señaló, la computadora puede responder a señales digitales. Entonces, una parte importante del sistema de entrada-salida es un convertidor de señales analógicas en digitales que proporcione información en una forma en que la computadora la pueda emplear, y un convertidor de señales digitales en analógi-

cas para transformar la salida de la computadora en una señal analógica útil.

Una parte esencial de todos los componentes físicos para la adquisición, análisis y salida de información analítica es el módulo de adquisición de datos. Estos dispositivos se pueden conectar directamente al bus de la computadora y proporcionan un medio para adquirir información por medio de la conversión de señales analógicas en digitales para retroalimentar datos a un experimento mediante un convertidor, proporcionar tiempos decisivos en el proceso y transferir información digital de modo directo a la computadora. En la figura 4.12a se presenta un diagrama de bloques de un módulo representativo de adquisición de datos. Entre sus componentes está un convertidor de señales analógicas en digitales, un convertidor de señales digitales en analógicas, un amplificador de ganancia programable, líneas digitales de entrada y salida, memoria para conservar en forma temporal la información reunida y un reloj de precisión de tiempo real para la sincronización decisiva de la adquisición de datos. El proceso completo de la adquisición de datos se efectúa mediante un microprocesador potente ya incorporado, el cual recibe instrucciones seleccionadas del usuario desde la computadora principal a la cual está conectado. En la figura 4.12b se presenta una fotografía de un módulo de adquisición de datos.

La computadora principal efectúa el análisis y el almacenamiento de datos a largo plazo mediante un paquete de programas como el que se trata en la siguiente sección. El operador controla el proceso completo por medio de las interacciones con la computadora principal. Si se usan módulos de adquisición de datos como éstos, entonces virtualmente cualquier instrumento o experimento se puede conectar a una computadora con el fin de lograr un análisis y resultados de los datos instrumentales eficientes.

Una tendencia actual en los instrumentos analíticos modernos es usar dispositivos que se conecten a la computadora por medio de un puerto USB (véase tabla 4.4). El estándar del USB permite la conexión de hasta 127 dispositivos de manera sencilla y directa. En la actualidad se puede contar con impresoras, cámaras, unidades de disco, escáneres, cámaras para la red, componentes para trabajar en red, algunos sistemas para la adquisición de datos y algunos instrumentos analíticos mediante una interfase USB. Algunos dispositivos cuentan con una conexión FireWire, que es un enlace de interconexión en serie para datos de alta velocidad. Mediante ésta se pueden conectar varios dispositivos en serie (cadena margarita) de modo que se requiere sólo un puerto FireWire para múltiples unidades. Los dispositivos que necesitan conexiones de muy alta velocidad, como el tablero de adquisición de datos que se muestra en la figura 4.12b todavía requieren tableros de interfase que se conectan directamente al bus interno de la computadora.

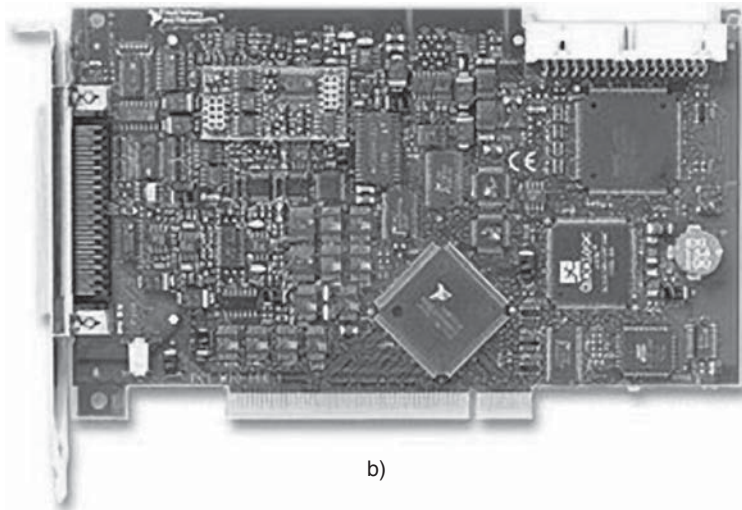
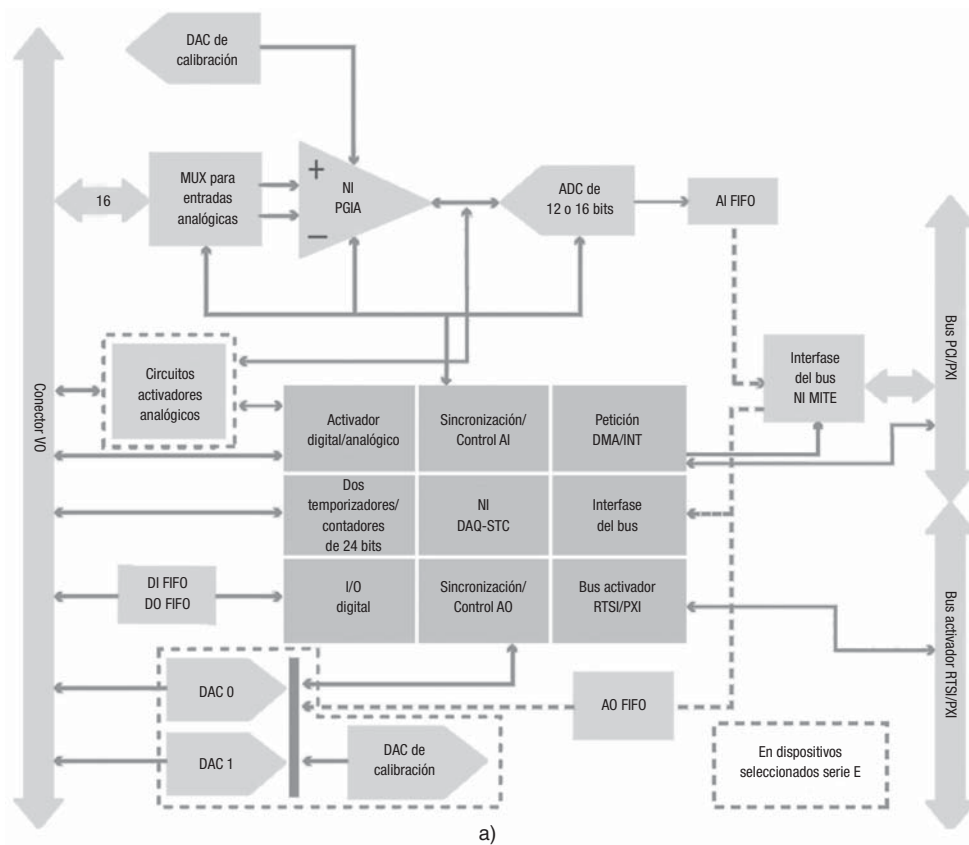


FIGURA 4.12 Módulo de adquisición de datos para computadora: a) diagrama de bloques del módulo. AI = entrada analógica, AO = salida analógica, DAQ = adquisición de datos, DMA = acceso directo a la memoria, DI = entrada digital, DO = salida digital, FIFO = almacenador intermedio "primero en entrar primero en salir", I/O = entrada-salida, INT = interruptor, MITE = interfase MXI para todo, MUX = multiplexor, MXI = interfase de extensión de multisistema, NI = National Instruments, PCI = interconector de componentes periféricos, PFI = entrada de función programable, PGIA = amplificador de ganancia programable para los instrumentos, PXI = extensiones PCI para bus de instrumentación, RTSI = bus de integración del sistema en tiempo real, STC = controlador de la sincronización del sistema; b) fotografía de la tarjeta de circuitos impresos que contiene el módulo. (Reimpreso con autorización de National Instruments Corporation.)

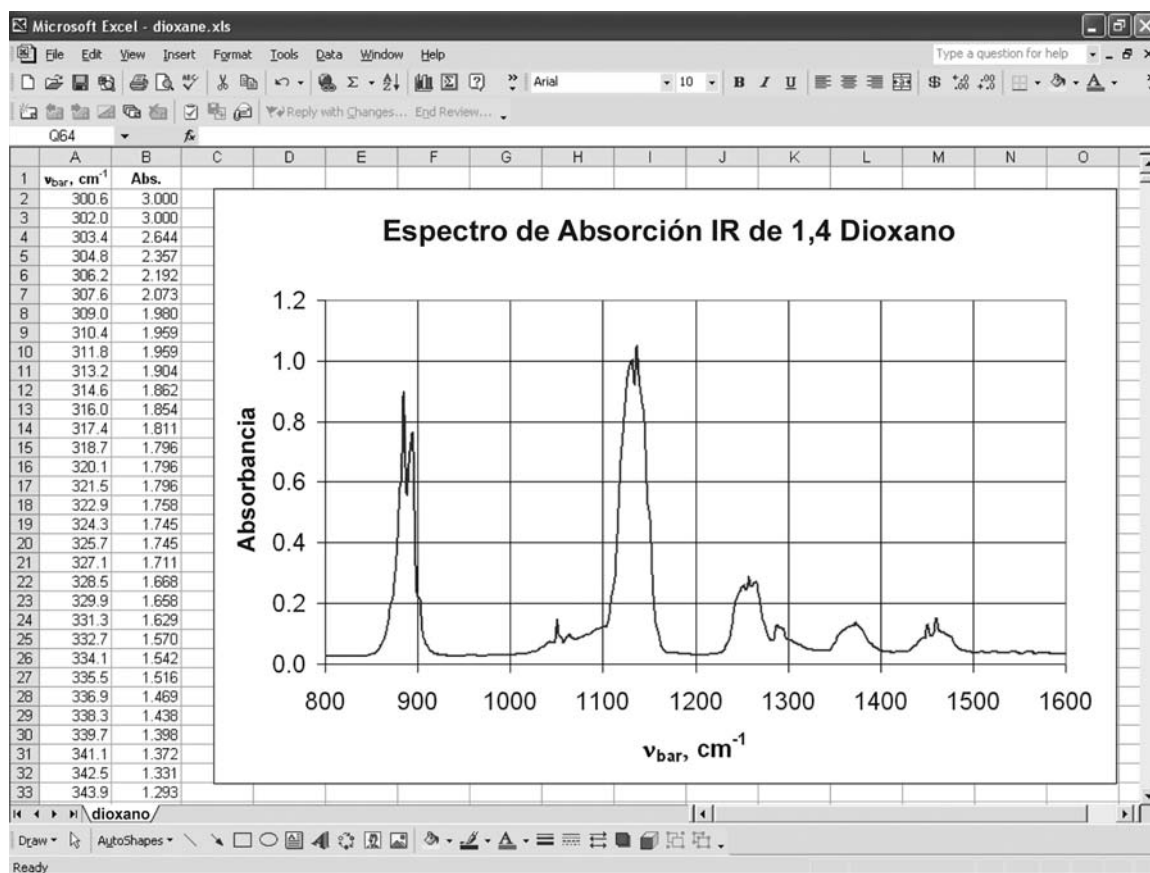


FIGURA 4.13 Hoja de cálculo en Excel con datos provenientes del espectro de absorción infrarroja de 1,4-dioxano.

4F PROGRAMAS PARA LAS COMPUTADORAS

Hace unos años los científicos tenían que escribir sus programas en lenguaje de máquina o en lenguaje de ensamble para adquirir y procesar datos y controlar experimentos. La era de las PC ha originado una amplia variedad de programas útiles para científicos, maestros, estudiantes, gente de negocios y usuarios comunes. En la actualidad hay programas para adquisición de datos, proceso estadístico, presentaciones con imágenes, elaboración de textos, aplicaciones de hojas de cálculo, administración de bases de datos y muchísimas otras aplicaciones. Hoy, los científicos escriben sus propios programas sólo en casos especializados para los cuales no existen programas comerciales. Los programas que se pueden elaborar se hacen en lenguajes de nivel más alto, como C, PASCAL o BASIC.

4F.1 Hojas de cálculo

Las hojas de cálculo se diseñaron originalmente como una herramienta para los negocios, pero cuando se vol-

vieron fáciles de usar, las personas de todos los campos empezaron a usarlas para realizar cálculos numéricos de todo tipo, incluidos los relacionados con la ciencia. Cuando los fabricantes de los programas se dieron cuenta de la diversidad de la clientela, empezaron a añadir funciones muy complejas y especializadas a sus hojas de cálculo. Por ejemplo, Microsoft® contiene ahora muchas funciones que se pueden aplicar para ahorrar pasos cuando se efectúan análisis estadísticos o de ingeniería complejos.³ Estas relaciones incluyen funciones estadísticas básicas, como media, desviación estándar, mediana, moda y varias funciones de distribución, y funciones estadísticas avanzadas, como los mínimos cuadrados lineales y no lineales, pruebas *t*, pruebas *F*, generación de números aleatorios y análisis de varianza.

En la figura 4.13 se muestra una hoja de cálculo de Excel para analizar y graficar archivos de datos del espectro. En las columnas A y B de la hoja están los datos del espectro infrarrojo del 1,4-dioxano. Los datos se recopilaron mediante un espectrómetro infrarrojo

³ Si desea más información relacionada con las hojas de cálculo, consulte S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

de transformada de Fourier. Varias compañías han elaborado programas para vaciar información directamente en hojas de cálculo como Excel. El usuario manipula luego los datos y ejecuta las funciones incorporadas de Excel o escribe las rutinas especializadas.

4F.2 Análisis estadístico

Muchos científicos usan paquetes de programas estadísticos para efectuar análisis más complejos o más completos que los que se pueden hacer con las hojas de cálculo. Entre algunos de los paquetes más comunes están MINITAB, SAS, SYSTAT, Origin, STATISTI-

CA, SigmaStat y STATGRAPHICS Plus. Además de las funciones estadísticas normales que están en muchos programas de hojas de cálculo, estos programas de estadística tienen la capacidad de realizar funciones más avanzadas como el diseño experimental, regresión parcial de mínimos cuadrados, análisis de componentes principales, análisis factorial, análisis de conglomerados, análisis de series temporales, generación de la gráfica de control y estadística no paramétrica.

En la figura 4.14 se muestran unos resultados representativos de MINITAB. En este caso se presenta la determinación de Na por espectrometría de llama mediante un estándar interno de Li y sin él. Las ventanas

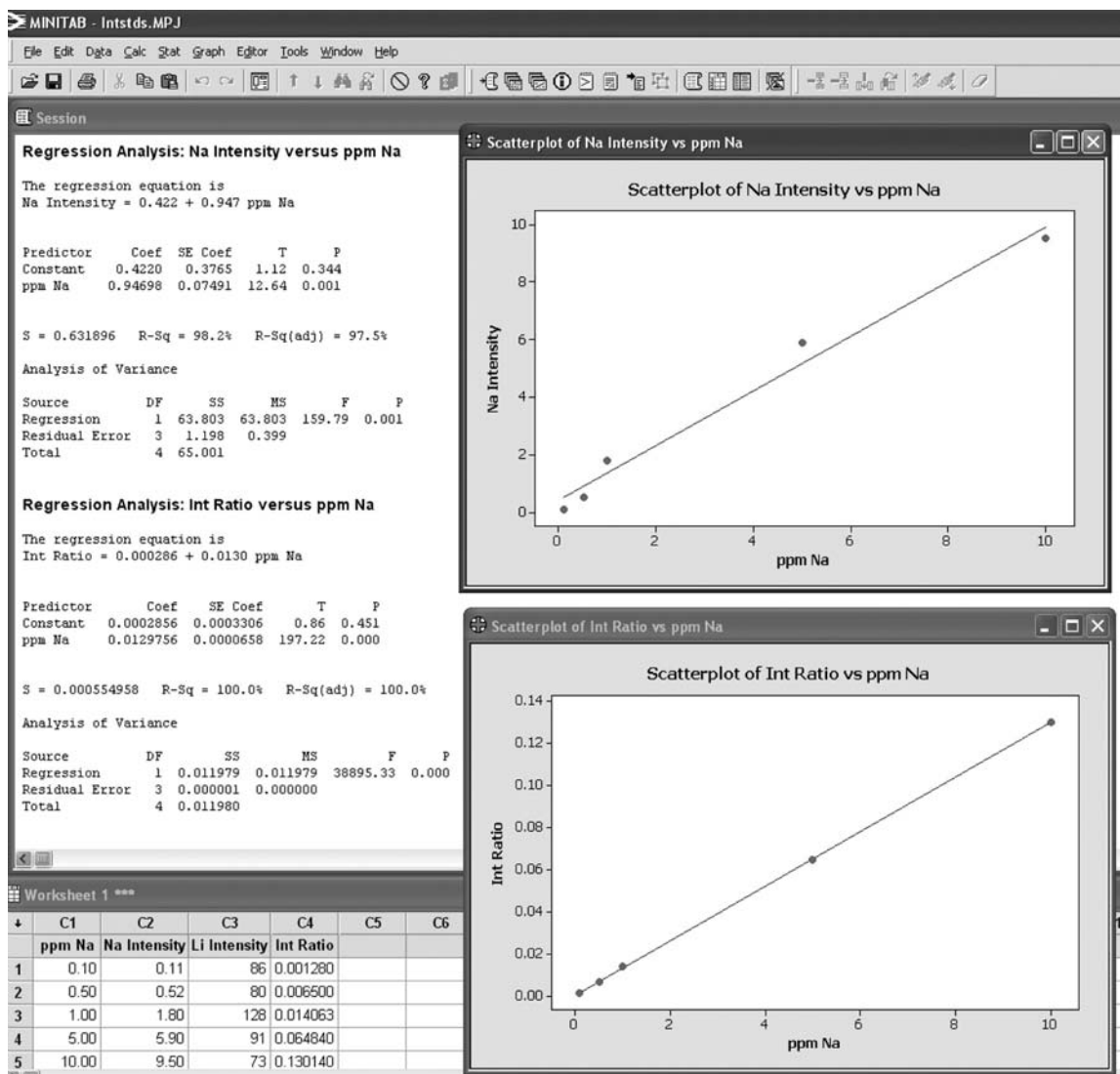


FIGURA 4.14 Resultados que proporciona MINITAB con el método del estándar interno para determinar sodio mediante espectrometría de llama. Los datos se muestran en la ventana de la hoja de trabajo en la parte inferior izquierda. La gráfica de dispersión superior es de la intensidad de Na contra concentración y la gráfica de dispersión inferior es de la relación entre la intensidad del Na y la del Li contra concentración. La estadística de regresión en la ventana de la sesión muestra que el método del estándar interno da la mejor linealidad.

abiertas muestran datos (ventana con hoja de trabajo), los estadísticos de la regresión (ventana de sesión) y las dos gráficas de dispersión x - y . Se considera que el método del estándar interno proporciona la mejor linealidad.

4F.3 Herramientas matemáticas

Hay varios tipos de herramientas matemáticas en el comercio. Una de interés especial para los químicos es el solucionador de ecuaciones, un programa que resuelve con rapidez ecuaciones matemáticas complejas como las que se encuentran en el estudio de equilibrios múltiples. Hay varios solucionadores de ecuaciones, como TK Solver, Mathematica y Mathcad. Todos tienen una gran aceptación y, por tanto, la elección depende de las tareas y de los recursos disponibles.

El TK Solver trae incorporadas muchas funciones y se complementa muy bien con Excel. Es un sistema de programación que se basa en reglas. Mathematica maneja cálculos simbólicos y permite elaborar modelos numéricos y simulaciones. Mathcad se ha vuelto popular en las ciencias físicas y en la ingeniería para resolver una gran cantidad de problemas de cálculo, desde análisis estadísticos elementales hasta problemas de eigenvalores y eigenvectores en química cuántica debido a su bajo costo, potencia, facilidad de uso y naturaleza intuitiva para representar expresiones matemáticas complejas.

Excel contiene *Solver*, una herramienta que es muy útil para resolver ecuaciones y ajustar modelos a los datos. En cuanto a los problemas químicos, el *Solver* de Excel se puede usar para ajustar modelos no lineales, tal como los que se encuentran en cinética, cromatografía y otros campos.⁴ En la figura 4.15 se presenta un ejemplo del uso del *Solver* de Excel para calcular la constante de Michaelis K_m y la velocidad máxima v_m de una reacción catalizada con enzimas. Las estimaciones iniciales dan un ajuste muy deficiente con los datos, como se ve en la figura 4.15a. Pero si se utiliza *Solver* para reducir al mínimo la suma de los cuadrados de los residuos (SSR, por sus siglas en inglés) se obtiene un ajuste mucho mejor en la figura 4.15b.

En la figura 4.16 se ilustra la aplicación de MINITAB a la elaboración de una gráfica de control para supervisar un proceso que produce un ácido débil. La molaridad del ácido se grafica y se obtienen los límites de control inferior y superior a partir de los datos.⁵ Se aprecia que una de las observaciones se sale de los límites de control.

También existen ya programas más complejos para trabajar con álgebra de matrices y varias aplicaciones.

MathWorks MATLAB es uno de los más populares. Además del programa básico, también está disponible una variedad de módulos de aplicaciones, llamados cajas de herramientas, para aplicarse en las matrices. Algunas de las cajas de herramientas disponibles incluyen estadística, control de instrumentos, quimiométrica, proceso de imágenes, bioinformática y proceso de señales. Aparte de los proporcionados por la compañía propietaria, muchos otros creadores de programas proporcionan herramientas que se pueden utilizar con MATLAB.

4F.4 Paquetes científicos

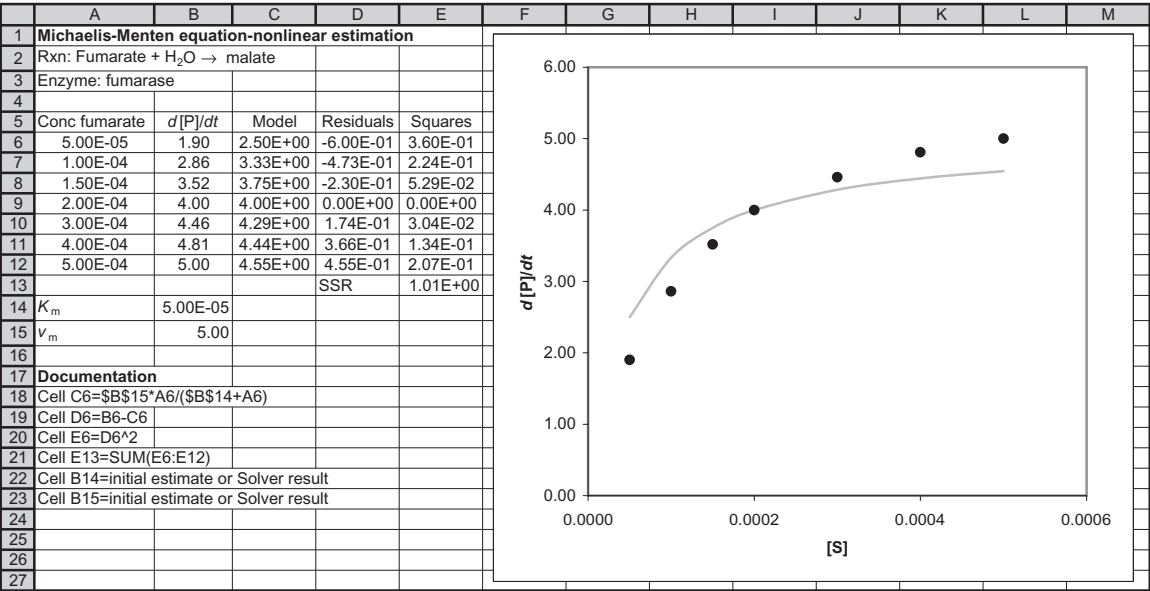
Se ha creado una cantidad de paquetes de programas para que se utilicen especialmente en química y las ciencias relacionadas. Los programas sirven para tareas tan diversas como el dibujo de estructuras de moléculas orgánicas (ChemWindows y ChemDraw), para efectuar cálculos termodinámicos (HSC Chemistry for Windows), ajustar curvas (TableCurve del programa SYSTAT y PeakFit), para análisis y gráficas de datos espectroscópicos (programa Thermo Electron's GRAMS) y para adquisición, análisis y presentación de datos de laboratorio (LabVIEW de National Instruments).

GRAMS

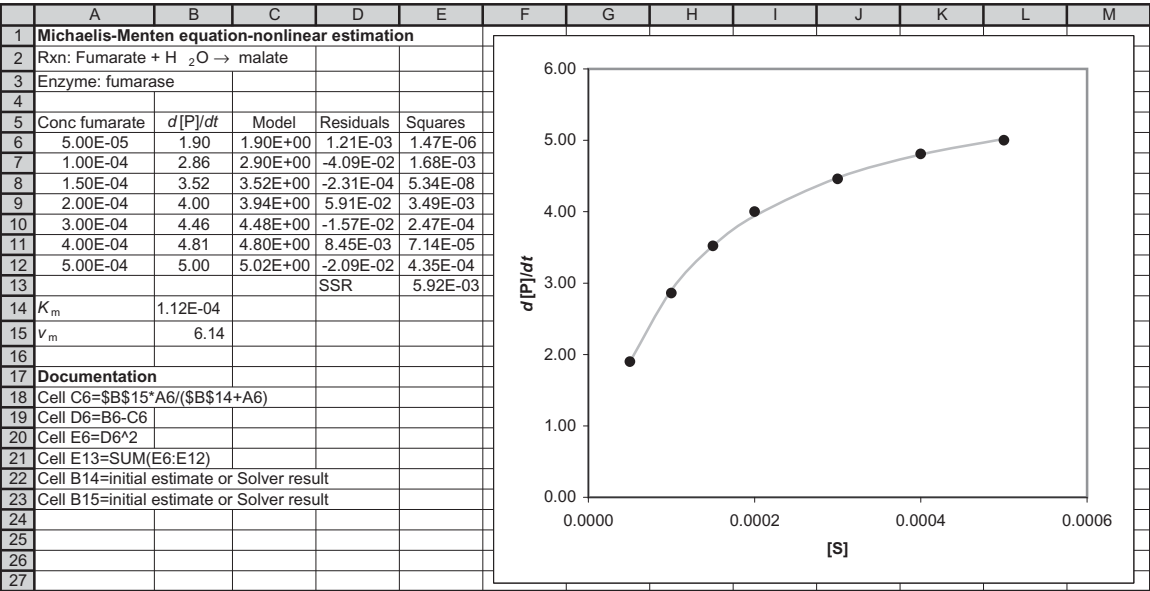
Con el fin de ilustrar la utilidad de los programas para analizar datos, considere el GRAMS (*graphic relational-array management system*), que se relaciona con espectrogramas y cromatogramas. GRAMS es un conjunto (*suite*) de módulos de programas integrados que giran alrededor del programa GRAMS/AI para procesar datos de espectroscopía y presentar informes. Los componentes de este conjunto de programas se pueden usar en forma individual o junto con GRAMS/AI. Entre los módulos se encuentra GRAMS/3D para ver y graficar conjuntos multidimensionales de datos, SPECTRAL DB para crear bases de datos que se pueden compartir entre grupos, y SPECTRAL ID para identificar espectros por sus cualidades. Además, los módulos son apropiados para crear modelos de calibración quimiométrica (PLSplus/IQ) o para intercambiar datos con Excel. GRAMS tiene la aptitud de leer, analizar y traducir archivos de datos generados por más de 100 instrumentos químicos distintos y otros paquetes de programas, como espectrómetros, cromatógrafos y otros instrumentos. Los documentos pueden ser traducidos a otros formatos, entre los cuales están código ASCII, formato delimitado mediante comas y formatos de hojas de cálculo, así como formatos estándar espectroscópicos como JCAMP. En la figura 4.17 se ilustra el uso de GRAMS/AI para ajustar máximos y líneas de referencia para una serie de picos cromatográficos sobrepuestos. Estos programas de cómputo son indispensables para determinar los componentes de una mezcla separada mediante cromatografía.

⁴Para mayor información consulte S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

⁵Para obtener información sobre gráficas de control véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8ª ed., Belmont, CA, Brooks/Cole, 2004, pp. 216-219.



a)



b)

FIGURA 4.15 Estimación no lineal mediante Solver de EXCEL para la cinética de enzimas. En a) se presentan los datos sobre la hidrólisis del fumarato en malato, con fumarasa como catalizador, en la forma de una razón, $d[P]/dt$, contra concentración de fumarato. Los cálculos iniciales de la constante de Michaelis K_m y la velocidad máxima v_m dan como resultado la línea que se muestra en la gráfica. En b) Solver ha minimizado la suma de los cuadrados de los residuos (SSR) y logra la convergencia de los valores de K_m y v_m que dan un ajuste mucho mejor para los puntos. (Tomado de S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, **2004**, pp. 264-265.)

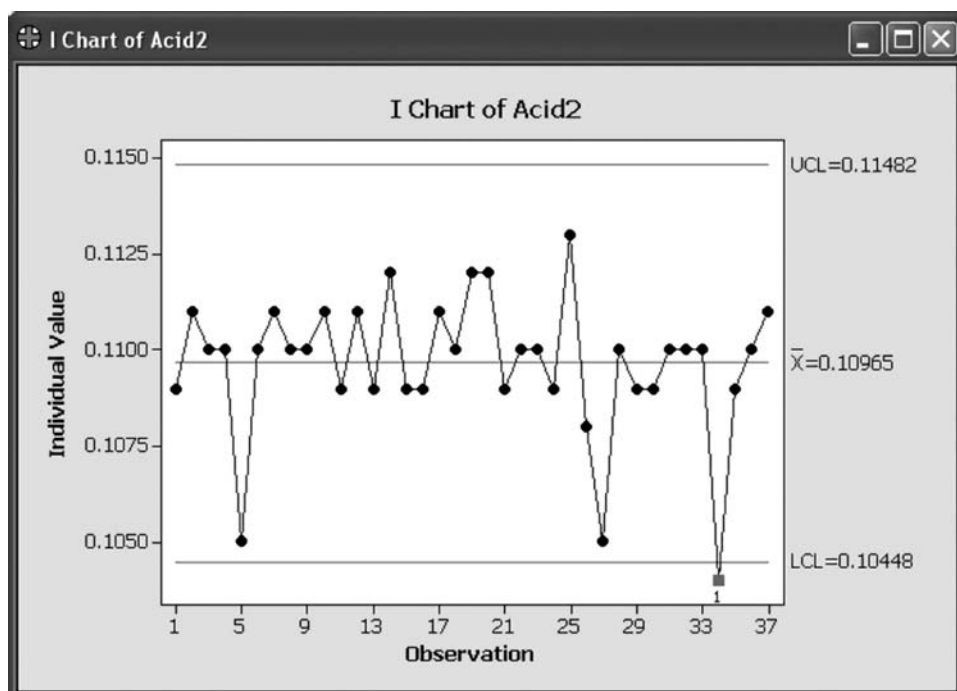


FIGURA 4.16 Salida de MINITAB para la gráfica de control de la producción de un ácido débil. Se muestran el valor medio $\bar{x}$, el límite de control superior (UCL) y el límite de control inferior (LCL). La observación 34 está más allá del LCL.

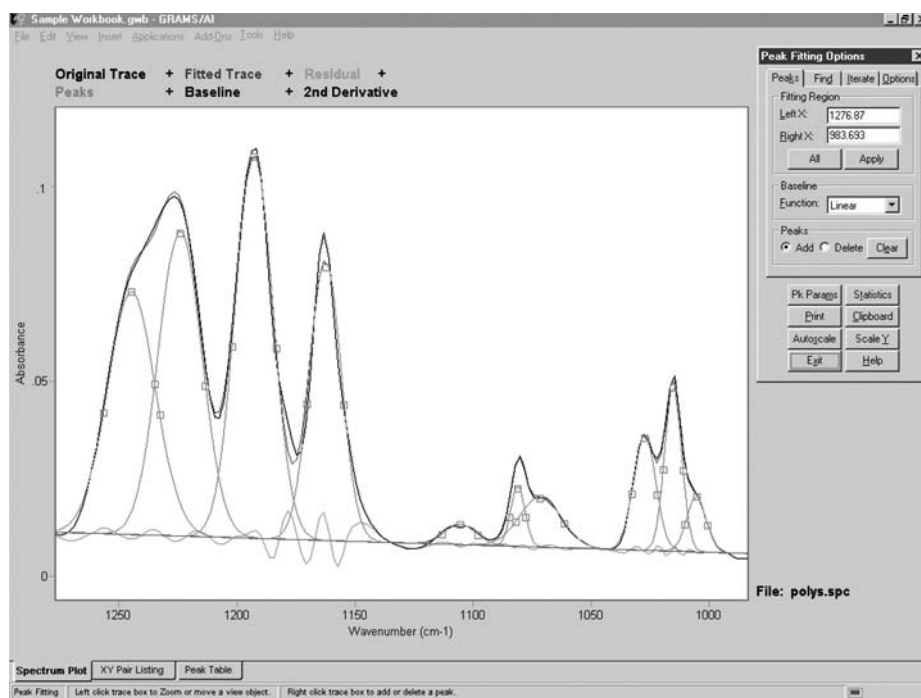


FIGURA 4.17 Representación en computadora de GRAMS/AI que se usa para ajustar los máximos y las líneas de referencia para varias señales en forma de pico superpuestas. (Cortesía de Thermo Electron Corp.)

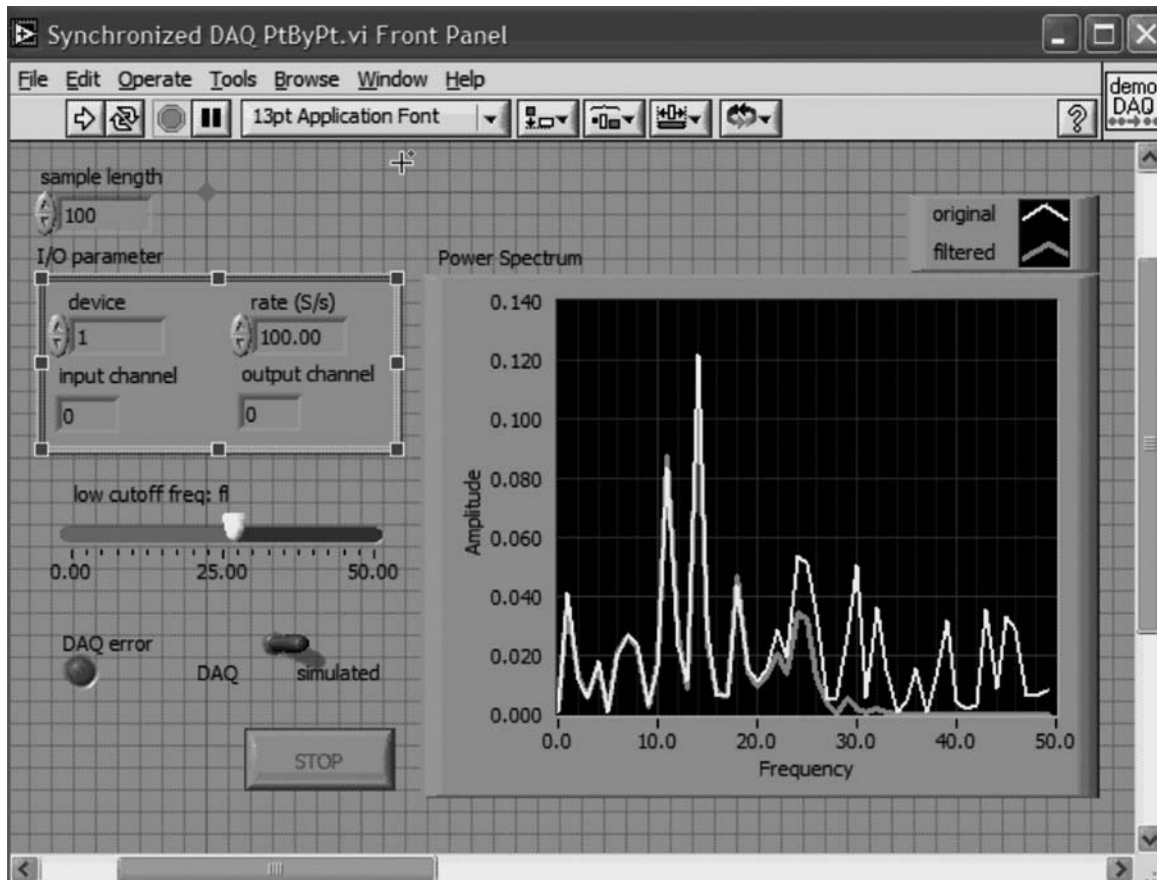


FIGURA 4.18 Panel frontal de LabVIEW de un sistema de adquisición de datos que permite al usuario elegir parámetros tales como rapidez de muestreo, longitud de la muestra y valores de filtración. (Reimpreso con autorización de National Instruments Corporation.)

Paquetes para elaborar gráficas

Varios programas proporcionan gráficas con la calidad necesaria para poder ser publicadas, y están diseñados para que las utilicen los científicos. Los programas de uso general, como Excel, tienen capacidades regularmente amplias para hacer gráficas, pero las posibilidades de estos programas más especializados son mayores, como la elaboración de gráficas en dos y tres dimensiones, generación de gráficas de contornos, graficación avanzada para estadística, graficación en ejes múltiples y muchas otras características. Los paquetes como SigmaPlot de SYSTAT, Origin de OriginLab y GRAMS/AI tienen características con las cuales los científicos pueden elaborar gráficas para su publicación, presentación y para el uso en el salón de clases.

LabVIEW

El programa LabVIEW proporciona un ambiente gráfico para la adquisición de datos a partir de una variedad de instrumentos con el propósito de efectuar muchos y diferentes tipos de análisis de datos y para

elaborar presentaciones de datos complejas. La sección de adquisición de datos de LabVIEW trabaja junto con las tarjetas de adquisición de datos de National Instruments. La información se puede adquirir con tarjetas conectables, dispositivos USB y sistemas basados en Ethernet. LabVIEW facilita que el usuario establezca instrumentos virtuales con paneles frontales adaptados a necesidades particulares para un objetivo y situaciones de medición especiales, como se muestra en la figura 4.18. Las piezas y los procesos se pueden representar mediante diagramas de bloques, como se muestra en la figura 4.19, y la conectividad se puede cambiar con rapidez.

La parte de análisis de datos de LabVIEW incluye herramientas como ajuste de curvas, generación de señales, análisis de máximos, análisis de Fourier, desconvolución, suavización y diversas operaciones matemáticas. El programa trae incorporados también otros programas matemáticos estándar como Mathcad y MATLAB.

En la parte de la presentación de LabVIEW se encuentra una variedad de herramientas para elabora-

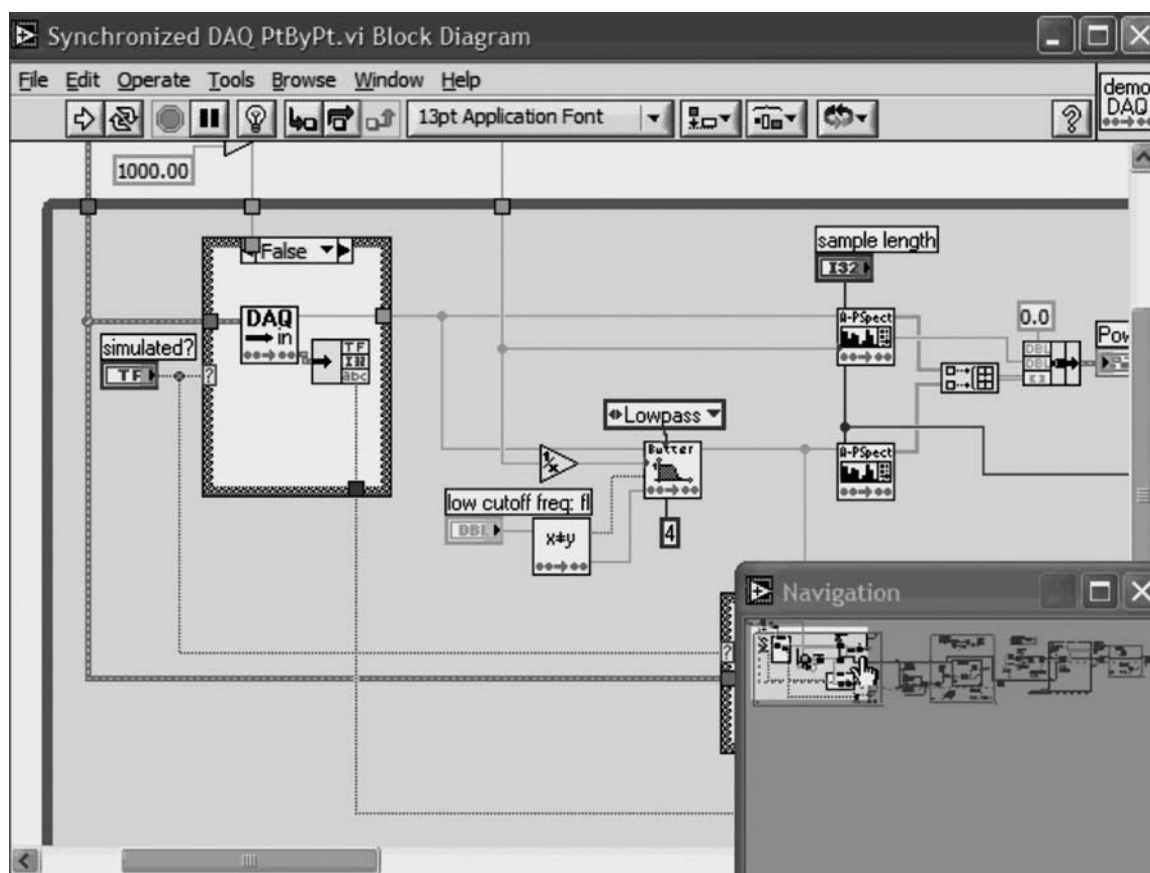


FIGURA 4.19 Diagrama de bloques de LabVIEW para los procesos de adquisición de datos y medición. (Reimpreso con autorización de National Instruments Corporation.)

ción de gráficas y representaciones en dos y tres dimensiones, herramientas para generar informes y herramientas para publicar en la red (*web*). Los paneles de control de los instrumentos y los diagramas de bloques se pueden publicar en la *web*, y se puede tener acceso a los instrumentos virtuales y controlarlos en forma remota en Internet.

El entorno de LabVIEW facilita la configuración de instrumentos virtuales y su uso con relativa facilidad. Existen muchas plantillas y una red extensa de usuarios que ayudan a perfeccionar aplicaciones para LabVIEW. El programa se usa ampliamente en la industria, en los laboratorios de investigación y en los de enseñanza.

4G APLICACIONES DE LAS COMPUTADORAS

Las interacciones de las computadoras y los instrumentos analíticos son de dos tipos, a saber, *pasivas* y *activas*. En las aplicaciones pasivas, la computadora sólo se usa para manejar, procesar, almacenar, buscar archivos o mostrar los datos y no participa en el control del experimento. En el caso de la interacción activa, la

salida desde la computadora controla la sucesión de pasos necesarios para la operación del instrumento. Por ejemplo, en una determinación espectroscópica, la computadora elige algunas veces la fuente apropiada, hace que la fuente se active y ajusta su intensidad a un grado conveniente, hace que la radiación atraviese la muestra y luego un blanco, controla el monocromador para escoger una longitud de onda aceptable, ajusta la respuesta del detector y registra la intensidad. Por otra parte, se podría programar a la computadora para que use la información a medida que está siendo recolectada para variar las condiciones experimentales de tal manera que se mejore la calidad de los datos posteriores. Se dice que los instrumentos controlados por computadora son automáticos.

4G.1 Aplicaciones pasivas

El procesamiento de información con ayuda de una computadora requiere a veces operaciones matemáticas relativamente sencillas, como cálculo de concentraciones, promedio de valores, análisis de mínimos cuadrados, análisis estadísticos e integración para ob-

tener áreas pico. Los cálculos más complejos son la resolución de varias ecuaciones simultáneas, el ajuste de curvas y la transformada de Fourier.

El almacenamiento de datos es otra importante función pasiva de las computadoras. Por ejemplo, se obtiene una herramienta potente para analizar mezclas complejas cuando la cromatografía de gases (CG) se une con la espectrometría de masas (EM) (véase capítulos 11, 20 y 27). La cromatografía de gases separa mezclas con base en el tiempo que necesita cada componente para aparecer al final de una columna apropiadamente empacada. Con la espectrometría de masas se puede identificar cada uno de los componentes de acuerdo con la masa de los fragmentos que se forman cuando el compuesto se bombardea con uno de varios tipos de partículas, por ejemplo, electrones. El equipo de CG/EM puede proporcionar información en la forma de alrededor de 100 espectros en unos minutos, cada uno de ellos formado por decenas o centenas de picos. Con frecuencia es imposible convertir esta información en una forma que se pueda interpretar (una gráfica) en tiempo real. Por tanto, la información se almacena en forma digital para procesarla después y presentarla en forma gráfica.

La identificación de una especie a partir de su espectro de masa requiere buscar en archivos de espectros de los compuestos puros hasta que coincida con alguno. Si se hiciera en forma manual, este proceso requeriría mucho tiempo, pero con una computadora se logra rápidamente. Los espectros de los compuestos puros deben estar almacenados en el disco duro, y se busca entre ellos hasta que se encuentra uno similar al analito. Se pueden explorar varios miles de espectros en un minuto o menos. Por lo general, esta búsqueda da varios compuestos posibles. Después, los investigadores hacen las comparaciones de los espectros y a menudo llegan a una identificación.

Otra aplicación pasiva importante de la potencia de las computadoras en CG/EM utiliza las posibilidades de búsqueda de datos a alta velocidad y su capacidad de correlación. Por consiguiente, se le puede indicar a la computadora que muestre en el monitor el espectro de masa de cualquiera de los componentes separados después de que ha salido de una columna cromatográfica de gases.

4G.2 Aplicaciones activas

En el caso de las aplicaciones activas, sólo una parte del tiempo de la computadora se destina a la recolección de datos y el resto se usa para procesarlos y controlarlos. Por tanto, las aplicaciones activas son operaciones en tiempo real. La mayor parte de los instrumentos modernos contienen uno o más microprocesadores que desarrollan funciones de control. Entre los ejemplos están el ajuste de I) el ancho de la ranura

y los parámetros de longitud de onda de un monocromador, 2) la temperatura de una columna cromatográfica, 3) el potencial aplicado a un electrodo, 4) el ritmo de adición de un reactivo y 5) el tiempo en el cual empezará la integración de un pico. En el caso del instrumento CG/EM que se consideró en la última sección, a menudo se usa una computadora para iniciar la recolección de datos de los espectros cada vez que un compuesto es detectado al final de la columna cromatográfica.

El control de la computadora es relativamente sencillo, como en los ejemplos apenas citados, o más complejo. Por ejemplo, la determinación de la concentración de los elementos mediante espectroscopía de emisión atómica requiere la medición de las alturas de las líneas de emisión, las cuales se encuentran a longitudes de onda características para cada elemento (véase capítulo 10). En este caso, la computadora hace que un monocromador barra con rapidez un intervalo de longitudes de onda hasta que se detecte un pico. La rapidez de barrido se disminuye luego para determinar mejor la longitud de onda exacta a la cual se obtiene la señal de salida máxima. Las mediciones de intensidad se repiten en este punto hasta que se obtiene un valor promedio que da una relación entre señal y ruido apropiada (véase capítulo 5). Entonces, la computadora hace que el instrumento repita esta operación por cada pico de interés en el espectro. Para terminar, la computadora calcula y envía a la impresora las concentraciones del elemento presente.

Debido a su gran velocidad, una computadora puede controlar variables con mayor eficacia que un operador humano. Además, en el caso de algunos experimentos, se le puede programar para modificar el modo en que se efectúa la medición de acuerdo con los datos iniciales. En este caso, se usa un lazo de retroalimentación en el cual la salida de la señal se convierte en información digital y se retroalimenta a la computadora, y sirve para controlar y mejorar la manera como se efectúan las mediciones posteriores.

4H REDES DE COMPUTADORAS

La conexión de dos o más computadoras genera una red. En el mundo actual las redes están en todas partes. Se obtiene dinero de los cajeros automáticos, se obtiene información de Internet y se ven programas de televisión digital por cable. Todos estos ejemplos requieren una red de computadoras. En la actualidad las redes aumentan de manera notable la eficacia con la cual la información se puede transmitir y organizar.⁶

⁶Por ejemplo, véase J. Habraken y M. Hayden, *Sams Teach Yourself Networking in 24 Hours*, Indianapolis, IN: Sams Publishing, 2004; L. L. Peterson y B. S. Davie, *Computer Networks: A Systems Approach*, 3a. ed., Nueva York: Elsevier, 2003; A. S. Tanenbaum, *Computer Networks*, 4a. ed., Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall PTR, 2002.

4H.1 Tipos de redes

Las redes comprenden una gran cantidad de posibles interacciones entre computadoras, pero se pueden clasificar en redes de área local, redes de área amplia e Internet. Ninguna de las redes físicas que se describen a continuación operará si las máquinas interconectadas no contienen los programas correctos.

Redes de área local

Una *red de área local* (LAN, por sus siglas en inglés) es el tipo menos complicado de red. Una red de este tipo es un grupo de computadoras conectadas que se ubican en un mismo lugar. La red de área local común puede transferir datos a velocidades que van desde unos pocos megabits por segundo (Mbps) a gigabits por segundo (Gbps).

Muchas redes están conectadas mediante cables. A últimas fechas han surgido redes inalámbricas, las cuales permiten que las computadoras interactúen mediante ondas de radio enviadas desde un transmisor hasta los receptores. Hace unos años las redes de área local alámbricas utilizaban una arquitectura tipo bus, en la que las computadoras se conectaban a un cable largo, que era el bus, con varias tomas en toda su longitud como se ilustra en la figura 4.20a. Si alguno de estos enlaces entre computadoras se rompía en una parte del bus, toda la red dejaba de funcionar. Las redes coaxiales Ethernet (10Base5 y 10Base2) fueron ejemplos de las redes con bus. Ahora han sido reemplazadas por las redes más modernas de disposición en estrella. Las redes de par torcido Ethernet (10BaseT o 100BaseT) utilizan el acomodo en estrella que se ilustra en la figura 4.20b. Las redes en estrella son más sólidas y menos propensas a las interrup-

ciones que las redes con bus. Las redes en anillo tienen una configuración similar a la de la red en estrella, pero en la red en anillo la información circula en un anillo alrededor de la red. La red anillo de prueba IBM y la red con interfase para datos distribuidos por fibra óptica se apoyan en estructuras de anillo.

Las computadoras en las que trabaja un usuario y que están conectadas a una red se llaman *estaciones de trabajo*. Una computadora que comparte sus recursos con otras computadoras de la red se llama *servidor*. Además de estos dispositivos físicos, los nodos de la red, las unidades de acceso, las tarjetas de red y los alambres y cables adecuados, se necesita un programa para establecer la red de área local.

Redes de área amplia

Un segundo tipo es la *red de área amplia* (WAN, por sus siglas en inglés). Con una red de este tipo, las computadoras conectadas están dispersas en varios lugares. Por lo regular está integrada por redes de área local unidas mediante interconexiones y dispositivos de alta velocidad llamados *encaminadores*, *enrutadores* o *selectores de vía* que manejan el flujo de datos. En general, se tiene acceso a las redes de área amplia a través de las líneas de telefonía digital alquiladas (líneas portadoras T) que operan en Estados Unidos a 1.5 Mbps (líneas T-1) o a 45 Mbps (líneas T-3 o DS3). Éstas pueden ser muy caras, ya que llegan a costar miles de dólares por mes.

Internet

Para terminar, está Internet, la cual es capaz de transmitir en forma digital representaciones de una variedad



FIGURA 4.20 Disposición de las redes. En a) se ilustra la disposición con bus. En este caso, las computadoras se comunican mediante un largo bus. Se requiere instalar programas en todos los dispositivos para que haya comunicación. En b) se muestra la disposición en estrella. Aquí, las computadoras se conectan entre sí mediante una caja de enlace o nodo de acceso. En c) se presenta el acomodo en anillo de prueba. La información circula en un anillo alrededor de la red.

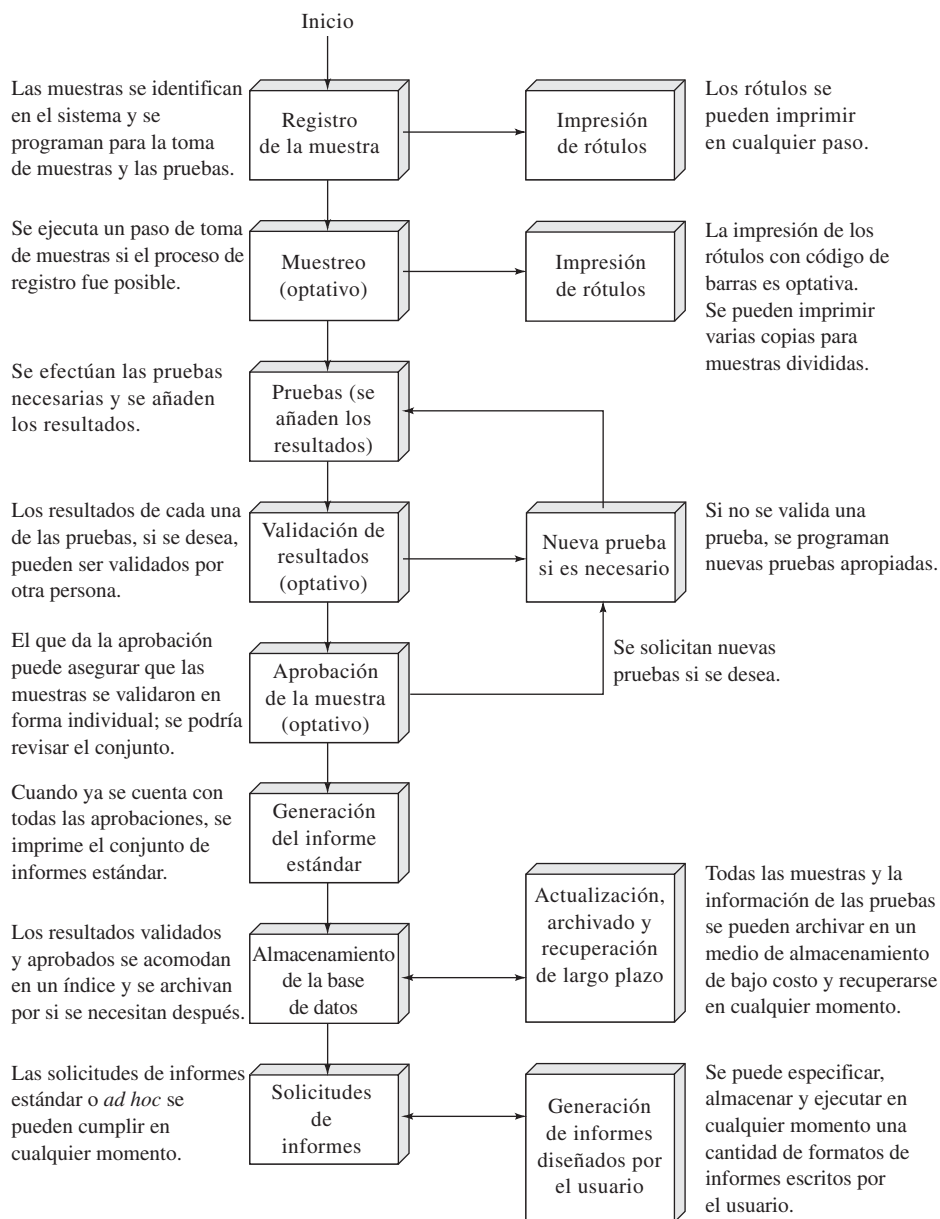


FIGURA 4.21 Datos de un sistema que administra la información de laboratorio y un panorama del control de la muestra. (Reimpreso con autorización de F. I. Scott, *Amer. Lab.*, 1987, pp. 19 (11), 50. Copyright 1987 by International Scientific Communications, Inc.)

casi increíble de información en texto, gráficas, imágenes, audios y videos en todo el mundo. En realidad, Internet es una red de redes. Se puede entrar en ella de diferentes modos, a saber, mediante una línea telefónica conmutada estándar, por medio de un módem de cable que use las mismas líneas de cable coaxial por las que circulan las señales de televisión por cable y a través de una *línea digital para suscriptor* (DSL, por sus siglas en inglés), que es una línea telefónica privada

subdividida para transmitir datos. La línea telefónica conmutada está limitada de ordinario a una velocidad de transmisión de 56 kilobaudios. Las conexiones del módem de cable y de la DSL reciben el nombre de conexiones de *banda ancha*. Un módem de cable es mucho más rápido que la línea conmutada, con un máximo de 2.8 Mbps. No obstante, como las comunicaciones por cable se basan en una disposición de red compartida, la banda ancha no siempre está dispo-

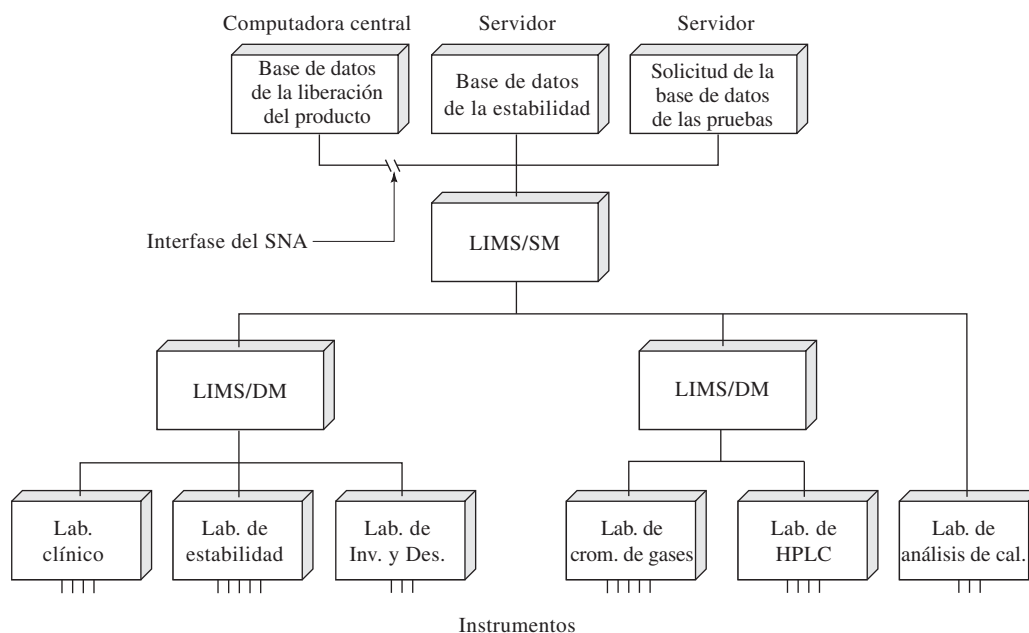


FIGURA 4.22 Diagrama de bloques de un sistema para laboratorio totalmente automatizado. (Reimpreso con autorización de E. L. Cooper y E. J. Turkel, *Amer. Lab.*, 1988, pp. 20 (3), 42. Copyright 1988 by International Scientific Communications, Inc.)

nible cuando se necesita. Un tipo de línea digital para subscritor, la DSL asimétrica, puede proporcionar velocidades para recibir información de más de 6 Mbps y velocidades para enviar información de más de 600 kilobits por segundo. Puesto que la DSL tiene una línea telefónica privada, no hay degradación en la velocidad cuando aumenta la cantidad de usuarios. Pero la velocidad sí depende de la distancia entre el subscritor y la central telefónica. La seguridad es también menor con DSL que con los módems de cable.

Con el paso del tiempo, Internet proporcionará información virtualmente a todos los hogares por medio de cables de líneas telefónicas de alta velocidad, a cientos de megabits por segundo. En la actualidad, gran parte de la información mundial, sin olvidar datos científicos, publicaciones y otros tipos de informes ya están disponibles en la red.

4H.2 Sistemas para administrar la información del laboratorio

Las computadoras conectadas en red en un laboratorio dan como resultado una enorme cantidad de información que se tiene que organizar, manipular y almacenar. Además, las regulaciones gubernamentales, la validación de las muestras y el control de calidad determinan que esos datos se tienen que archivar y estar disponibles cuando se les necesite. Un sistema que ad-

ministre la información del laboratorio (LIMS, por sus siglas en inglés) puede dirigir estos aspectos.⁷

Un sistema de administración muy bien diseñado contiene toda la información de todas las muestras y los proyectos que se han terminado o que están en curso. En la figura 4.21 están resumidos muchos de los procesos que se podrían controlar mediante un sistema que administre la información en un laboratorio en el que se efectúen pruebas, y se proporciona un panorama de algunas de las opciones que se podrían tener cuando se procesa una muestra. Para finalizar, en la figura 4.22 hay un diagrama de bloques de un sistema computarizado diseñado para automatizar por completo un laboratorio. Observe que en la parte inferior de la figura se indican laboratorios completos mediante cajas. Dentro de cada uno de estos laboratorios se podría utilizar una red de área local para coordinar las actividades y comunicarse con el nivel siguiente en la jerarquía. En este sistema se ve que se utilizan dos tipos diferentes de sistemas de administración de la información del laboratorio. Los que están señalados como MD son el estándar para los LIMS de manejo de datos, la designación MS significa manejo de la muestra en el sistema. En esencia, la

⁷Para mayor información, refiérase a C. Paszko y E. Crossland, *Laboratory Information Management Systems*, 2a. ed., Nueva York: Dekker, 2001.

única diferencia entre estas computadoras coordinadoras, o servidores, es el programa que controla la comunicación y el manejo de los datos. La interfase entre las redes de la arquitectura de red de sistemas

(SNA, por sus siglas en inglés) representa un medio para conectar el conglomerado de computadoras de este laboratorio con el servidor principal que se ubica en las oficinas centrales de la empresa.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- *4.1** Convierta los siguientes números decimales en su equivalente binario.
a) 24 b) 91 c) 135 d) 396
- *4.2** Convierta los números decimales del problema 4.1 en números decimales codificados en binario.
- 4.3** Con base en los resultados de los problemas 4.1 y 4.2, ¿cuál sistema es más eficaz para expresar números decimales en la menor cantidad de bits, el binario o el decimal codificado en binario? ¿Por qué el esquema de codificación menos eficaz es todavía muy útil?
- *4.4** Convierta los siguientes números binarios en su equivalente decimal.
a) 101 b) 10101 c) 1110101 d) 1101011011
- *4.5** Convierta los siguientes números decimales codificados en binario en su equivalente decimal.
a) 0100 b) 1000 1001 c) 0011 0100 0111 d) 1001 0110 1000
- 4.6** Con base en los resultados de los problemas 4.4 y 4.5, ¿cuál de los dos esquemas de codificación es más fácil de convertir en decimal, el binario o el decimal codificado en binario? ¿Por qué?
- *4.7** Ejecute los cálculos siguientes mediante números binarios y transforme el resultado de nuevo en decimal.
a) $9 + 6$ b) $341 + 29$ c) $47 + 16$ d) 3×8
- *4.8** Tres convertidores de señales analógicas en digitales tienen un intervalo de valores de 0 a 10 V y una incertidumbre de digitalización de ± 1 LSB. ¿Cuál es la incertidumbre máxima en la digitalización de una señal de 10 V si el convertidor tiene
a) 8 bits? b) 12 bits? c) 16 bits?
- 4.9** Repita el problema 4.8 para una señal de 1 V que se digitaliza con los mismos tres convertidores de señales analógicas en digitales y la señal de entrada es a) sin amplificación y b) amplificada en 10 para llevarla a escala completa.
- 4.10** El porcentaje máximo de error de un voltaje procesado por un convertidor de señales analógicas en digitales está dado por la siguiente ecuación:
- $$\% \text{ máximo de error} = (\text{incertidumbre máxima/voltaje medido}) \times 100\%$$
- Si se usa el mismo convertidor, ¿cómo son los porcentajes de error en los voltajes medidos si éstos son de 10 V y 1 V?
- *4.11** Los convertidores de señales analógicas trabajan a diferentes velocidades. ¿Qué velocidad de conversión se requiere si se toman muestras de un pico cromatográ-

fico y se digitaliza 20 veces entre la primera deflexión positiva a partir de la línea de referencia hasta que el pico regresa a dicha línea? El tiempo de línea de referencia a línea de referencia es a) 20 s y b) 1 s.

- *4.12 Según el criterio de toma de muestras de Nyquist (véase sección 5C.2), una señal se debe digitalizar a una velocidad de por lo menos el doble de la frecuencia más alta en la señal para evitar un error de muestreo. Si un convertidor de señales analógicas en digitales de 12 bits tiene un tiempo de conversión de 8 ms, ¿cuál es la frecuencia más alta que se puede digitalizar con exactitud a la vez que se cumple el criterio de Nyquist?

Problema de reto

- 4.13 Mediante un buscador como Google obtenga información relacionada con Gordon E. Moore y la ley de Moore, la famosa ley sobre los adelantos técnicos que él propuso.
- ¿Qué dice la ley de Moore? Haga una breve descripción con sus propias palabras.
 - ¿Quién es Gordon E. Moore? ¿Cuál fue su posición en la época en que formuló su ley? ¿De qué compañía fue cofundador? ¿Con quién fundó esta compañía?
 - ¿En qué área obtuvo Gordon E. Moore su grado de licenciatura? ¿En qué universidad recibió este grado? ¿En dónde se doctoró? ¿Qué tema trató en su tesis de doctorado?
 - ¿Qué físico ganador del Premio Nobel le dio a Gordon E. Moore su primera oportunidad de trabajo?
 - ¿Cuál fue el número del primer microprocesador que se creó en la compañía de Moore y cuántos transistores tenía? ¿Cuándo fue dado a conocer?
 - Una importante referencia del avance en la computación es la razón rendimiento-precio de las computadoras.⁸ Esta razón es la cantidad de bits por palabra dividida entre el tiempo del ciclo ($1/\text{velocidad del reloj}$) y el precio. La primera computadora personal de IBM (1981) con una longitud de palabra de 8 bits, un reloj de 4.77 MHz y un precio de 5000 dólares tenía una razón de ~ 7600 . Computadoras fabricadas con otros importantes procesadores se enlistan en la tabla siguiente. Calcule la razón rendimiento-precio de cada una de ellas. ¿Se cumple la ley de Moore en cuanto a la razón rendimiento-precio? ¿Cómo llegó a esa conclusión?

Tipo de procesador	Año	Velocidad del reloj, MHz	Bits/palabra	Precio en dólares
286	1982	6.0	16	5000
486	1989	25	32	4000
Pentium	1993	60	32	3500
Pentium II	1997	266	32	3000
Pentium III	1999	700	32	2500
Pentium 4	2000	3000	64	2000

⁸Véase S. R. Crouch y T. V. Atkinson, *Anal. Chem.* **2000**, 72, pp. 596A-603A.

Señales y ruido

Cada medición analítica está constituida por dos componentes. El primero, la **señal**, lleva información acerca del analito de interés para el científico. El segundo, llamado **ruido**, es información extraña que no se desea porque degrada la exactitud y precisión de un análisis y también coloca un límite inferior en la cantidad de analito que se puede detectar. En este capítulo se tratan algunas de las fuentes comunes de ruido y cómo se puede reducir sus efectos.

5A LA RELACIÓN SEÑAL/RUIDO

El efecto del ruido¹ en una señal se muestra en la figura 5.1a, que es el registro de una gráfica de franjas de una corriente directa pequeña de 10^{-15} A. La figura 5.1b, es una gráfica teórica de la misma corriente en ausencia de ruido.² La diferencia entre las dos gráficas corresponde al ruido relacionado con este experimento. Por desgracia, los datos sin ruido, como los que se muestran en la figura 5.1b, nunca pueden producirse en el laboratorio porque algunos tipos de ruido surgen de efectos termodinámicos y cuánticos que son imposibles de evitar en una medición.

En la mayor parte de las mediciones, la intensidad promedio del ruido N es constante e independiente de la magnitud de la señal S . Así, el efecto del ruido en el error relativo de una medición se vuelve cada vez mayor a medida que la cantidad que se mide disminuye en magnitud. Por esta razón, la *relación señal/ruido* (S/N) es una cifra de mérito mucho más útil que el ruido solo para describir la calidad de un método analítico o el desempeño de un instrumento.

Para una señal cd, como la que se muestra en la figura 5.1a, la magnitud del ruido se define de manera conveniente como la desviación estándar s de numerosas mediciones de la intensidad de señal, y la señal está dada por la media $\bar{x}$ de las mediciones. Así, S/N se determina mediante

$$\frac{S}{N} = \frac{\text{media}}{\text{desviación estándar}} = \frac{\bar{x}}{s} \quad (5.1)$$

Observe que la relación señal/ruido $\bar{x}/s$ es el recíproco de la desviación estándar relativa (RSD, por sus siglas en inglés. Véase la sección a1B.1, apéndice 1) del grupo de mediciones. Es decir,

$$\frac{S}{N} = \frac{1}{\text{RSD}} \quad (5.2)$$

En el caso de una señal registrada como la que se muestra en la figura 5.1a, la desviación estándar se pue-

¹ El término *ruido* deriva de la ingeniería de radio, donde la presencia de una señal no deseada se manifiesta como estática de audio o ruido. El término se aplica ahora en ciencia e ingeniería para describir las fluctuaciones aleatorias que se presentan siempre que se hacen mediciones duplicadas en señales que se supervisan de manera continua. Las fluctuaciones aleatorias se describen y tratan por medio de métodos estadísticos (véase la sección a1B, apéndice 1).

² Para un estudio más detallado del ruido, véase T. Coor, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, pp. A533 y A583; G. M. Hieftje, *Anal. Chem.*, **1972**, 44 (6), p. 81A; A. Bezegh y J. Janata, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 494A; M. E. Green, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, p. 600; H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, Washington, DC: American Chemical Society, 1994.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad de estudiar en línea en <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, que lo enlaza con clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

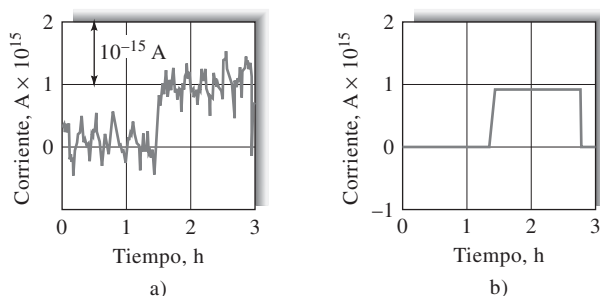


FIGURA 5.1 Efecto del ruido en una medida de corriente: a) registro de gráfica de barras experimental de una corriente directa de 0.9×10^{-15} A, b) media de las fluctuaciones. (Adaptado de T. Coor, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, p. A594. Con autorización.)

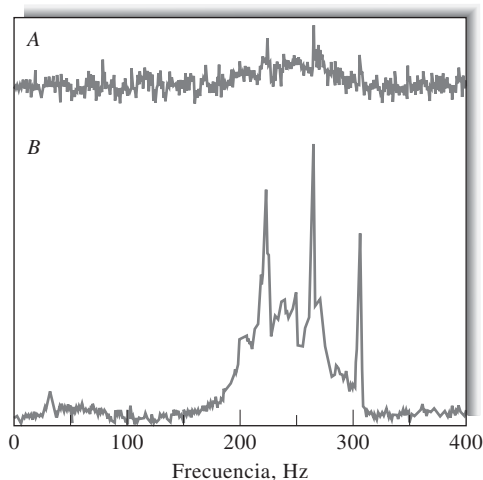


FIGURA 5.2 Efecto de la relación señal/ruido en el espectro de resonancia magnética nuclear de la progesterona: A, $S/N = 4.3$; B, $S/N = 43$. (Adaptado de R. R. Ernst y W. A. Anderson, *Rev. Sci. Instr.*, **1966**, 37, p. 101. Con autorización.)

de calcular con facilidad con un nivel de confianza de 99% al dividir la diferencia entre la señal máxima y mínima entre cinco. En este caso se supone que las excursiones a partir de la media son aleatorias y pueden ser tratadas mediante métodos estadísticos. En la figura a1.5 del apéndice 1 se ve que 99% de los datos bajo la curva de error normal quedan dentro de $\pm 2.5 \sigma$ de la media. Así, se puede decir con 99% de certeza que la diferencia entre el máximo y el mínimo abarca 5σ . Un quinto de la diferencia es entonces un buen cálculo de la desviación estándar.

Como regla general, se vuelve imposible detectar una señal cuando la relación señal/ruido es menor que 2 o 3. En la figura 5.2 se ilustra esta regla. La gráfica superior es un espectro de resonancia magnética nuclear (RMN) para la progesterona con una relación

señal/ruido alrededor de 4.3. En la gráfica inferior la relación es 43. En la relación señal/ruido más pequeña, sólo algunos de los distintos picos se pueden identificar con certeza.

5B FUENTES DE RUIDO EN ANÁLISIS INSTRUMENTAL

Los análisis químicos son afectados por dos tipos de ruido: el químico y el instrumental.

5B.1 Ruido químico

El ruido químico surge de una serie de variables incontrolables que afectan las características químicas del sistema que se analiza. Entre los ejemplos están las variaciones no detectadas en la temperatura o la presión que afectan la posición de los equilibrios químicos, fluctuaciones en la humedad relativa que causan cambios en el contenido de humedad de las muestras, vibraciones que ocasionan la estratificación de sólidos pulverizados, cambios en la intensidad de la luz que afectan a los materiales fotosensibles y vapores de laboratorio que interactúan con las muestras o reactivos. Los detalles de los efectos del ruido químico aparecen en capítulos posteriores que tratan de los métodos instrumentales específicos. En este capítulo se centra la atención exclusivamente en el ruido instrumental.

5B.2 Ruido instrumental

El ruido se relaciona con cada componente de un instrumento; es decir, con la fuente, el transductor de entrada, los elementos que procesan la señal y el transductor de salida. Además, el ruido de cada uno de estos elementos puede ser de varios tipos y puede surgir de varias fuentes. Así, al final se observa que el ruido es un compuesto complejo que, por lo común, no se puede caracterizar por completo. Ciertas clases de ruido instrumental son reconocibles: 1) ruido térmico o de Johnson; 2) ruido de disparo; 3) ruido fluctuante o $1/f$, y 4) ruido ambiental. Es útil considerar las propiedades de las cuatro clases de ruido.

Ruido térmico o de Johnson

El ruido térmico es causado por la agitación térmica de los electrones u otros portadores de carga en resistores, capacitores, transductores de radiación, celdas electroquímicas y otros elementos resistivos de un instrumento. Esta agitación de partículas cargadas es aleatoria y crea irregularidades de carga en forma periódica, las cuales a su vez originan fluctuaciones de voltaje que aparecen después en la lectura como ruido.

Es importante notar que el ruido térmico está presente en un elemento resistivo incluso en ausencia de corriente y desaparece sólo en el cero absoluto.

La magnitud del ruido térmico en un elemento de circuito resistivo se puede deducir a partir de consideraciones termodinámicas³ y está dada por

$$\bar{v}_{\text{rms}} = \sqrt{4kTR\Delta f} \quad (5.3)$$

donde $\bar{v}_{\text{rms}}$ es la raíz cuadrática media del voltaje de ruido que está en un ancho de banda de frecuencia de Δf Hz, k es la constante de Boltzmann (1.38×10^{-23} J/K), T es la temperatura en kelvin y R la resistencia del elemento resistivo en ohms.

En la sección 3B.4 se analiza la relación entre el tiempo de subida t_r y el ancho de banda Δf de un amplificador operacional. Estas variables se usan también para caracterizar la capacidad de instrumentos completos para transducir y transmitir información, porque

$$\Delta f = \frac{1}{3t_r} \quad (5.4)$$

El tiempo de subida de un instrumento es su tiempo de respuesta en segundos a un cambio abrupto en la entrada y por lo regular se toma como el tiempo que se requiere para que la salida aumente de 10 a 90% de su valor final. Así, si el tiempo de subida es 0.01 s, el ancho de banda Δf es 33 Hz.

La ecuación 5.3 hace pensar que el ruido térmico se puede disminuir al reducir el ancho de banda. Sin embargo, cuando se reduce el ancho de banda, el instrumento se vuelve más lento para responder a un cambio de señal y se requiere más tiempo para hacer una medida confiable.

EJEMPLO 5.1

¿Cómo afecta al ruido térmico la disminución del tiempo de respuesta de un instrumento de 1 s a 1 μ s?

Solución

Si se supone que el tiempo de respuesta es casi igual al tiempo de subida, se tiene que el ancho de banda cambió de 1 Hz a 10^6 Hz. De acuerdo con la ecuación 5.3, tal cambio causará un incremento en el ruido de $(10^6/1)^{1/2}$ o de 1000 veces.

Como se ilustra en la ecuación 5.3, el ruido térmico se puede reducir también si se disminuye la resistencia eléctrica de los circuitos del instrumento y si se redu-

ce la temperatura de los componentes del instrumento. El ruido térmico en los transductores se reduce a menudo mediante enfriamiento. Por ejemplo, al disminuir la temperatura de un sistema de fotodiodos de luz UV-visible desde la temperatura ambiente (298 K) hasta la temperatura del nitrógeno líquido (77 K) el ruido térmico se reducirá a la mitad.

Es importante notar que el ruido térmico, aunque dependiente del ancho de banda de la frecuencia, es independiente de la frecuencia misma. Por esta razón, a veces se le denomina *ruido blanco* por analogía con la luz blanca, que contiene las frecuencias visibles. Observe también que el ruido térmico en elementos de circuito resistivos es independiente del tamaño físico del resistor.

Ruido de disparo

El ruido de disparo se encuentra siempre que los electrones u otras partículas cargadas cruzan una unión. En los circuitos electrónicos típicos, estas uniones se encuentran en las interfases *pn*; en las fotoceldas y los tubos de vacío la unión es el espacio evacuado entre el ánodo y el cátodo. Las corrientes comprenden una serie de eventos cuantizados, la transferencia de electrones individuales a través de la unión. Estos eventos ocurren al azar, y la tasa a la cual se presentan está sujeta a fluctuaciones estadísticas que se describen mediante la ecuación

$$i_{\text{rms}} = \sqrt{2Ie\Delta f} \quad (5.5)$$

donde i_{rms} es la raíz cuadrática media de la fluctuación de la corriente relacionada con la corriente directa promedio, I ; e es la carga del electrón de 1.60×10^{-19} C y Δf es de nuevo el ancho de banda de las frecuencias en cuestión. Como el ruido térmico, el ruido de disparo es ruido blanco y, por tanto, es el mismo a cualquier frecuencia.

La ecuación 5.5 hace pensar que el ruido de disparo en una medición de corriente se puede reducir sólo disminuyendo el ancho de banda.

Ruido fluctuante

El ruido fluctuante se caracteriza por tener una magnitud que es inversamente proporcional a la frecuencia de la señal observada; a veces se denomina ruido $1/f$ (*uno sobre f*) como una consecuencia de lo anterior. La causa del ruido fluctuante no se entiende del todo; es ubicuo y es reconocible porque depende de la frecuencia. El ruido fluctuante se vuelve insignificante a frecuencias menores a 100 Hz. La deriva de largo plazo observada en amplificadores cd, fuentes de luz, voltímetros y medidores de corriente son un ejemplo de ruido fluctuante. El ruido fluctuante se puede reducir de ma-

³Por ejemplo, véase T. Coor, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, p. A534.

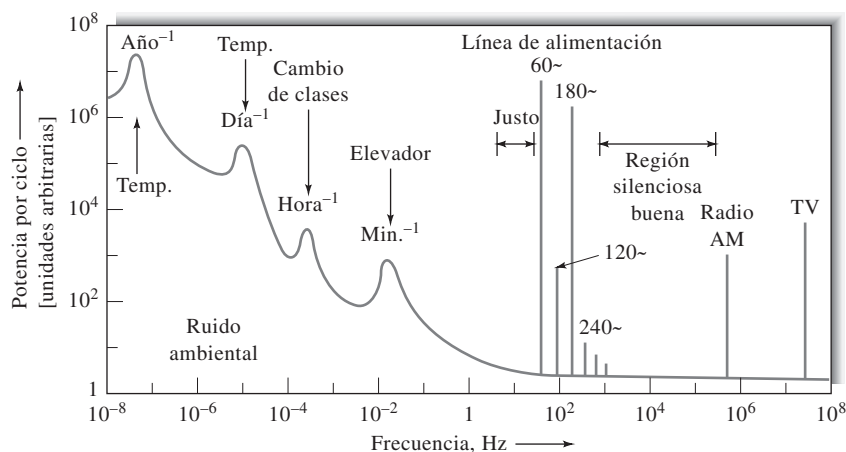


FIGURA 5.3 Algunas fuentes de ruido ambiental en un laboratorio universitario. Note cómo las regiones donde ocurren varios tipos de interferencia dependen de la frecuencia. (Tomado de T. Coor, *J. Chem. Educ.*, 1968, 45, p. A540. Con autorización.)

nera significativa en algunos casos por medio de resistores enrollados con alambre o de película metálica en vez de los más comunes del tipo de carbono compuesto.

Ruido ambiental

El ruido ambiental está compuesto de varias formas de ruido que surgen de los alrededores. La figura 5.3 señala fuentes características de ruido ambiental en un laboratorio universitario.

Hay mucho ruido ambiental porque cada conductor de un instrumento es potencialmente una antena capaz de captar radiación electromagnética y convertirla en una señal eléctrica. Hay numerosas fuentes de radiación electromagnética en el ambiente, incluso las líneas de energía eléctrica ca, las estaciones de radio y TV, los sistemas de ignición de motores a gasolina, los interruptores de arco, las escobillas en motores eléctricos, la iluminación y las perturbaciones ionosféricas. Tenga en cuenta que algunas de estas fuentes, como las líneas de energía eléctrica y las estaciones de radio, causan ruido con anchos de banda de frecuencia relativamente estrechos.

Observe que el espectro de ruido mostrado en la figura 5.3 contiene una larga y continua región de ruido de baja frecuencia. Este ruido aparece como un “parpadeo” o (flicker) si las fuentes no son completamente conocidas. Superpuestos en este parpadeo están los picos de ruido asociados con fluctuaciones diarias y anuales de temperaturas, así como con otros fenómenos periódicos resultantes del uso del laboratorio.

Por último, en la figura 5.3 se indican dos regiones de frecuencia quieta en las que el ruido ambiental es bajo: la región que va de casi 3 Hz a 60 Hz y la región de 1 kHz a 500 kHz, o una frecuencia en la que predo-

minan las señales de radio AM. A menudo, las señales son convertidas a frecuencias en estas regiones para reducir el ruido durante el proceso de la señal.

5C INTENSIFICACIÓN DE LA RELACIÓN SEÑAL/RUIDO

Muchas mediciones de laboratorio requieren sólo esfuerzo mínimo para mantener la relación señal/ruido en un nivel aceptable. Entre los ejemplos se encuentran las determinaciones de peso que se realizan en el curso de una síntesis química o la comparación de color para determinar el contenido de cloro en el agua de una alberca. Para ambos ejemplos, la señal es grande respecto al ruido y los requisitos para la precisión y la exactitud son mínimos. Cuando se requiere mayor precisión y exactitud, la relación señal/ruido se vuelve a menudo el factor limitante en la precisión de una medida.

Se dispone de métodos que atañen a los aparatos y a los programas para mejorar la relación señal/ruido de un método instrumental. La reducción de ruido en los aparatos se lleva a cabo incorporando en su diseño componentes como filtros, troceadores o cortadores, blindaje, moduladores y detectores sincrónicos. Estos dispositivos eliminan o atenúan el ruido sin afectar la señal analítica en forma significativa. Los métodos con programas se basan en varios algoritmos de computadora que permiten extraer señales a partir de datos con ruido. Como mínimo, los métodos de este tipo requieren programas suficientes para condicionar la señal de salida del instrumento y convertirla de analógica en digital. Por lo común los datos se reúnen por medio de

una computadora con un módulo de adquisición de datos como el que se describe en el capítulo 4. Las señales se pueden extraer entonces del ruido por medio de la computadora de adquisición de datos u otra que esté conectada a ella a través de una red.

5C.1 Algunos dispositivos físicos para reducir el ruido

Aquí se describen de manera breve algunos dispositivos y técnicas que se usan para incrementar la relación señal/ruido.

Conexión a tierra y blindaje

El ruido que surge de la radiación electromagnética generada en el ambiente se puede reducir de forma sustancial mediante blindaje, conexión a tierra y reducción de las longitudes de los conductores dentro del sistema del instrumento. El blindaje consiste en rodear un circuito, o la mayor parte de los conductores críticos en un circuito, con un material conductor que se fija a una tierra física. La radiación electromagnética es absorbida entonces por la protección y no por los conductores encerrados. Así que se pueden reducir al mínimo la captación de ruido y su posible amplificación por parte del circuito del instrumento. Podría ser un poco sorprendente que las técnicas de reducción de ruido a través de la conexión a tierra y el blindaje sean con frecuencia más arte que ciencia, en particular en instrumentos que poseen circuitos analógicos y digitales. La configuración óptima se encuentra a menudo sólo después de muchas pruebas y errores.⁴

El blindaje se vuelve particularmente importante cuando se amplifica la salida de un transductor de alta resistencia, como el electrodo de vidrio. En este caso, incluso las minúsculas corrientes inducidas de manera aleatoria producen fluctuaciones relativamente grandes en la señal medida.

Amplificadores de diferencia y de instrumentación

Cualquier ruido generado en el circuito del transductor es determinante porque suele aparecer amplificado en la lectura del instrumento. Para atenuar este tipo de ruido, la mayor parte de los instrumentos emplean un amplificador de diferencia, como el que se muestra en la figura 3.13, para la primera etapa de amplificación. El ruido de modo común en el circuito transductor

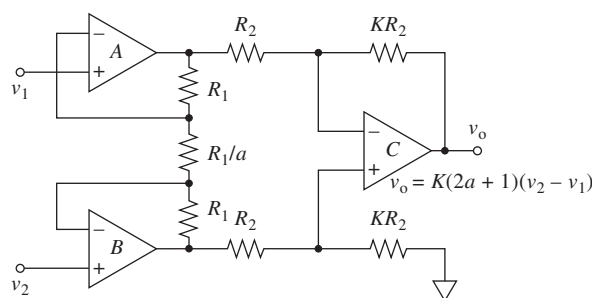


FIGURA 5.4 Un amplificador de instrumentación para reducir los efectos del ruido común en ambas entradas. La ganancia del circuito se controla mediante los resistores R_1/a y KR_2 .

aparece de ordinario en fase en las entradas inversora y no inversora del amplificador, y es cancelado en gran medida por el circuito para que el ruido en su salida disminuya de manera sustancial. Para casos en los que un amplificador de diferencia es insuficiente para eliminar el ruido, se usa un amplificador de instrumentación como el que se muestra en la figura 5.4.

Los amplificadores de instrumentación se componen de tres amplificadores operacionales configurados como se ilustra en la figura 5.4. Los amplificadores operacionales A y B constituyen la etapa de entrada del amplificador de instrumentación, ambos están acoplados recíprocamente por medio de tres resistores R_1 , R_1/a y R_1 . La segunda etapa del módulo es el amplificador de diferencias del amplificador operacional C. La ganancia total del circuito es⁵

$$v_o = K(2a + 1)(v_2 - v_1) \quad (5.6)$$

La ecuación 5.6 destaca dos ventajas del amplificador de instrumentación: 1) la ganancia total del amplificador se puede controlar variando un solo resistor R_1/a , y 2) la segunda etapa de diferencia rechaza las señales de modo común. Además, los amplificadores operacionales A y B son seguidores de voltaje con muy alta resistencia de entrada, de modo que el amplificador de instrumentación presenta una carga insignificante respecto al circuito de su transductor. La combinación de las dos etapas tiene la capacidad de rechazar el ruido del modo común por un factor de 10^6 o más a la vez que amplifica la señal en un factor de 1000.

Se acostumbra usar estos dispositivos con señales de bajo nivel en medios ruidosos, como los que se observan en los organismos biológicos que actúan como una antena. La instrumentación electrocardiográfica aprovecha las ventajas de los amplificadores de instru-

⁴Un excelente análisis de conexión a tierra y blindaje se encuentra en H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, pp. 401-409, Washington, DC: American Chemical Society, 1994. Otra referencia valiosa es R. Morrison, *Grounding and Shielding Techniques in Instrumentation*, 4a. ed., Nueva York: Wiley, 1998.

⁵H. V. Malmstadt, C. G. Enke y S. R. Crouch, *Microcomputers and Electronic Instrumentation: Making the Right Connections*, pp. 210-211, Washington, DC: American Chemical Society, 1994.

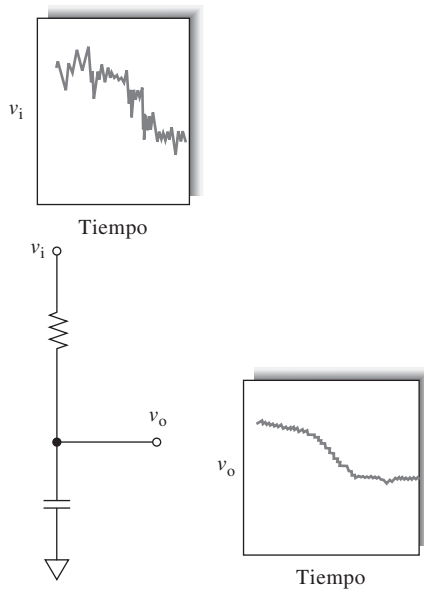


FIGURA 5.5 Uso de un filtro pasabajas con una constante de tiempo grande para eliminar el ruido de un voltaje cd que cambia lentamente.

mentación. Otra aplicación característica es un módulo de adquisición de datos de una computadora, como es el caso del amplificador de instrumentación de ganancia programable que se ilustra en la figura 4.12. La ganancia del amplificador de instrumentación está bajo el control de una computadora, la cual cambia el resistor R_1/a de la figura 5.4 por interruptores de estado sólido controlados de manera digital.

Filtración analógica

Uno de los métodos más comunes para mejorar la relación señal/ruido de los instrumentos analíticos es la instalación de filtros analógicos pasabajas como los que se ilustran en la figura 2.11b. La razón de esta aplicación tan extendida es que muchas señales de instrumentos son de baja frecuencia con anchos de banda que se extienden en intervalos de unos pocos hertz. Por consiguiente, un filtro pasabajas caracterizado por el diagrama de Bode de la figura 2.12b eliminará de manera efectiva muchos de los componentes de alta frecuencia de la señal, sin olvidar el ruido térmico y el ruido de disparo. En la figura 5.5 se puede ver la aplicación de un filtro RC pasabajas para reducir el ruido que proviene de una señal cd que varía con lentitud.

Los filtros analógicos pasaaltas, como los que se ilustran en la figura 2.11a también se usan mucho en los instrumentos analíticos en los que la señal del analito es de frecuencia relativamente alta. El filtro pasaaltas reduce los efectos de deriva y otro ruido fluctuante de baja frecuencia.

También hay filtros electrónicos de banda angosta para atenuar el ruido fuera de una banda esperada de frecuencias de la señal. Ya se señaló que la magnitud del ruido fundamental es directamente proporcional a la raíz cuadrada del ancho de banda de la frecuencia de una señal. Entonces, se puede lograr una reducción importante del ruido al restringir la señal de entrada a una banda angosta de frecuencias y usando un amplificador que se ajuste a esta banda. Es importante notar que el paso de banda del filtro debe ser lo suficientemente amplio para incluir todas las frecuencias de la señal.

Modulación

La amplificación directa de una señal de baja frecuencia o cd es problemática, en particular cuando un instrumento manifiesta deriva del amplificador y ruido fluctuante. A menudo, este ruido $1/f$ es varias veces mayor que los tipos de ruido que predominan a más altas frecuencias, como se ilustra en el espectro de ruido-intensidad de la figura 5.3. Por esta razón, las señales de baja frecuencia o cd provenientes de los transductores son transformados muchas veces a una frecuencia superior, en la que el ruido $1/f$ es menos problemático. A este proceso se le conoce como *modulación*. Después de la amplificación, la señal modulada puede ser liberada del ruido $1/f$ del amplificador al pasar por un filtro pasaaltas; la demodulación y la filtración con un filtro pasabajas produce entonces una señal cd ampliificada aceptable como salida.

La figura 5.6 es un diagrama del flujo de la información por dicho sistema. La señal cd original que se muestra en el espectro de potencia *A* se modula para obtener una señal de banda angosta de 400 Hz, la cual después se amplifica por un factor de 10^5 . Como se ilustra en el espectro de intensidad *B*, que se observa en el centro de la figura, la amplificación introduce ruido $1/f$ y ruido en la línea de potencia. Gran parte de este ruido se puede eliminar con la ayuda de un filtro pasaaltas apropiado, como el que se muestra en la figura 2.11a. La demodulación de la señal filtrada origina la señal cd ampliificada cuyo espectro de intensidad se presenta en *C*.

La modulación de la señal analítica se puede lograr de varias maneras. En la espectroscopía, las fuentes de radiación son moduladas por dispositivos mecánicos llamados *troceadores* o *cortadores*, como los que se ilustran en la figura 5.7. Estos equipos bloquean físicamente el haz de luz cada cierto tiempo. La radiación que pasa se alterna entre intensidad completa e intensidad nula. Cuando se convierte en una señal eléctrica, el resultado es una onda cuadrada que tiene la frecuencia de interrupción del haz. De manera alternativa, algunas fuentes de luz se pueden pulsar en

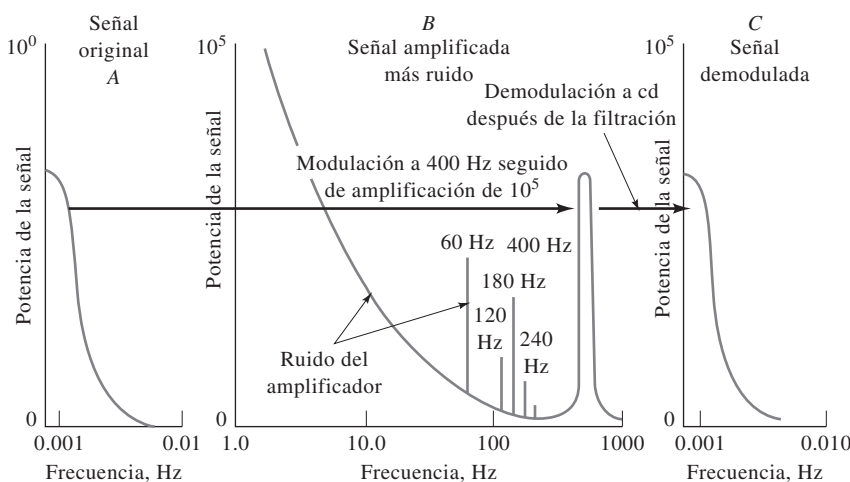


FIGURA 5.6 Amplificación de una señal modulada. (Adaptado de T. Coor, *J. Chem. Educ.*, 1968, 45, p. A540. Con autorización.)

forma electrónica para que produzcan el mismo efecto alternante de encendido-apagado.

La espectroscopía de absorción atómica (véase capítulo 9) proporciona un ejemplo del uso de un trocador mecánico para modular señales. El ruido es una gran preocupación al detectar y medir las fluctuaciones de las señales de baja frecuencia provenientes de fuentes de absorción atómica inherentes a las llamas y otros dispositivos de atomización. Con el fin de reducir al mínimo estos problemas de ruido, en la fuente luminosa de los instrumentos de absorción atómica se coloca un disco ranurado giratorio en la trayectoria del haz, como se puede ver en la figura 5.8. La rotación del cortador produce una señal radiante que fluctúa en forma periódica entre cero y alguna intensidad máxima. Después de la interacción con la muestra en la llama, el transductor genera una señal eléctrica de onda cuadrada cuya frecuencia depende del tamaño de las ranuras y de la rapidez a la cual gire el disco. Por lo regular, el ruido inherente a las llamas y otros dispositivos de atomización es de baja frecuencia y se puede reducir de

manera notable mediante un amplificador ca que se sintoniza a la frecuencia del cortador. Dicho amplificador ca no sólo refuerza la señal y discrimina el ruido, sino que también transforma la señal de onda cuadrada en una señal sinusoidal, como lo muestran las ondas de la figura 5.8.

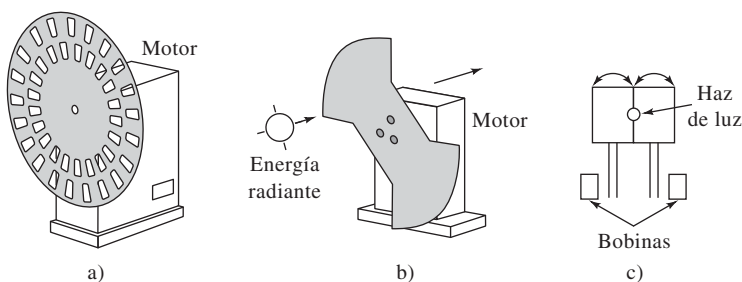
Demodulación sincrónica

El proceso de modulación y amplificación sintonizada que se muestra en la figura 5.8 origina una señal de onda seno que está en la frecuencia de corte y en fase con el cortador. El conmutador que se ilustra en la figura alterna entre el filtro pasabajos en la salida y el circuito común. Si el conmutador está hecho para alternar en fase con el cortador o trocador, tiene el efecto de pasar la señal sinusoidal durante el semiciclo positivo y bloquearla durante el semiciclo negativo. Como se puede ver por la forma de la onda, es una forma de *rectificación*, pero una que es *sincrónica* con el cortador. Por lo regular, el cortador proporciona una señal de referencia para activar el conmutador que es de la misma frecuencia que la señal analítica y tiene una relación de fase fija con ella. La señal de referen-



Simulación: aprenda más acerca de **modulación y amplificadores de cierre**.

FIGURA 5.7 Cortadores mecánicos para modular un haz luminoso: a) cortador de disco giratorio, b) cortador de aspas giratorias, c) diseño de horqueta oscilante de sintonización donde la oscilación de un aspa ocasiona interrupciones periódicas de un haz luminoso.



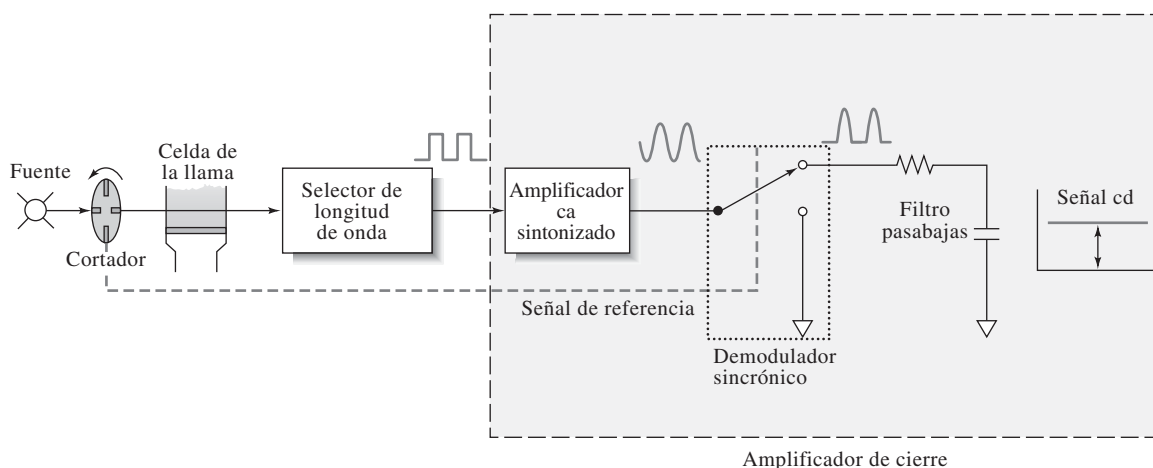


FIGURA 5.8 Amplificador de cierre para mediciones espectrométricas de absorción atómica.

El cortador convierte el haz de la fuente en una señal de apagado-encendido que atraviesa la celda de la llama donde ocurre la absorción. Después de seleccionar una longitud de onda y transformarla en una señal eléctrica mediante el transductor, la entrada de onda cuadrada ca hacia el amplificador de cierre es amplificada y convertida en una señal sinusoidal por el amplificador sintonizado. El demodulador sincrónico está en fase con la señal ca y proporciona una rectificación de semionda de la señal. El filtro pasabajas transforma la señal demodulada en una señal cd para medirla.

cia la podría proporcionar otro haz que atravesase el cortador pero no la llama, o podría ser producida por el motor que impulsa el cortador. La desmodulación sincrónica da por resultado una señal cd que luego se puede enviar por medio de un filtro pasabajas para proporcionar la salida final cd, como se puede ver en la figura 5.8.

Amplificadores de cierre

El amplificador sintonizado, el demodulador sincrónico, la entrada de referencia y el filtro pasabajas de la figura 5.8 conforman un *amplificador de cierre* que facilita la recuperación de señales que están totalmente opacados por el ruido. Por lo regular, el demodulador sincrónico de un amplificador de cierre funciona en un modo de rectificación de onda completa y no en el modo de semionda que se ilustra en la figura 5.8. Esto se logra pasando directamente la onda sinusoidal durante medio ciclo e invirtiéndola durante la otra mitad del ciclo para proporcionar una señal cd fluctuante que es fácil de filtrar mediante un filtro pasabajas. En los demoduladores sincrónicos se usan dispositivos de estado sólido llamados *multiplicadores analógicos* en vez de interruptores o conmutadores mecánicos.

En general, un amplificador de cierre está relativamente libre de ruido porque sólo se amplifican y demodulan aquellas señales que están encerradas en la señal de referencia. El sistema rechaza las señales extrañas de frecuencias y fases diferentes.

5C.2 Métodos con programas

Muchos de los dispositivos que mejoran la relación señal/ruido descritos en la sección anterior están siendo reemplazados o complementados con programas de computadora. Entre estos programas hay rutinas para varios tipos de promedio, filtración digital, transformadas de Fourier, suavización y técnicas de correlación. Dichos procedimientos son aplicables a ondas no periódicas o irregulares, como un espectro de absorción; a señales que no tienen sincronización u onda de referencia, y a señales periódicas. Algunos de estos procedimientos relativamente comunes se tratan con brevedad en esta sección.

Promedio de conjunto

En el promedio de conjunto, conglomerados sucesivos de información almacenados en la memoria como *matrices* se recolectan y se suman punto por punto para hacer un promedio, al cual se le llama a veces *coadición*. Después de que la recolección y la suma están terminadas, los datos se promedian dividiendo la suma de cada punto entre los conjuntos de datos sumados. En la figura 5.9 se ilustra el promedio de conjunto de un espectro de absorción.

Para comprender por qué el promedio de conjunto sí aumenta la relación señal/ruido de señales adquiri-



Simulación: aprenda más acerca del **promedio de la señal**.

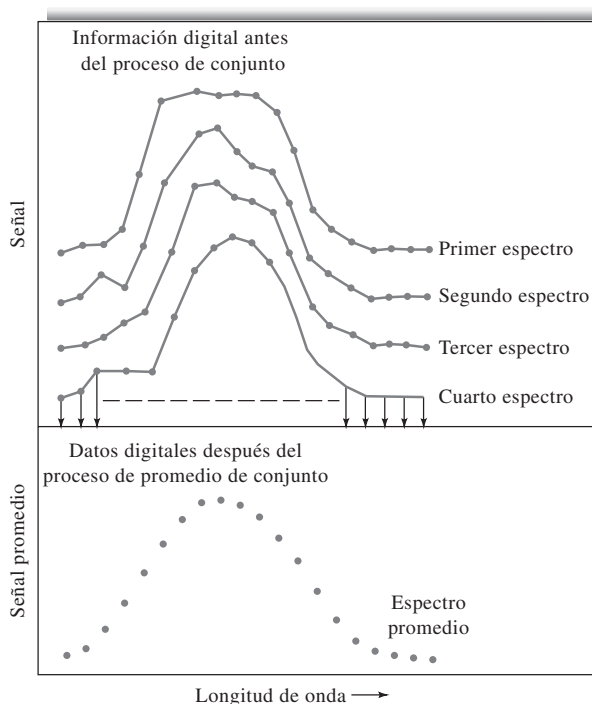


FIGURA 5.9 Promedio de conjunto de un espectro. (Según D. Binkley y R. Dessy, *J. Chem. Educ.*, **1979**, 6, p. 150. Con autorización.)

das en forma digital, suponga que se pretende medir la magnitud de una señal S . Se efectúan n mediciones repetitivas de S y se calcula el valor medio de la señal por medio de la ecuación

$$S_x = \frac{\sum_{i=1}^n S_i}{n} \quad (5.7)$$

donde S_i , $i = 1, 2, 3, \dots, n$, son las mediciones individuales de la señal, incluido el ruido. El ruido de cada medición es entonces $S_i - S_x$. Si se elevan al cuadrado y se suman las desviaciones de la señal del valor medio S_x y se dividen entre la cantidad de mediciones n , se obtiene el ruido cuadrático medio dado por

$$\text{ruido cuadrático medio} = \sigma_i^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (S_i - S_x)^2}{n} \quad (5.8)$$

El ruido cuadrático medio es la *varianza* de la señal σ_i^2 y la *raíz cuadrática media (rms)*, del ruido o ruido eficaz es su desviación estándar (apéndice 1, sección a1B.1):

$$\text{ruido rms} = N_i = \sigma_i = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - S_x)^2}{n}} \quad (5.9)$$

Si se suman n mediciones para obtener el promedio de conjunto, la señal S_i se añade en cada repetición. La señal total S_n está dada por $S_n = \sum_{i=1}^n S_i = nS_i$. En el caso del ruido, la varianza es aditiva (véase apéndice 1, tabla a1.6). La varianza total es $\sigma_n^2 = \sum_{i=1}^n \sigma_i^2 = n\sigma_i^2$. La desviación estándar o ruido rms total es $\sigma_n = N_n = \sqrt{n}\sigma_i = \sqrt{n}N_i$. La relación señal/ruido después de n repeticiones $(S/N)_n$ se determina con

$$\left(\frac{S}{N}\right)_n = \frac{nS_i}{\sqrt{n}N_i} \quad (5.10)$$

$$\left(\frac{S}{N}\right)_n = \sqrt{n} \left(\frac{S}{N}\right)_i \quad (5.11)$$

La última expresión muestra que la relación señal/ruido es proporcional a la raíz cuadrada de la cantidad de puntos recolectados para determinar el promedio de conjunto. Observe que este mismo mejoramiento en la relación señal/ruido se efectúa en el promedio por grupos y la filtración digital, que se tratan en secciones posteriores.

La mejora de S/N que se efectúa al promediar la señal se aprovecha en muchos campos de la ciencia; la espectroscopía de resonancia magnética nuclear y la espectroscopía en infrarrojo de transformada de Fourier son sólo dos de los ejemplos más notables en la instrumentación química. El promedio de la señal y otros aspectos de la adquisición de datos digitales se trata con más minuciosidad en los capítulos en los que se estudian estos temas.

Para darse cuenta de la ventaja del promedio de conjunto y seguir con la intención de extraer toda la información disponible en una forma de onda de la señal se requiere medir puntos a una frecuencia que sea por lo menos el doble del componente de frecuencia más alta de la onda. Esta afirmación es una consecuencia del *teorema de toma de muestras de Nyquist*, el cual establece que para señales de ancho de banda limitado la toma de muestras tiene que ser a una frecuencia cuyo valor debe ser por lo menos el doble que la frecuencia más alta f de los componentes que constituyen la señal de interés. Es decir, la frecuencia de la adquisición de datos tiene que ser por lo menos $2f = 1/\Delta t$, donde Δt es el intervalo entre muestras de la señal. Por ejemplo, si el componente de frecuencia máxima en una señal instrumental es 150 Hz, los datos se deben muestrear a un ritmo de por lo menos 300 muestras/s si quiere que la señal se reproduzca con exactitud.

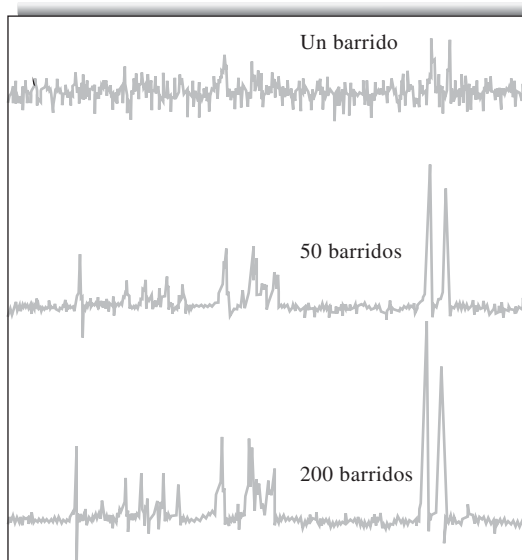


FIGURA 5.10 Efecto de promediar de la señal. Observe que la escala vertical es más pequeña cuando la cantidad de barridos se incrementa. La relación señal/ruido es proporcional a $\sqrt{n}$. Las fluctuaciones aleatorias tienden a anularse cuando la cantidad de barridos aumenta, pero la señal se acumula. Por consiguiente, la relación S/N se incrementa cuando aumenta la cantidad de barridos.

Las frecuencias de toma de muestras mucho mayores que la frecuencia de Nyquist no generan más información importante y, en realidad, muchas frecuencias más altas podrían incluir ruido indeseable. No obstante, se acostumbra tomar muestras a una frecuencia alrededor de 10 veces la frecuencia de Nyquist para que haya integridad en la señal. Además, es muy importante tomar muestras de la onda iniciando precisamente en el mismo punto en cada onda sucesiva. Por ejemplo, si la onda es un espectro visible de absorción, cada barrido del espectro se debe sincronizar para que empiece exactamente en la misma longitud de onda, y cada muestra sucesiva debe tomarse en el mismo intervalo de longitud de onda. En general, la sincronización se logra mediante un pulso sincronizante, el cual deriva de la onda misma o del proceso experimental que inició la onda, tal como un pulso láser o un pulso de radiación de radiofrecuencia. Este impulso inicia entonces la adquisición de datos para cada barrido de la onda.

El promedio de conjunto tiene la capacidad de producir mejoras impresionantes en las relaciones señal/ruido, como se demuestra con los tres espectros de resonancia magnética nuclear de la figura 5.10. En este caso, se pueden observar sólo unas pocas resonancias en el barrido sencillo porque sus magnitudes son casi iguales que las excursiones de la señal debidas al ruido

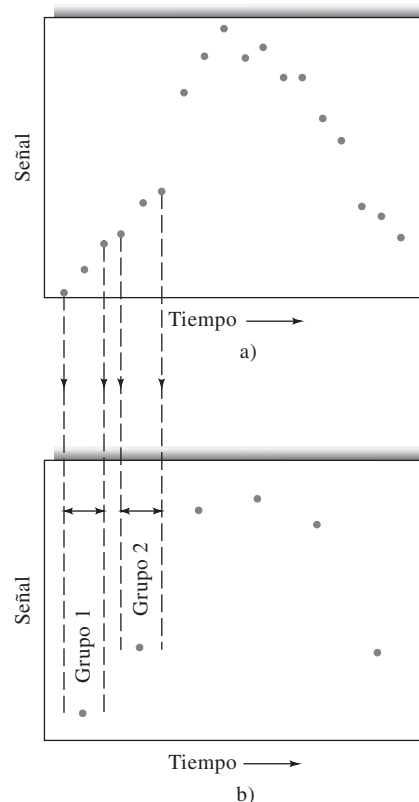


FIGURA 5.11 Efecto de un promedio por grupo: a) información original, b) información después del promedio por grupos. (Según G. Dulaney, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, p. 27A. Figura 2, p. 27A. Copyright 1978 American Chemical Society.)

aleatorio. La mejora en el espectro resultante como consecuencia del promedio de la señal es evidente a partir de los espectros que se muestran en la figura 5.10. Un análisis más amplio del teorema de muestreo de Nyquist y sus efectos se encuentran en el estudio de la espectroscopía de transformada de Fourier con resonancia magnética nuclear en el capítulo 19.

Promedio por grupos

Se trata de un procedimiento para uniformar las irregularidades e intensificar la relación señal/ruido en una onda, y la suposición es que estas irregularidades son resultado del ruido. Es decir, se supone que la señal analítica analógica varía sólo lentamente con el tiempo y que el promedio de una cantidad pequeña de puntos adyacentes es una mejor medida de la señal que cualquiera de los puntos individuales. En la figura 5.11b se ilustra el efecto de la técnica en los datos que se grafican en la figura 5.11a. El primer punto de la gráfica por grupo es la media de los puntos 1, 2 y 3 de la curva original; el punto 2 es el promedio de los puntos 4, 5 y 6, y así sucesivamente. En la práctica se promedian de 2

a 50 puntos para obtener un punto final. Con más frecuencia, este promedio se ejecuta mediante una computadora en tiempo real, es decir, mientras se están recolectando los datos, en contraste con el promedio de conjunto, el cual requiere almacenar los datos para procesarlos después. Como se puede ver en la figura 5.11, con el promedio por grupos se pierden los detalles, por lo que su utilidad es limitada en el caso de señales complejas que cambian con rapidez en función del tiempo. Aun así, el promedio por grupos es de gran importancia para salidas en onda cuadrada o salidas de impulsos periódicos en las que sólo es importante la amplitud promedio.

El promedio por grupos también se puede obtener en el dominio analógico mediante un *integrador por grupos*. Este dispositivo contiene un conmutador electrónico rápido para tomar muestras de una onda repetitiva en un tiempo programado a partir del origen de la onda. La onda de la cual se toman las muestras se conecta a un integrador analógico para obtener una versión de baja frecuencia de la señal en el intervalo de tiempo seleccionado. El instrumento se puede programar para barrer una onda de una señal muy ruidosa desde el principio hasta el final. Así se consigue el perfil de la señal cuya relación señal/ruido se puede seleccionar al ajustar la constante de tiempo del integrador, la velocidad de barrido de la ventana de toma de muestras y la ventana de tiempo a lo largo de la cual se efectúa la toma de muestras. Esta ventana se llama *tiempo de apertura*.

Los integradores por grupo se utilizan a menudo para tomar muestras y medir ondas instrumentales en intervalos de tiempo de picosegundos a microsegundos. Dichos integradores son útiles en particular junto con sistemas láser por pulsos, en los cuales los fenómenos físicos y químicos ocurren en esas escalas de tiempo. La salida del integrador se podría conectar a sistemas computarizados como los que se describen en la sección 4E.4 para la adquisición y registro de datos, además del análisis y presentación posteriores al experimento. La ventaja de la adquisición de señales mediante un integrador por grupos es que el tiempo de obtención de promedios de las unidades se puede incrementar para que se obtenga una S/N mejorada. La relación señal/ruido es proporcional a la raíz cuadrada de la cantidad de tiempo que requiere el integrador para tomar la señal de cada ventana de tiempo de la onda. Esta mejora equivale a la que se efectúa en la adquisición digital de datos mediante el promedio por conjunto.

Filtración digital

Se obtiene con la ayuda de diversos procedimientos distintos numéricos muy bien caracterizados, sin olvidar el promedio de conjunto, el cual se trató en la sección

anterior; la transformación de Fourier; la suavización polinomial por mínimos cuadrados, y la correlación. En esta sección se estudian en forma somera los procedimientos de la transformada de Fourier y la suavización polinomial por mínimos cuadrados, esta última es la más común de todas las técnicas para el mejoramiento de datos numéricos.

En la transformación de Fourier, una señal como el espectro que se muestra en la figura 5.12a, captada en el dominio del tiempo, se convierte en una señal del dominio de la frecuencia en el cual la variable independiente es la frecuencia f y no el tiempo, como se ilustra en la figura 5.12b. Esta transformación, que se estudia con detalle en la sección 7I se consigue matemáticamente con una computadora por medio de un algoritmo muy rápido y eficaz. La señal en el dominio de la frecuencia en b) se multiplica luego por la respuesta de frecuencia de un filtro pasabajas digital con frecuencia de corte superior f_0 que se muestra en c), la cual tiene el efecto de eliminar todos los componentes de frecuencia por arriba de f_0 como se ilustra en d). La transformación de Fourier inversa recupera luego el espectro filtrado en el dominio del tiempo de la figura 5.12e. La transformación de Fourier se usa en la mayor parte de los modernos espectrómetros infrarrojos y de resonancia magnética nuclear, así como en múltiples instrumentos de prueba que se usan en los laboratorios y en osciloscopios digitales. Con frecuencia, el procedimiento está incorporado en los programas de cómputo de uso general, como Mathcad y Excel, y está disponible como subrutina en una variedad de lenguajes de computadora.

La última técnica que se tratará y que quizá sea la más usada para mejorar datos digitales es la *suavización polinomial de datos* por mínimos cuadrados. En su forma más simple, la suavización es muy parecida al esquema del promedio por grupos de la figura 5.11. En la figura 5.13 se puede ver cómo se consigue la suavización de datos no ponderados. Los 11 puntos representados por círculos llenos en la gráfica comprenden una sección de un espectro de absorción ruidoso. Los primeros cinco puntos que abarca el corchete 1 de la figura se promedian y se grafican en la posición media en el eje de las x es decir, en el punto representado por el triángulo 1. El corchete se pasa luego un punto a la derecha de la posición 2, los puntos 2 al 6 se promedian y se grafica el promedio como triángulo 2. El procedimiento se repite para los corchetes 3, 4 y 5 y así sucesivamente hasta que todos los puntos excepto el último son promediados para generar una nueva curva de absorción representada por los triángulos y la línea



Simulación: aprenda más acerca de **Filtración con la transformación de Fourier**.

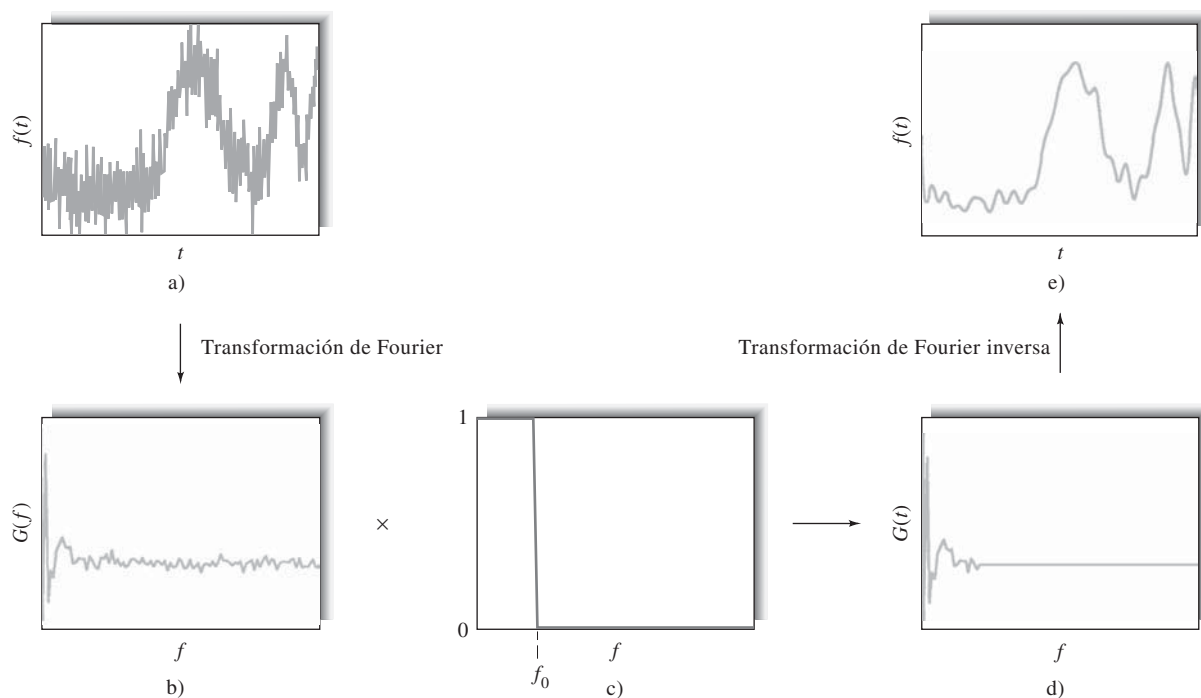


FIGURA 5.12 Filtración digital con la transformación de Fourier: a) pico ruidoso del espectro, b) espectro del dominio de la frecuencia del inciso a) resultado de la transformación de Fourier; c) función del filtro digital pasabajas, d) producto de los incisos b) y c); e) transformación de Fourier inversa del inciso d) en la que se ha eliminado la mayor parte del ruido de alta frecuencia.

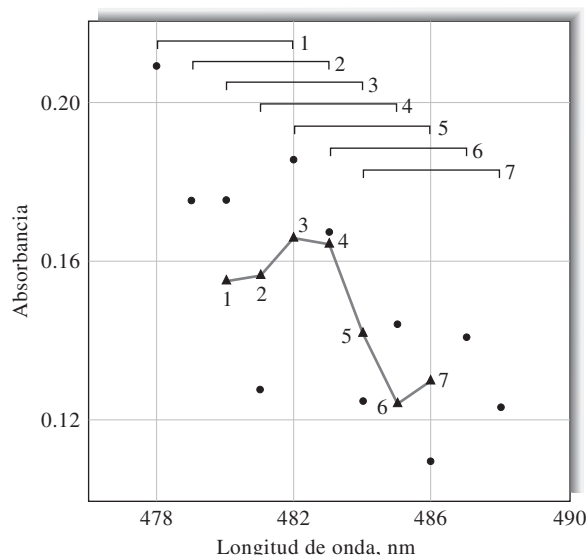


FIGURA 5.13 La operación de una función de suavización con media móvil sin ponderación: datos espectrales con ruido (●), datos suavizados (▲). Véase en el texto la descripción del procedimiento de suavización.

que los une. La nueva curva es algo menos ruidosa que la de los datos originales. Este procedimiento se llama *suavización con media móvil* de los cinco puntos. En

este tipo de mejoramiento de la relación señal/ruido, la anchura de la función de suavización siempre abarca un número impar de puntos y un número par de puntos quedan sin ser suavizados en cada uno de los extremos del conjunto de datos. La media móvil da como resultado la pérdida de $(n - 1)/2$ puntos al inicio y la misma cantidad al final de la suavización. En el caso de una suavización de cinco puntos, se pierde un total de cuatro puntos. Para un espectro de absorción que consiste en cientos o quizá miles de datos, la pérdida de unos puntos es trivial.

Se puede conseguir una mejora más en la relación señal/ruido si se aumenta la cantidad de puntos por suavizar, por ejemplo, una suavización de siete puntos, una de nueve puntos, etcétera. Sin embargo, entre más puntos haya en la suavización, hay más distorsión en los resultados y, naturalmente, se pierden más puntos en los extremos de los datos.⁶

Otro procedimiento para la suavización con promedio móvil es calcular un promedio móvil ponderado. El esquema de ponderación más aplicable en el análisis científico es el promedio móvil ponderado

⁶Por ejemplo, véase, S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 305-307.

exponencialmente. Este tipo de esquema pondera el punto actual más alto y da a los puntos anteriores pesos exponencialmente decrecientes. La suavización exponencial es similar al efecto de un filtro RC con una anchura de suavización análoga al tamaño de la constante de tiempo del filtro.

Un procedimiento aun mejor que el simple promedio de los puntos en una curva consiste en ejecutar un ajuste por mínimos cuadrados de una pequeña parte de la curva a una polinomial, y tomar el punto central calculado de esta curva ajustada como el nuevo punto suavizado. Este enfoque es mucho mejor que el esquema de promedio sin ponderación, pero tiene la desventaja de que requiere muchos cálculos y mucho tiempo. Savitzky y Golay⁷ demostraron que se podía obtener un conjunto de enteros para usarlos como coeficientes de ponderación para llevar a cabo la operación de suavización. El uso de estos coeficientes de ponderación, a veces conocidos como enteros de convolución, equivale exactamente a ajustar los datos a un polinomio justo como se describe. Los enteros de convolución para una función de suavización cuadrática de cinco puntos se grafican en la figura 5.14a.⁸ Este proceso de suavización se llama *suavización polinomial por mínimos cuadrados*.

La aplicación de los enteros de suavización de la figura 5.14a a los datos de la figura 5.13 ilustra el proceso de suavización. Se inicia multiplicando el entero de convolución más a la izquierda, que es -3 en este caso, por la absorbancia en el punto 1 de la figura 5.13. El segundo entero, que es 12, se multiplica entonces por el segundo punto, y el resultado se suma al producto que se obtuvo para el primer punto. El punto 3 se multiplica por 17, que es el tercer entero, y se suma de nuevo el resultado. Se repite este proceso hasta que cada uno de los cinco puntos haya sido multiplicado por su correspondiente entero y se haya obtenido la suma de los cinco resultados. Para finalizar, la suma de los resultados se divide entre el sexto entero, el llamado entero de normalización que es 35 en este ejemplo de una suavización cuadrática de cinco puntos, y el cociente se toma como el nuevo valor del punto central del intervalo de suavización. El entero de normalización también se obtiene a partir del método de Savitzky-Golay, del mismo modo que ocurre con otros conjuntos similares de enteros para suavización, con el fin de generar la primera y la segunda derivada de los datos. Los enteros de convolución de la primera derivada para una suavización cúbica de cinco puntos se

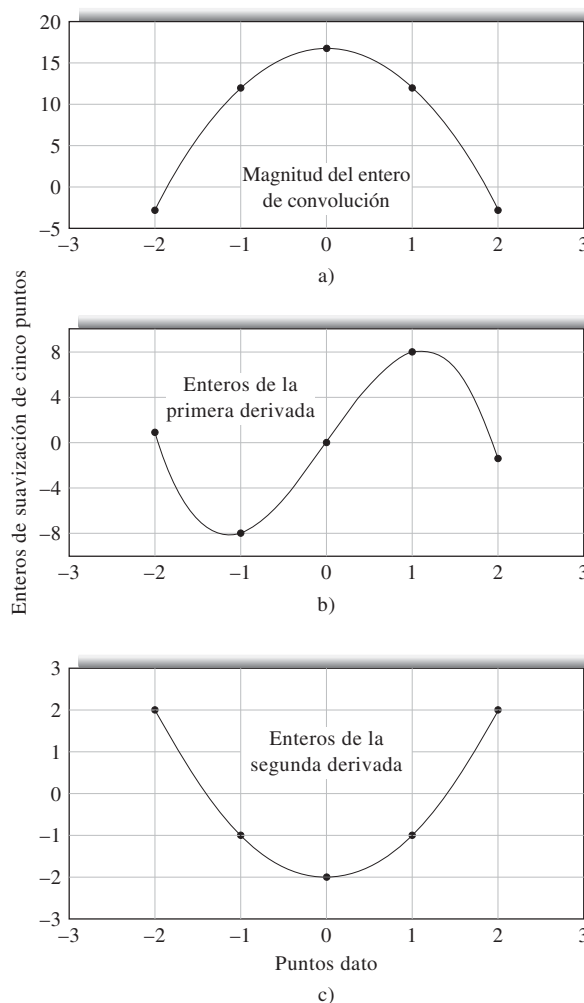


FIGURA 5.14 Enteros de convolución de la suavización polinomial por mínimos cuadrados: a) enteros cuadráticos de cinco puntos, b) enteros cúbicos de cinco puntos de la primera derivada, c) enteros cuadráticos de cinco puntos de la segunda derivada.

grafican en la figura 5.14b, y los enteros de la segunda derivada para una suavización cuadrática de cinco puntos se ilustran en la figura 5.14c. Estos conjuntos de enteros se podrían aprovechar exactamente de la misma manera que los enteros de suavización básica para generar la primera y la segunda derivadas de los datos originales de absorción. La suavización polinomial de mínimos cuadrados mediante derivadas se utiliza para desarrollar espectros porque, como ya se hizo notar en el análisis de los derivadores analógicos en la sección 3E.4, la derivación es un proceso generador de ruido. El efecto de la suavización mediante derivadas es reducir al mínimo el ruido que se genera en la derivación.

Como la suavización polinomial por mínimos cuadrados se utiliza tan ampliamente para mejorar la calidad de los datos analíticos, es importante tener en

⁷A. Savitzky y M. J. Golay, *Anal. Chem.*, **1964**, 36, pp. 1627-1639.

⁸La suavización de Savitzky-Golay es similar a la suavización con promedio móvil en S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 305-310.

cuenta las ventajas y las desventajas del método. El procedimiento reduce el ruido y actúa como un filtro pasabajas con los datos. Como sucede con cualquier proceso de filtración, la señal sufre una distorsión debido a la limitación del ancho de banda inherente al proceso. Quienes apliquen la suavización tienen que tener en cuenta que la reducción del ruido tiene que estar balanceada para evitar en lo posible la distorsión de la señal. La ventaja del procedimiento es que variables tales como el tipo de suavización, la anchura de suavización y la cantidad de veces que los datos se someten al proceso de suavización se puede decidir después de la recolección de la información. Además, el algoritmo de la suavización es trivial desde el punto de vista del cálculo y requiere un tiempo mínimo de computación. La mejora en la relación S/N resultado de la suavización es modesta, en general asciende a alrededor de un factor de 4 para espectros que contienen picos con un ancho de 32 puntos de datos y con una anchura de suavización del doble de ese valor. Sin embargo, la suavización produce datos más limpios que los originales, aptos para ser interpretados por un humano, por eso es tan usada. De hecho, se ha establecido que “la suavización polinomial de mínimos cuadrados sólo tiene valor cosmético”.⁹ No hay información adicional en los datos suavizados, pero sí se podría introducir distorsión. Cuando la suavización se aplica a datos de análisis cuantitativo, tiene poco efecto en los resultados cuantitativos porque los errores de distorsión tienden a anularse cuando las muestras y los estándares son suavizados de la misma manera.

Los datos de la figura 5.15 ilustran la aplicación de la suavización polinomial por mínimos cuadrados a un espectro de absorción ruidoso de 501 puntos del tinte tartracina que se muestra en la parte inferior de la figura en la curva A. La curva B es una suavización cuadrática de cinco puntos, la curva C es una suavización de cuarto grado de 13 puntos y la curva D es una suavización de décimo grado de 77 puntos. Observe en la curva D que 38 puntos no están suavizados y se ubican en los extremos del conjunto de datos. Los efectos del proceso de suavización son evidentes en la progresión de la curva A a la curva D.

Debido a la gran utilidad de la suavización y a su amplia aplicación, se han desarrollado criterios para usarla, hay ecuaciones para calcular los coeficientes de

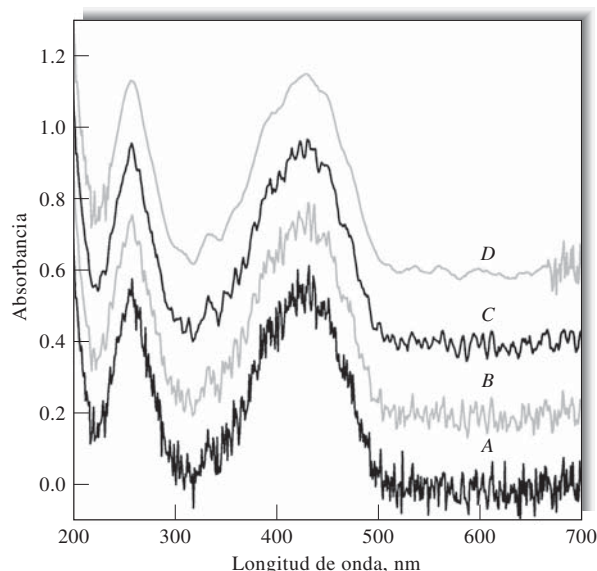


FIGURA 5.15 Efecto de la suavización en un espectro de absorción con ruido de la tartracina: A) Espectro original, B) suavización cuadrática de cinco puntos de los datos en A, C) suavización de cuarto grado de 13 puntos de los mismos datos, D) suavización de décimo grado de 77 puntos de los datos.

suavización y se han aplicado a datos bidimensionales como los espectros de una red de diodos.¹⁰

Métodos de correlación

Con frecuencia, los métodos de correlación se aplican para procesar datos provenientes de instrumentos analíticos. Estos procedimientos representan herramientas potentes para desarrollar tareas como extraer señales que aparecen perdidas sin esperanza en el ruido, suavizar datos ruidosos, comparar un espectro de un analito con espectros almacenados de compuestos puros y resolver picos traslapados o no resueltos en la espectroscopía y en la cromatografía.¹¹ Los métodos de correlación se basan en la manipulación de datos matemáticos complejos que se puede efectuar de manera apropiada sólo mediante una computadora o mediante instrumentación analógica muy rebuscada.

Los métodos de correlación no se tratan en este texto. Si el lector está interesado en este aspecto debe consultar las referencias de la nota 11.



Simulación: aprenda más acerca de la **suavización de datos**.

⁹T. A. Nieman y C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1976**, 48, p. 705A.

¹⁰Para más detalles sobre la naturaleza del proceso de suavización y su ejecución, refiérase a J. Deltour, *Anal. Chem.*, **1972**, 44, p. 1906; T. A. Nieman y C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1976**, 48, p. 705A; H. H. Madden, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, p. 1383; K. L. Ratzlaff, *Introduction to Computer-Assisted Experimentation*, Nueva York: Wiley, 1987.

¹¹Si desea un análisis más minucioso sobre los métodos de correlación, consulte G. Horlick y G. M. Hieftje, en *Contemporary Topics in Analytical and Clinical Chemistry*, D. M. Hercules, et al., eds., vol. 3, pp. 153-216, Nueva York: Plenum Press, 1978. En G. M. Hieftje y G. Horlick, *American Laboratory*, **1981**, 13 (3), p. 76, hay un estudio breve.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 5.1** ¿Qué tipos de ruido dependen de la frecuencia? ¿Y cuáles son independientes de la frecuencia?
- 5.2** Mencione el tipo o los tipos de ruido que se pueden reducir mediante
- disminución de la temperatura de una medida.
 - disminución de la frecuencia que se usa para la medida.
 - reducción del ancho de banda de la medición.
- 5.3** Recomiende un intervalo de frecuencia que sea propio para reducir el ruido al mínimo. Explique.
- 5.4** ¿Por qué es vital el blindaje en el diseño de electrodos de vidrio cuya resistencia interna es de 106 ohms o más?
- 5.5** ¿Qué tipo de ruido es probable que sea reducido con *a*) un filtro pasaaltas y *b*) un filtro pasabajas?
- 5.6** Efectúe un cálculo aproximado de la relación señal/ruido para la corriente de 0.9×10^{-15} A que se muestra en la figura 5.1a.
-  ***5.7** Los datos siguientes se obtuvieron al pesar en forma repetida un peso patrón de 1.004 g en una balanza:
- | | | |
|-------|-------|-------|
| 1.003 | 1.000 | 1.001 |
| 1.004 | 1.005 | 1.006 |
| 1.001 | 0.999 | 1.007 |
- Suponga que el ruido es aleatorio y calcule la relación señal/ruido de la balanza.
 - ¿Cuántas medidas tendrían que ser promediadas para obtener una S/N de 500?
-  ***5.8** Los siguientes datos se obtuvieron en las mediciones de un voltaje, en mV, en un sistema que contenía ruido: 1.37, 1.84, 1.35, 1.47, 1.10, 1.73, 1.54, 1.08.
- Si se supone que el ruido es aleatorio, ¿cuál es la relación señal/ruido?
 - ¿Cuántas medidas se tendrían que promediar para obtener una S/N de 10?
- *5.9** Calcule el ruido térmico rms asociado con un resistor de carga de 1.0-M Ω que funciona a temperatura ambiente si se utiliza un osciloscopio de 1 MHz de ancho de banda. Si el ancho de banda se reduce a 100 Hz, ¿por qué factor se tendrá que reducir el ruido?
- *5.10** Si el espectro *A* de la figura 5.2 es el resultado de un solo barrido y el espectro *B* es el resultado de un promedio de conjunto, ¿cuántos espectros se sumaron para aumentar la relación S/N de 4.3 a 43?
- *5.11** Calcule la mejora en S/N para progresar desde el espectro de la parte superior a la de la inferior en la figura 5.10. ¿Por qué factor está mejorado la S/N del espectro de la parte inferior respecto al espectro medio?
- *5.12** Determine la mejora en la S/N al pasar del espectro *A* al espectro *D* de la figura 5.15.

**Problema de reto**

- 5.13** a) En la siguiente hoja de cálculo de Excel se presentan los resultados de una electroforesis capilar supervisada mediante la detección de fluorescencia. Grafique los datos originales y calcule y grafique una suavización de promedio móvil no ponderada de cinco puntos de los resultados.
- b) Calcule y grafique la suavización de Savitzky-Golay de cinco puntos con los coeficientes de suavización que se dieron en este capítulo. Compare la mejora en la S/N de la suavización de Savitzky-Golay con la de la suavización con promedio móvil que graficó en a). Asimismo, compare la distorsión del pico de los dos tipos de suavización.
- c) Mediante un buscador como Google encuentre los coeficientes de suavización de Savitzky-Golay para una suavización cuadrática de siete puntos (orden = 2) para los puntos dato que se muestran. Observe que en muchos casos los coeficientes ya han sido normalizados mediante la división entre un entero de normalización. Podrá determinar si los coeficientes han sido normalizados comparándolos con los que se dan en la figura 5.14a, los cuales tienen que ser normalizados dividiéndolos entre 35.
- d) Ahora lleve a cabo una suavización con promedio móvil de siete puntos y una suavización de Savitzky-Golay de siete puntos con estos datos. Compare la mejoría en la S/N y la distorsión en la forma del pico.
- e) Ejecute una suavización con promedio móvil de siete puntos y una de 15 puntos con los datos. ¿Con cuál anchura de suavización mejora más la S/N ? ¿Qué anchura de suavización proporciona la mínima distorsión en la forma del pico?
- f) Defienda o argumente en contra de la conclusión a la que llegaron Enke y Nieman en su trabajo sobre la suavización (*Anal. Chem.*, **1976**, 48, p. 705A) de que “la suavización por mínimos cuadrados tiene sólo valor cosmético”. Inicie con un enunciado en el que exprese si está de acuerdo o no con la conclusión de Enke y Nieman. Justifique su propia conclusión con los resultados e inferencias del trabajo de ellos así como con su propio razonamiento.

	A	B	C
1	Datos de suavización		
2	Pico de electroforesis capilar		
3	detectado por fluorescencia		
4	tiempo, s	Intensidad de la fluorescencia	
5	100	0.0956	
6	105	0.1195	
7	110	0.1116	
8	115	0.1275	
9	120	0.0717	
10	125	0.1036	
11	130	0.0319	
12	135	0.0717	
13	140	0.1355	
14	145	0.2231	
15	150	0.1753	
16	155	0.5817	
17	160	1.8646	
18	165	2.6535	
19	170	2.8527	
20	175	2.8846	
21	180	2.8368	
22	185	2.7890	
23	190	2.7093	
24	195	2.5180	
25	200	2.3427	
26	205	2.2312	
27	210	1.9603	
28	215	1.8248	
29	220	1.6017	
30	225	1.4901	
31	230	1.2989	
32	235	1.2590	
33	240	1.1076	
34	245	0.9642	
35	250	0.9164	
36	255	0.8845	
37	260	0.7809	
38	265	0.7172	
39	270	0.6694	
40	275	0.6215	
41	280	0.6454	
42	285	0.6454	
43	290	0.5817	

	A	B	C
44	295	0.5259	
45	300	0.5658	
46	305	0.5259	
47	310	0.5020	
48	315	0.5419	
49	320	0.5419	
50	325	0.3426	
51	330	0.4940	
52	335	0.4383	
53	340	0.4462	
54	345	0.3984	
55	350	0.4064	
56	355	0.4383	
57	360	0.3984	
58	365	0.3905	
59	370	0.4861	
60	375	0.3984	
61	380	0.3267	
62	385	0.3905	
63	390	0.3825	
64	395	0.4303	
65	400	0.3267	
66	405	0.3586	
67	410	0.3905	
68	415	0.3745	
69	420	0.3347	
70	425	0.3426	
71	430	0.2869	
72	435	0.2550	
73	440	0.3506	
74	445	0.3028	
75	450	0.3028	
76	455	0.3108	
77	460	0.2311	
78	465	0.2709	
79	470	0.3028	
80	475	0.2789	
81	480	0.3347	
82	485	0.2311	
83	490	0.1753	
84	495	0.2869	
85	500	0.2311	

El laboratorio analítico electrónico

En muchos laboratorios, sobre todo en los de la industria farmacéutica, las regulaciones gubernamentales, el desarrollo de un nuevo producto, las pruebas del producto y las auditorías han dado lugar a un incremento sustancial de papeleo. Debido al uso extenso de las computadoras y los instrumentos automatizados en los laboratorios analíticos, se ha argumentado durante muchos años que los laboratorios electrónicos y sin papeles resolverían los problemas ocasionados por esta explosión de papeleo y de llevar registros. En un laboratorio de este tipo se manejarían en forma electrónica los procesos, las manipulaciones, los informes, el archivo, el almacenamiento y la búsqueda de datos. En años recientes se han escrito las regulaciones gubernamentales para facilitar y hasta para estimular los laboratorios sin papeles cuando se cumplen ciertos criterios. El Título 21, Parte 11 del *Código de Regulaciones Federales* de la Dirección de Alimentos y Medicinas (FDA) trata del archivo electrónico aceptable, de la presentación electrónica y de las firmas electrónicas, sobre todo para la industria farmacéutica. El acatamiento de las reglamentaciones así como el deseo de aprovechar todas las ventajas de los adelantos técnicos modernos han estimulado los avances en la implantación de dichos laboratorios totalmente electrónicos.

Ventajas posibles

Los laboratorios electrónicos tienen muchos beneficios posibles.¹ La reducción del trabajo en papel es sin lugar a dudas una de las principales ventajas. Los datos que provienen de instrumentos se pueden manipular y almacenar electrónicamente. La información se puede introducir en forma automática en un cuaderno electrónico. En los sistemas que se apoyan en el papel, los datos tienen que escribirse en forma manual en cuadernos convencionales y las gráficas o las fotografías se tienen que almacenar.

Otro efecto positivo de un laboratorio electrónico es que aumenta la eficacia. Como se dispone de la información en forma electrónica, se pueden compartir los datos y la información en forma expedita entre muchos colaboradores dentro de la compañía. Los empleados que necesitan la información casi la tienen de inmediato a su alcance, de modo que las decisiones se pueden tomar con mayor rapidez que en los laboratorios que se basan en el papel.

El tercer beneficio es agilizar el procesamiento de las muestras en los laboratorios analíticos. En este caso, la automatización del laboratorio y la manipulación electrónica de la información ayuda a completar los análisis de las muestras con mayor rapidez de modo que quienes necesitan resultados analíticos los pueden recibir con prontitud. Esto permite aligerar los problemas de producción, ayuda en los

estudios sobre la eficacia de nuevos productos o acelera la liberación de nuevos materiales al mercado.

Los laboratorios que ya no utilizan papel son de gran ayuda para cumplir con las regulaciones gubernamentales. Los sistemas que concuerdan con las regulaciones pueden automatizar el proceso de acatamiento y lograr una mejor detección si sus prácticas no se ajustan a las regulaciones establecidas. El rastreo de la verificación contable se efectúa con mayor facilidad y cualquier posible alteración se localiza con más rapidez con los sistemas electrónicos.

Para finalizar, los costos se reducen en los laboratorios que ya no usan papel porque se requieren menos trabajadores para terminar el trabajo en papel y elaborar los informes. El uso más eficaz de los recursos disponibles consigue amplios beneficios y ahorros en los costos.

Componentes de los laboratorios electrónicos

¿Qué constituye un laboratorio electrónico?² En la figura IA1.1 se muestran las partes principales de un laboratorio que ya no utiliza papel. Primero, se requiere un instrumento analítico computarizado para adquirir, manipular y procesar los datos. Éste podría estar conectado a su propio sistema de datos, como es el caso de muchos de los instrumentos de cromatografía, o directamente a un cuaderno electrónico para el laboratorio que a menudo proporciona entrada a un sistema de administración de la información del laboratorio (SAIL) como se trata en la sección 4H.2, y a un sistema de archivo de datos del laboratorio. En algunos casos, la información del sistema de datos o del cuaderno electrónico fluye de modo directo a un almacenamiento de archivos. Varios de estos componentes se tratan en el estudio de un caso que aquí se presenta.

Cuadernos electrónicos para el laboratorio

Se pueden conseguir desde mediados de la década de los noventa. Prometían revolucionar la recolección y difusión de los datos de laboratorio.³ Pero el uso amplio de este dispositivo en la industria, las oficinas gubernamentales o los laboratorios académicos es reciente. Con las nuevas regulaciones y el deseo de mejorar la eficacia se han dado cuenta de que tener la información relacionada con los nuevos productos o las muestras analíticas tan pronto como sea posible y mantener la información disponible para otras personas en la empresa es una idea que tiene bastante mérito. Por tanto, los cuadernos electrónicos para el laboratorio han tenido un nuevo resurgimiento en los últimos años, sobre todo en la industria farmacéutica.

²S. Piper, *Am. Pharm. Rev.* **2005**, 8 (1), p. 10 (www.americanpharmaceuticalreview.com).

³P. Rees, *Scientific Computing World* **2004**, 79, p. 10 (www.scientific-computing.com/scwnovdec04lab_notebooks.html).

¹R. D. McDowall, *Am. Pharm. Rev.*, **2004**, 7 (4), p. 20.

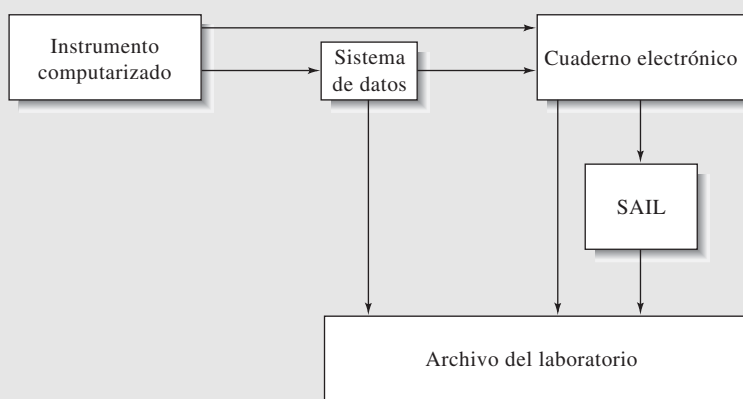


FIGURA IA1.1 Componentes de un laboratorio analítico electrónico.

FIGURA IA1.2 Credencial de biblioteca para un usuario ficticio (cortesía de FileMaker, Inc.).

Los cuadernos electrónicos para el laboratorio constan de páginas en las cuales un investigador puede escribir datos y gráficas o importar los datos desde instrumentos, sistemas de datos o programas de cómputo como hojas de cálculo y paquetes científicos. En un cuaderno electrónico para laboratorio, un bibliotecario primero expide una credencial para la biblioteca. Con el tipo de cuaderno electrónico que se ilustra en la figura IA1.1, un bibliotecario entrega una credencial a cada uno de los usuarios del

cuaderno electrónico. La credencial contiene información personal del usuario como la que se muestra en la figura IA1.2.

Después de que el usuario tiene su credencial para la biblioteca, un número de identificación y una clave, se puede abrir el cuaderno electrónico y se pueden observar las páginas. En la figura IA1.3 se ilustra una página característica de un cuaderno electrónico para un laboratorio. En este caso, se pide al autor de la página que firme elec-

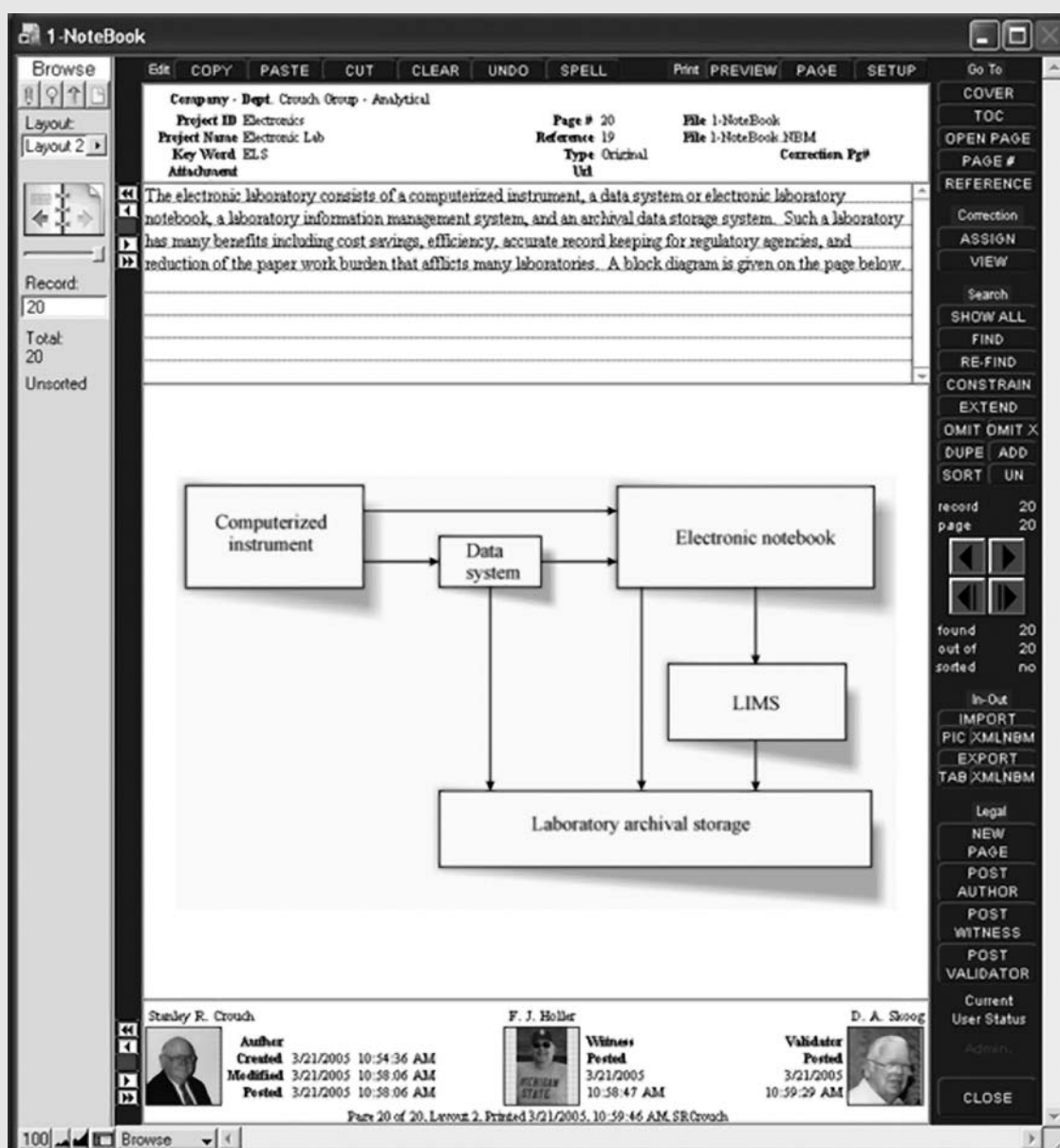


FIGURA IA1.3 Página del cuaderno electrónico para laboratorio en la que se puede ver el autor, el testigo y quien valida (cortesía de FileMaker, Inc.).

trónicamente la página mediante la colocación de una imagen y una frase. La firma electrónica es un medio único, que no está escrito a mano, que sirve para identificar a una persona y que nadie más puede usar. Por lo regular, está formada por un número de identificación, una clave, un código de barras y un código de identificación personal de una huella dactilar, la voz o la retina. Es necesario que un testigo firme con un número de identificación válido y una clave y dé testimonio de la existencia de la página. De igual manera, el encargado de validar firma y autoriza la existen-

cia de la página del cuaderno electrónico. A los usuarios se les asignan varios niveles de seguridad cuando la credencial de la biblioteca se expide.

Cualquier usuario registrado puede buscar electrónicamente el cuaderno para laboratorio. Esta característica facilita que el usuario encuentre con rapidez información y la comparta con otros colaboradores que tengan permiso de acceso. El cuaderno electrónico para el laboratorio no depende de la caligrafía del usuario como sucede con los cuadernos ordinarios. Se puede tener acceso a dicho cua-

dero desde el hogar, una reunión en otra localidad o la oficina del trabajador. Se puede respaldar con los procedimientos normales, de modo que no se puede perder ni la pueda destruir un investigador. Además, las páginas del cuaderno se pueden imprimir para usarlas en informes.

Conexión con el SAIL y el archivo

Muchos cuadernos electrónicos para laboratorio están conectados en red con el sistema de administración de la información del laboratorio o con los sistemas que archivan la información. Dicho sistema de administración maneja el rastreo de las muestras y la administración junto con la programación y el archivo de datos (véase figura 4.21). Algunos cuadernos electrónicos se comunican en forma inalámbrica con dicho sistema o con el sistema que archiva la información, y otros forman parte de una red de área local. Con frecuencia, la integración de los instrumentos existentes, los sistemas de datos y los sistemas de administración de la información del laboratorio es formidable. Es difícil incorporar totalmente los laboratorios antiguos, pero los nuevos o los rediseñados pueden contener los principios del laboratorio electrónico desde el principio.

Adelantos futuros

Ya es posible prever que en el futuro se verán sistemas de laboratorios electrónicos integrados más estrechamente. Las compañías de la industria farmacéutica ya han empezado a cambiar. A medida que los beneficios sean reconocidos más ampliamente, muchos otros laboratorios de las industrias, del gobierno y académicos dejarán de usar papel. Con frecuencia, los científicos cuentan con herramientas electrónicas como computadoras portátiles y ayudantes digitales personales, para apoyarlos en su trabajo. Cada vez se pueden ver más de estos dispositivos que se comunican con los cuadernos electrónicos, con los sistemas de administración de la información del laboratorio y con los instrumentos del mismo con el fin de aumentar la eficacia y la productividad. Aunque las reglamentaciones gubernamentales están impulsando la adopción de laboratorios electrónicos en la industria farmacéutica, con el tiempo el aumento de la productividad, el menor trabajo en papel y los bajos costos serán las razones más importantes para implantar los laboratorios electrónicos.

Espectroscopía atómica

© Ted Kinsman/Photo Researchers, Inc.

La imagen que se muestra contiene los espectros de emisión óptica de varias sustancias gaseosas. Cada espectro es una huella única de la sustancia correspondiente que puede usarse para identificarla. En orden descendente, las sustancias son bromo, deuterio, helio, hidrógeno, criptón, mercurio, neón, vapor de agua y xenón. Note las similitudes entre hidrógeno, deuterio y vapor de agua. Como se verá, las intensidades de las líneas en los espectros producen información relacionada con las concentraciones de los elementos. La espectroscopia óptica es sólo uno de muchos métodos espectroscópicos que se exploran en la sección 2.

La sección 2 abarca los principios fundamentales y los métodos de la espectroscopía atómica. En el capítulo 6 se investiga la naturaleza de la luz y su interacción con la materia, y en el capítulo 7 se presentan los componentes ópticos, electrónicos y mecánicos de los instrumentos ópticos. En estos dos capítulos se estudian también conceptos y componentes de instrumentos que son útiles en el análisis de la espectroscopía molecular de la sección 3. La naturaleza general de los espectros atómicos y las cuestiones prácticas de colocar muestras atómicas en un espectrómetro se atienden en el capítulo 8. En el capítulo 9 se explora la práctica de la absorción atómica y la espectroscopía de fluorescencia atómica, en tanto que en el capítulo 10 se da un tratamiento similar de la espectroscopía de emisión atómica. La espectrometría de masas se presenta en el capítulo 11, en el que se dan descripciones de varios instrumentos y métodos de la espectrometría de masa atómica. El estudio de la espectrometría atómica se completa mediante una descripción de la espectrometría de rayos X en el capítulo 12. En el estudio *Análisis instrumental en acción*, se examinan los métodos analíticos para verificar y diferenciar el mercurio en el ambiente.

6 Introducción a los métodos espectrométricos

7 Componentes de los instrumentos ópticos

8 Introducción a la espectrometría óptica atómica

9 Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica

10 Espectrometría de emisión atómica

11 Espectrometría de masas atómica

12 Espectroscopía atómica de rayos X

Análisis instrumental en acción
Control de mercurio

Introducción a los métodos espectrométricos

Este capítulo trata de un modo general las interacciones de las ondas electromagnéticas con las especies atómicas y moleculares. Después de esta introducción a los métodos espectrométricos, los siguientes seis capítulos tratan sobre cómo los usan los científicos para identificar y determinar los elementos presentes en varias formas de la materia. En los capítulos 13 al 21 se analizan los usos de la espectrometría para la determinación estructural de especies moleculares y se describe cómo se usan estos métodos para la determinación cuantitativa.

Los métodos espectrométricos son un gran grupo de métodos analíticos que se basan en la espectroscopía atómica y molecular. La *espectroscopía* es un término general para la ciencia que trata con las interacciones de varios tipos de radiación con la materia. Desde siempre, el interés se ha centrado en las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia, pero ahora la espectroscopía se ha ampliado para incluir las interacciones entre la materia y otras formas de energía. Entre los ejemplos están las ondas acústicas y los haces de partículas como iones o electrones. La *espectrometría* y los *métodos espectrométricos* se refieren a la medición de la intensidad de la radiación con un transductor fotoeléctrico u otro tipo de dispositivo electrónico.

Los métodos espectrométricos que más se usan se basan en la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que adopta varias formas; las más reconocibles son la luz y el calor radiante. Las manifestaciones menos obvias son los rayos gamma y los rayos X, así como la radiación ultravioleta, la de microondas y la de radiofrecuencia.

6A PROPIEDADES GENERALES DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Muchas de las propiedades de la radiación electromagnética se describen por medio de un modelo ondulatorio sinusoidal clásico, que incorpora características como longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. En contraste con otros fenómenos ondulatorios, como el sonido, la radiación electromagnética no requiere medio de soporte para su transmisión y, por tanto, pasa con facilidad por el vacío.

El modelo ondulatorio no toma en cuenta los fenómenos relacionados con la absorción y emisión de energía radiante. Para entender estos procesos, es necesario recurrir a un modelo de partículas en el cual la radiación electromagnética es vista como una corriente de partículas discretas, de paquetes de ondas o energía llamados *fotones*. La energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación. Estos puntos de vista duales de la radiación como partículas y como ondas no son mutuamente excluyentes, sino más bien complementarios. De hecho, se encuentra que la dualidad onda-partícula se aplica al comportamiento de las corrientes de electrones, protones y otras partículas elementales, y es la mecánica ondulatoria la encargada de darle una explicación racional.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad de estudiar en línea en <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, que lo enlaza con clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

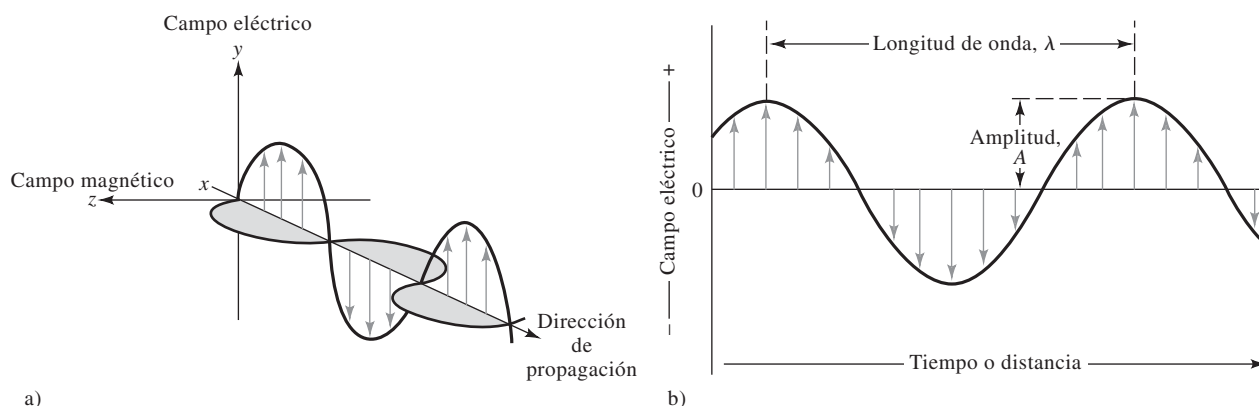


FIGURA 6.1 Naturaleza ondulatoria de un haz de radiación electromagnética de una sola frecuencia. En a) se muestra una onda polarizada en el plano que se propaga a lo largo del eje x . El campo eléctrico oscila en un plano perpendicular al campo magnético. Si la radiación no fuera polarizada, en todos los planos se vería un componente del campo eléctrico. En b) sólo se muestran las oscilaciones del campo eléctrico. La amplitud de la onda es la longitud del vector del campo eléctrico en el máximo de la onda, mientras que la longitud de onda es la distancia entre máximos sucesivos.

6B PROPIEDADES ONDULATORIAS DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Para muchos propósitos la radiación electromagnética se representa convenientemente como campos eléctricos y magnéticos que experimentan en fase oscilaciones sinusoidales en ángulos rectos entre sí y respecto a la dirección de propagación. La figura 6.1a es una representación de un solo haz de radiación electromagnética polarizada en el plano. El término *polarizada en el plano* significa que las oscilaciones de los campos eléctrico o magnético yacen en un solo plano. La figura 6.1b es la representación en dos dimensiones del componente eléctrico del haz que se representa en la figura 6.1a. La intensidad del campo eléctrico en la figura 6.1 se representa como un vector cuya longitud es proporcional a su magnitud. La abscisa de esta gráfica es el tiempo cuando la radiación pasa por un punto fijo en el espacio, o la distancia cuando el tiempo se mantiene constante. En este capítulo, y en la mayor parte del texto restante, sólo se considerará el componente eléctrico de la radiación porque el campo eléctrico es el causante de la mayor parte de los fenómenos que son de interés para nosotros, incluidas la transmisión, la reflexión, la refracción y absorción. No obstante, tenga en cuenta que el componente magnético de la radiación electromagnética es causante de la absorción de las ondas de radiofrecuencia en la resonancia magnética nuclear.

6B.1 Características de las ondas

En la figura 6.1b, la *amplitud* A de la onda sinusoidal se muestra como la longitud del vector eléctrico en un máximo de la onda. El tiempo en segundos que se requiere para el paso de máximos o mínimos sucesivos por un punto fijo en el espacio se llama *periodo* p de la radiación. La *frecuencia* ν es el número de oscilaciones del campo que ocurren por segundo¹ y es igual a $1/p$. Otra variable de interés es la *longitud de onda* λ , que es la distancia lineal entre dos puntos equivalentes cualesquiera en ondas sucesivas (p. ej., máximos o mínimos sucesivos).² La multiplicación de la frecuencia en ciclos por segundo por la longitud de onda en metros por ciclo da la velocidad de propagación v_i en metros por segundo:

$$v_i = \nu \lambda_i \quad (6.1)$$

Es importante entender que la frecuencia de un haz de radiación está determinada por la fuente y *permanece invariable*. En contraste, la velocidad de la

¹ La unidad común de frecuencia es el recíproco del segundo (s^{-1}), o hertz (Hz), que corresponde a un ciclo por segundo.

² Las unidades que se suelen usar para describir la longitud de onda difieren de modo considerable en varias regiones del espectro. Por ejemplo, la unidad angstrom, $\text{\AA}$ (10^{-10} m), es conveniente para rayos X y radiación ultravioleta corta; el nanómetro, nm (10^{-9} m), se emplea con la radiación visible y la ultravioleta; el micrómetro, μm (10^{-6} m), es útil para la región del infrarrojo. (El *micrómetro* se llamaba *micra* en las primeras publicaciones; ya no se recomienda el uso de este término.)

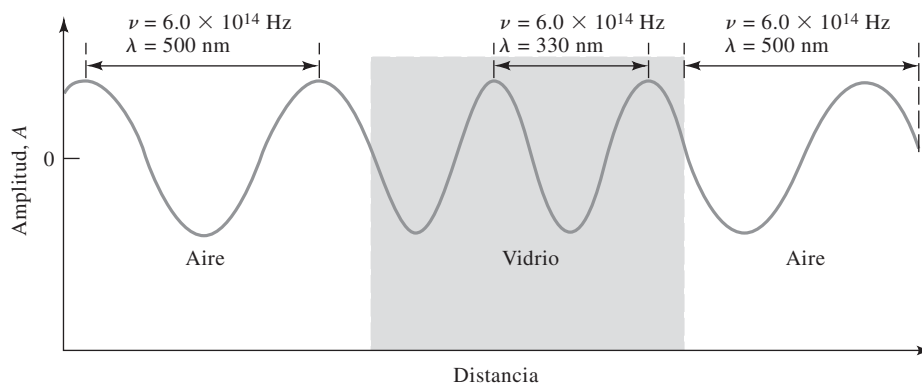


FIGURA 6.2 Cambio en la longitud de onda a medida que la radiación pasa del aire a un vidrio denso y regresa al aire. Observe que la longitud de onda se acorta en alrededor de 200 nm, o más de 30%, cuando pasa al vidrio; un cambio inverso ocurre cuando la radiación entra de nuevo en el aire.

radiación depende de la composición del medio por el que pasa. Así, de acuerdo con la ecuación 6.1 la longitud de onda de la radiación también depende del medio. El subíndice i en la ecuación 6.1 indica estas dependencias.

En el vacío, la velocidad de la radiación es independiente de la longitud de onda y está en su máximo. Esta velocidad, a la que se le asigna el símbolo c , ha sido determinada como 2.99792×10^8 m/s. Es importante que la velocidad de la radiación en el aire difiera sólo un poco de c (casi 0.03% menos); así, para el aire o el vacío, la ecuación 6.1 se puede escribir hasta con tres cifras significativas como

$$c = \nu\lambda = 3.00 \times 10^8 \text{ m/s} = 3.00 \times 10^{10} \text{ cm/s} \quad (6.2)$$

En cualquier medio que contenga materia, la propagación de la radiación se reduce por la interacción entre el campo electromagnético de la radiación y los electrones unidos en la materia. Puesto que la frecuencia radiante es invariable y es mantenida fija por la fuente, la longitud de onda debe disminuir a medida que la radiación pasa del vacío a otro medio (ecuación 6.2). Este efecto se ilustra en la figura 6.2 para un haz monocromático de radiación visible.³ Observe que la longitud de onda se acorta casi 200 nm, o más de 30%, cuando pasa al vidrio; ocurre un cambio inverso cuando la radiación entra de nuevo en el aire.

El *número de onda* $\bar{\nu}$, que se define como el recíproco de la longitud de onda en centímetros, es otra forma de describir la radiación electromagnética. La unidad para $\bar{\nu}$ es cm^{-1} . El número de onda se usa ampliamente en la espectroscopía infrarroja. Es una uni-

dad útil porque, en contraste con la longitud de onda, es directamente proporcional a la frecuencia y, por tanto, a la energía de radiación. Así, se puede escribir

$$\bar{\nu} = k\nu \quad (6.3)$$

donde la constante de proporcionalidad k depende del medio y es igual al recíproco de la velocidad (ecuación 6.1).

La *potencia* P de la radiación es la energía del haz que alcanza un área determinada por segundo, mientras que la *intensidad* I es la potencia por ángulo sólido unitario. Estas cantidades están relacionadas con el cuadrado de la amplitud A (véase la figura 6.1). Aunque en rigor no es correcto proceder así, la potencia y la intensidad se usan de manera indistinta.

6B.2 El espectro electromagnético

Como se muestra en la figura 6.3, el espectro electromagnético abarca una enorme gama de longitudes de onda y frecuencias (y, por tanto, de energías). De hecho, el intervalo es tan grande que se requiere una escala logarítmica. En la figura 6.3 se ilustran también de modo cualitativo las regiones espectrales principales. Las divisiones se basan en los métodos usados para generar y detectar las distintas clases de radiación. Varios traslapes son evidentes. Note que la porción del espectro visible para el ojo humano es pequeña comparada con otras regiones espectrales. Observe también que los métodos espectroquímicos que emplean no sólo radiación visible, sino también ultravioleta se llaman *métodos ópticos* a pesar de la incapacidad del ojo humano para detectar cualquiera de los dos tipos de radiación. Esta terminología un poco ambigua surge de las muchas características comunes de los instru-

³Un haz *monocromático* es un haz de radiación compuesto por rayos con idénticas longitudes de onda. Un haz *policromático* está formado por rayos con diferentes longitudes de onda.

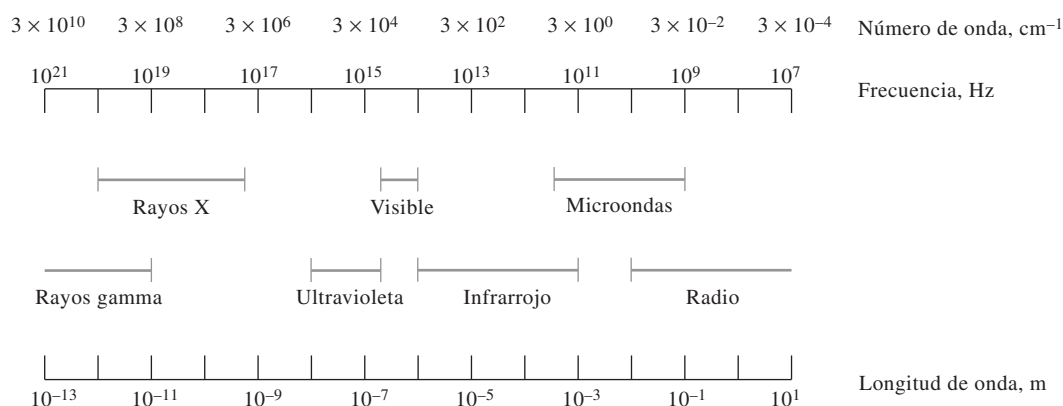


FIGURA 6.3 Regiones en el espectro electromagnético.

TABLA 6.1 Métodos espectroscópicos comunes basados en la radiación electromagnética.

Tipo de espectroscopía	Intervalo usual de longitud de onda*	Intervalo usual de número de onda, cm^{-1}	Tipo de transición cuántica
Emisión de rayos gamma	0.005–1.4 Å	—	Nuclear
Absorción, emisión, fluorescencia y difracción de rayos X	0.1–100 Å	—	Electrón interno
Absorción ultravioleta en el vacío	10–180 nm	1×10^6 a 5×10^4	Electrones de enlace
Absorción, emisión y fluorescencia ultravioleta-visible	180–780 nm	5×10^4 a 1.3×10^4	Electrones de enlace
Absorción infrarroja y dispersión Raman	0.78–300 μm	1.3×10^4 a 3.3×10^1	Rotación/vibración de moléculas
Absorción de microondas	0.75–375 mm	13–0.03	Rotación de moléculas
Resonancia de giro electrónico	3 cm	0.33	Espín de electrones en un campo magnético
Resonancia magnética nuclear	0.6–10 m	1.7×10^{-2} a 1×10^3	Espín de núcleos en un campo magnético

*1 Å = 10^{-10} m = 10^{-8} cm1 nm = 10^{-9} m = 10^{-7} cm1 μm = 10^{-6} m = 10^{-4} cm

mentos para las tres regiones espectrales y las similitudes en cómo se ven las interacciones de los tres tipos de radiación con la materia.

En la tabla 6.1 se enlistan los valores de la longitud de onda y los intervalos de frecuencia para las regiones del espectro que son importantes para propósitos analíticos y se proporcionan los nombres de los distintos métodos espectroscópicos relacionados con cada una. En la última columna de la tabla se enumeran los tipos de transiciones nucleares, atómicas o cuánticas moleculares que sirven como base para las diversas técnicas espectroscópicas.



Ejercicio: aprenda más acerca del **espectro electromagnético**.

6B.3 Descripción matemática de una onda

Con el tiempo como variable, la onda de la figura 6.1b se puede describir mediante la ecuación para una onda seno. Es decir,

$$y = A \sin(\omega t + \phi) \quad (6.4)$$

donde y es la magnitud del *campo eléctrico* en el tiempo t , A es la amplitud o valor máximo para y , y ϕ es el *ángulo de fase*, un término que se definió en la sección 2B.1, página 34. La velocidad angular del vector ω se relaciona con la frecuencia de la radiación ν mediante la ecuación

$$\omega = 2\pi\nu$$

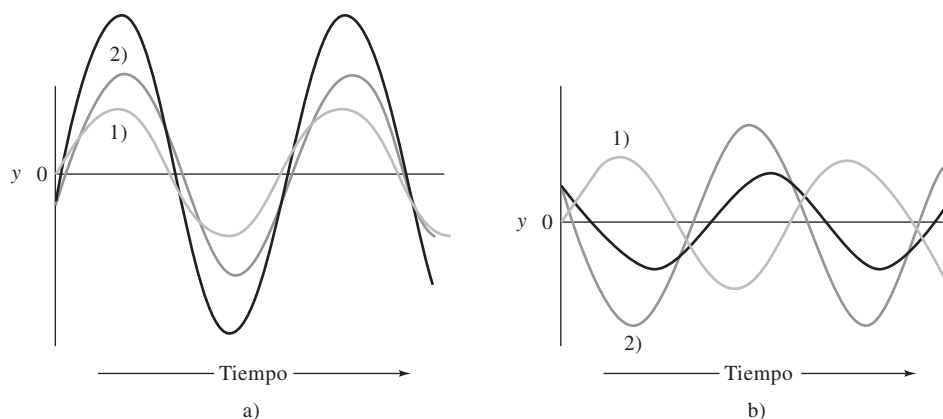


FIGURA 6.4 Superposición de onda sinusoidal: a) $A_1 < A_2$, $(\phi_1 - \phi_2) = 20^\circ$, $\nu_1 = \nu_2$; b) $A_1 < A_2$, $(\phi_1 - \phi_2) = 200^\circ$, $\nu_1 = \nu_2$. En cada caso, la curva negra resulta de la combinación de las otras dos curvas.

La sustitución de esta relación en la ecuación 6.4 produce

$$y = A \sin(2\pi\nu t + \phi) \quad (6.5)$$

6B.4 Superposición de ondas

El *principio de superposición* establece que cuando dos o más ondas atraviesan el mismo espacio, ocurre una perturbación que es la suma de las perturbaciones causadas por las ondas individuales. Este principio se aplica a las ondas electromagnéticas en las que dichas perturbaciones involucran un campo eléctrico, así como con otros tipos de ondas, en las que se desplazan átomos o moléculas. Cuando n ondas electromagnéticas que difieren en frecuencia, amplitud y ángulo de fase pasan por algún punto en el espacio de forma simultánea, el principio de superposición y la ecuación 6.5 permiten escribir

$$y = A_1 \sin(2\pi\nu_1 t + \phi_1) + A_2 \sin(2\pi\nu_2 t + \phi_2) + \dots + A_n \sin(2\pi\nu_n t + \phi_n) \quad (6.6)$$

donde y es el campo resultante.

La curva negra de la figura 6.4a muestra la aplicación de la ecuación 6.6 a dos ondas de idéntica frecuencia, pero amplitud y ángulo de fase un poco diferentes. Lo que resulta es una función periódica con la misma frecuencia pero amplitud más grande que cualquiera de las ondas componentes. La figura 6.4b difiere de 6.4a en que la diferencia de fase es mayor; aquí, la amplitud resultante es más pequeña que las amplitudes de las ondas componentes. Una amplitud

máxima ocurre cuando las dos ondas están completamente en fase, una situación que ocurre siempre que la diferencia de fase entre ondas $(\phi_1 - \phi_2)$ sea 0° , 360° , o un múltiplo entero de 360° . En estas circunstancias, se dice que ocurre una *interferencia constructiva* máxima. Una *interferencia destructiva* máxima ocurre cuando $(\phi_1 - \phi_2)$ es igual a 180° o 180° más un múltiplo entero de 360° . La interferencia desempeña un papel importante en muchos métodos instrumentales basados en la radiación electromagnética.

En la figura 6.5 se ilustra la superposición de dos ondas con amplitudes idénticas pero frecuencias distintas. La onda resultante ya no es sinusoidal, sino que manifiesta periodicidad, o *pulsación*. Observe que el periodo de la pulsación p_b es el recíproco de la diferencia de frecuencias $\Delta\nu$ entre las dos ondas. Es decir,

$$p_b = \frac{1}{\Delta\nu} = \frac{1}{(\nu_2 - \nu_1)} \quad (6.7)$$

Un aspecto importante de la superposición es que una forma de onda compleja se puede descomponer en componentes simples mediante una operación matemática llamada *transformación de Fourier*. Jean Fourier, matemático francés (1768-1830), demostró que cualquier función periódica, sin importar la complejidad, se puede escribir mediante una suma de términos seno o coseno simples. Por ejemplo, la onda cuadrada ampliamente encontrada en electrónica se puede describir mediante una ecuación con la forma

$$y = A \left(\sin 2\pi\nu t + \frac{1}{3} \sin 6\pi\nu t + \frac{1}{5} \sin 10\pi\nu t + \dots + \frac{1}{n} \sin 2n\pi\nu t \right) \quad (6.8)$$



Simulación: aprenda más acerca de **superposición de ondas**.

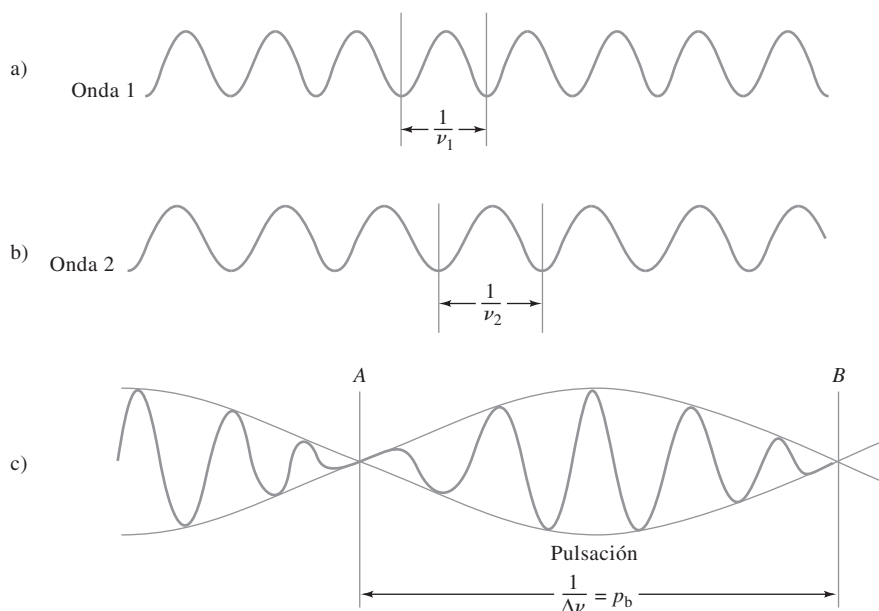


FIGURA 6.5 Superposición de dos ondas de frecuencias distintas pero amplitudes idénticas: a) onda 1 con un periodo de $1/\nu_1$; b) onda 2 con un periodo de $1/\nu_2$ ($\nu_2 = 1.25\nu_1$); c) patrón de ondas combinado. Note que la superposición de ν_1 y ν_2 produce un patrón de pulsaciones con un periodo de $1/\Delta\nu$ donde $\Delta\nu = |\nu_1 - \nu_2|$.

donde n toma valores de 3, 5, 7, 9, 11, 13, etcétera. Una representación gráfica del proceso de suma se muestra en la figura 6.6. La curva azul de la figura 6.6a es la suma de tres ondas seno que difieren en amplitud en la relación de 5:3:1 y en frecuencia en la relación de 1:3:5. Note que la resultante se aproxima a la forma de una onda cuadrada después de incluir sólo tres términos en la ecuación 6.8. Como se ilustra mediante la curva azul en la figura 6.6b, la resultante se aproxima más a una onda cuadrada cuando se incorporan nueve ondas.

Descomponer una forma de onda compleja en sus componentes seno y coseno es tedioso y tardado cuando se hace a mano. No obstante, los programas para computadora eficaces facilitan las transformaciones rutinarias de Fourier. La aplicación de esta técnica se mencionó en la sección 5C.2 y se considera en el análisis de varios tipos de espectroscopía.

6B.5 Difracción de radiación

Todos los tipos de radiación electromagnética manifiestan *difracción*, un proceso en el cual un haz paralelo de radiación se curva cuando pasa por una barrera afilada o por una abertura reducida. En la figura 6.7 se ilustra el proceso. La difracción es una propiedad de la onda que se puede observar no sólo para radiación

electromagnética, sino también para ondas mecánicas o acústicas. Por ejemplo, la difracción se demuestra con facilidad en el laboratorio al generar mecánicamente ondas de frecuencia constante en un tanque de agua y observar las crestas de las ondas antes y después de pasar por una ranura rectangular. Cuando la ranura es amplia respecto a la longitud de onda (figura 6.7a), la difracción es ligera y difícil de detectar. Por otro lado, cuando la longitud de onda y la abertura de la ranura son del mismo orden de magnitud, como en la figura 6.7b, la difracción se vuelve pronunciada. En este caso, la ranura se comporta como una nueva fuente de la cual irradian las ondas en una serie de arcos de casi 180° . Por consiguiente, la dirección del frente de onda parece curvarse como consecuencia de pasar por los dos bordes de la ranura.

La difracción es una consecuencia de la *interferencia*. Esta relación es más fácil de entender mediante un experimento efectuado por primera vez por Thomas Young en 1800, con el que demostró sin ambigüedades la naturaleza ondulatoria de la luz. Como se muestra en la figura 6.8a, se deja pasar un haz luminoso paralelo por una ranura angosta A (en el experimento de Young, era un agujero de alfiler), después de lo cual se difracta e ilumina de forma más o menos uniforme a dos agujeros separados B y C; la radiación que sale de

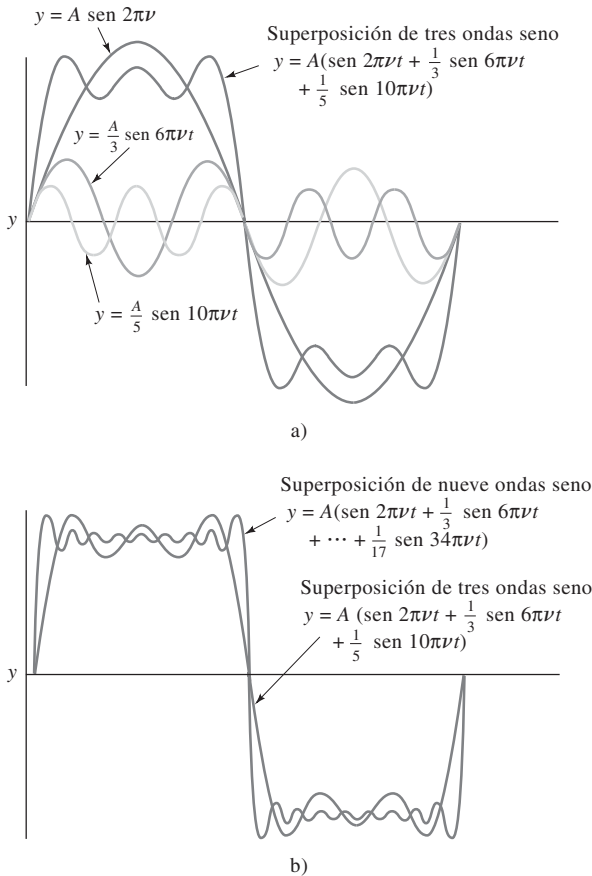


FIGURA 6.6 Superposición de ondas seno para formar una onda cuadrada: a) combinación de tres ondas seno; b) combinación de tres, como en a) y nueve ondas seno.

estas ranuras se observa luego en la pantalla que se encuentra en el plano XY . Si la radiación es monocromática, se observa una serie de imágenes oscuras y claras perpendiculares al plano de la página.

La figura 6.8b es una gráfica de las intensidades de las bandas en función de la distancia junto con la longitud de la pantalla. Si, como en este diagrama, los anchos de las ranuras se aproximan a la longitud de onda de la radiación, las intensidades de las bandas disminuyen sólo de modo gradual al aumentar las distancias desde la banda central. En el caso de ranuras más anchas, la disminución es mucho más notable.

En la figura 6.8a, el aspecto de la banda central E , la cual queda en la sombra del material opaco que separa las dos ranuras, se explica haciendo notar que las trayectorias desde B a E y C a E son idénticas. Por consiguiente, se presenta interferencia constructiva de los haces difractados desde las dos ranuras, y se observa una banda intensa. Con ayuda de la figura 6.8c, se pueden deducir las condiciones de interferencia construc-

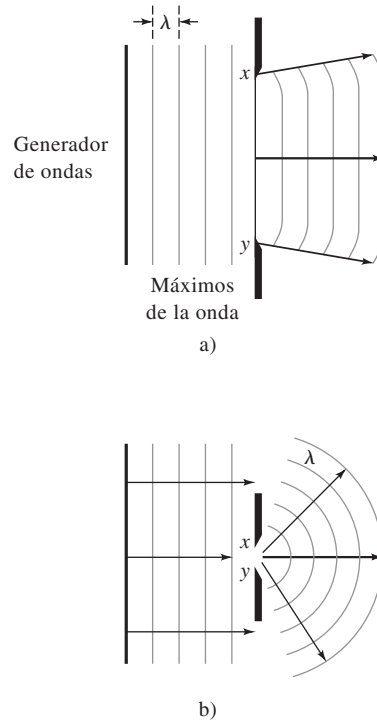


FIGURA 6.7 Propagación de ondas a través de una ranura: a) $xy \gg \lambda$; b) $xy = \lambda$.

tiva máxima, cuyo resultado son otras bandas luminosas. En la figura 6.8c, el ángulo de difracción θ se forma por las líneas OE (la normal) y OD , donde D es el punto de máxima intensidad. Las líneas negras BD y CD representan las trayectorias de la luz desde los agujeros B y C hasta este punto. Lo común es que la distancia $\overline{OE}$ sea enorme en comparación con la distancia entre las ranuras $\overline{BC}$. Por consiguiente, las líneas BD , OD y CD son paralelas para todos los propósitos prácticos. La línea BF es perpendicular a CD y forma el triángulo BCF , el cual es similar a DOE de manera muy aproximada, por tanto, el ángulo CBF es igual al ángulo de difracción θ . Entonces, es posible escribir

$$\overline{CF} = \overline{BC} \sin \theta$$

Puesto que BC es tan pequeño comparado con $\overline{OE}$, $\overline{FD}$ se aproxima mucho a $\overline{BD}$, y la distancia $\overline{CF}$ es una buena medida de la diferencia en las longitudes de la trayectoria de los haces BD y CD . Por lo que toca a los dos haces que están en fase en D , se requiere que $\overline{CF}$ corresponde a la longitud de onda de la radiación, es decir,

$$\lambda = \overline{CF} = \overline{BC} \sin \theta$$

El reforzamiento también ocurre cuando la longitud adicional de la trayectoria corresponde a 2λ , 3λ , y

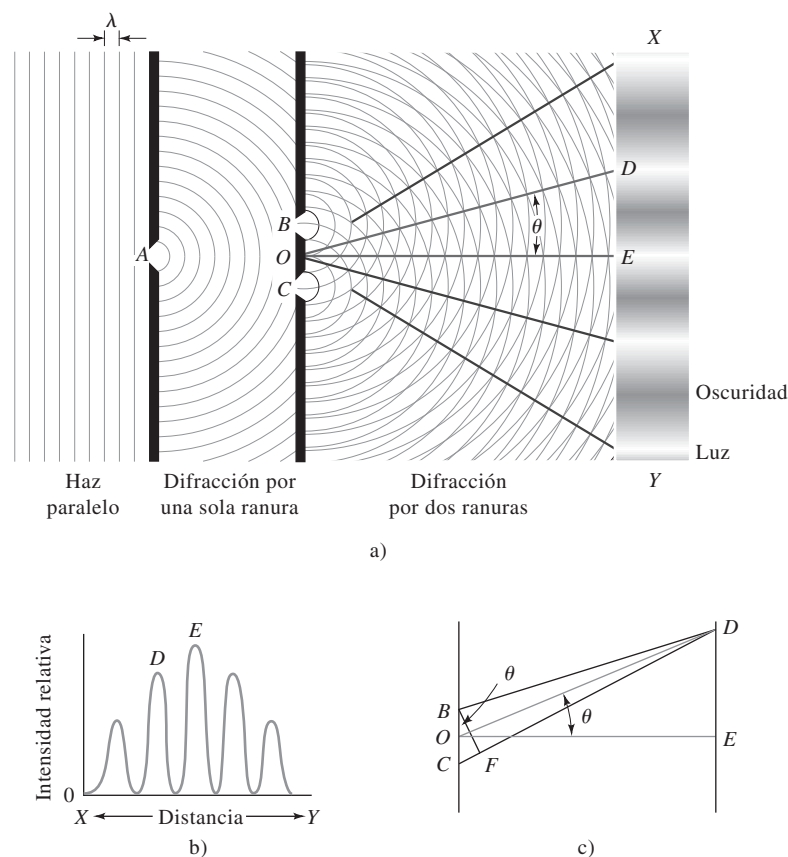


FIGURA 6.8 Difracción de la radiación monocromática mediante ranuras.

así sucesivamente. Por tanto, una expresión más general para las bandas luminosas que rodean a la banda central es

$$n\lambda = \overline{BC} \sin \theta \quad (6.9)$$

donde n es un entero que se llama *orden* de la interferencia.

El desplazamiento lineal $\overline{DE}$ del haz difractado a lo largo del plano de la pantalla es una función de la distancia $\overline{OE}$ entre la pantalla y el plano de las ranuras, así como de la separación entre las ranuras y esto se define así

$$\overline{DE} = \overline{OD} \sin \theta$$

Al sustituir lo anterior en la ecuación 6.9 se obtiene

$$n\lambda = \frac{\overline{BC} \overline{DE}}{\overline{OD}} = \frac{\overline{BC} \overline{DE}}{\overline{OE}} \quad (6.10)$$

Con la ecuación 6.10 se facilita el cálculo de la longitud de onda a partir de tres cantidades mensurables.



Simulación: aprenda más acerca de la **difracción por medio de dos ranuras**.

EJEMPLO 6.1

Suponga que la pantalla de la figura 6.8 está a 2.00 m del plano donde están las ranuras y que la separación entre ellas es de 0.300 mm. ¿Cuál es la longitud de onda de la radiación si la cuarta banda se ubica a 15.4 mm de la banda central?

Solución

Al sustituir en la ecuación 6.10 se tiene

$$4\lambda = \frac{0.300 \text{ mm} \times 15.4 \text{ mm}}{2.00 \text{ m} \times 1000 \text{ mm/m}} = 0.00231 \text{ mm}$$

$$\lambda = 5.78 \times 10^{-4} \text{ mm} = 578 \text{ nm}$$

6B.6 Radiación coherente

Para generar un patrón de difracción como el que se muestra en la figura 6.8a se requiere que las ondas electromagnéticas que viajan desde las ranuras B y C a cualquier punto dado de la pantalla (como D o E) tengan claramente definidas las diferencias de fase que se conservan *totalmente* constantes con el tiempo; es decir, la radiación proveniente de las ranuras B y C

deben ser *coherentes*. Las condiciones de coherencia son que 1) las dos fuentes de radiación deben tener frecuencias idénticas, o conjuntos de frecuencias, y 2) las relaciones de fase entre los dos haces deben permanecer constantes en el tiempo. La necesidad de que se cumplan estos requisitos se puede demostrar iluminando las dos ranuras de la figura 6.8a con un par de lámparas de tungsteno. En estas circunstancias, los patrones claros y oscuros muy bien definidos desaparecen y son reemplazados por una iluminación más o menos uniforme de la pantalla. Este comportamiento es una consecuencia del carácter *incoherente* de las fuentes del filamento (muchas otras fuentes de radiación electromagnética también son incoherentes).

En el caso de las fuentes incoherentes, la luz es emitida por los átomos o las moléculas, y el haz resultante es la suma de incontables eventos individuales, cada uno de los cuales tiene una duración de 10^{-8} s. Por consiguiente, un haz de radiación de este tipo de fuente es discontinuo y está compuesto por una serie de *trenes de onda* que miden unos cuantos metros de longitud cuando mucho. Como los procesos que generan los trenes de onda son aleatorios, las diferencias de fase entre estos últimos tienen que ser también variables. Un tren de ondas desde la ranura *B* podría llegar a un punto en la pantalla en fase con un tren de ondas proveniente de *C* de modo que se produzca una interferencia constructiva. Un instante más tarde, los trenes podrían estar totalmente fuera de fase en el mismo punto, y ocurrir la interferencia destructiva. Entonces, la radiación de todos los puntos en la pantalla se rige por las variaciones aleatorias de fase entre los trenes de onda; el resultado es la iluminación uniforme, la cual representa un promedio de trenes.

Hay fuentes que producen radiación electromagnética en la forma de trenes con longitud infinita y frecuencia constante. Entre los ejemplos están los osciladores de radiofrecuencia, las fuentes de microondas y los rayos láser ópticos. Varias fuentes mecánicas, como un vibrador de dos terminales dentro de un tanque de ondas con agua es un análogo mecánico de la radiación coherente. Cuando se usan dos fuentes coherentes en lugar de la ranura *A* en el experimento que se muestra en la figura 6.8a, se observa un patrón de difracción.

Los patrones de difracción se pueden obtener de fuentes aleatorias, como los filamentos de tungsteno, siempre que se emplee un acomodo similar al que se observa en la figura 6.8a. Entonces, la angosta ranura *A* asegura que la radiación que llega a *B* y a *C* emane de la misma pequeña región de la fuente. En estas circunstancias, los diversos trenes de onda que salen de las ranuras *B* y *C* tienen un conjunto constante de frecuencias y relaciones de fase entre sí y son por tanto coherentes. Si la ranura en *A* se amplía de modo que se

tomen muestras de una parte más grande, el patrón de difracción se vuelve menos pronunciado porque los dos haces son sólo coherentes en parte. Si la ranura *A* se hace lo bastante amplia, la incoherencia se puede volver lo suficientemente grande para producir sólo iluminación constante en la pantalla.

6B.7 Transmisión de radiación

Las observaciones experimentales demuestran que la rapidez a la que se propaga la radiación a través de una sustancia transparente es menor que su velocidad en el vacío y depende de las clases y concentraciones de los átomos, iones o moléculas que haya en el medio. Se infiere de estas observaciones que la radiación tiene que interactuar de alguna manera con la materia. Sin embargo, como no se observa un cambio de frecuencia, la interacción *no puede* involucrar una transferencia permanente de energía.

El *índice de refracción* de un medio es una medida de su interacción con la radiación y se define como

$$n_i = \frac{c}{v_i} \quad (6.11)$$

donde n_i es el índice de refracción a una frecuencia especificada i , v_i es la velocidad de la radiación en el medio y c es su velocidad en el vacío. El índice de refracción de casi todos los líquidos está entre 1.3 y 1.8; para los sólidos es de 1.3 a 2.5 o más.⁴

La interacción involucrada en la transmisión se puede atribuir a la *polarización* periódica de las especies atómicas y moleculares que constituyen el medio. En este contexto, la polarización implica la deformación temporal de las nubes de electrones asociadas con átomos o moléculas a causa del campo electromagnético alternante de la radiación. Siempre que la radiación no sea absorbida, las especies retienen sólo en forma momentánea (10^{-14} a 10^{-15} s) la energía que se requiere para la polarización, y dicha energía se vuelve a emitir sin alteración cuando la sustancia regresa a su estado original. Puesto que no hay cambio de energía neto en este proceso, la frecuencia de la radiación emitida no se modifica, pero la velocidad de su propagación disminuye porque se requiere un tiempo para que ocurran la retención y la reemisión. Por consiguiente, la transmisión a través de un medio se puede considerar como un proceso por etapas en el que intervienen átomos polarizados, iones o moléculas como intermediarios.

La radiación de las partículas polarizadas debe ser emitida en todas direcciones en un medio. Sin embargo, si las partículas son pequeñas, se puede demostrar

⁴Para un análisis más completo sobre las mediciones del índice de refracción refiérase a T. M. Niemczyk, en *Physical Methods in Modern Clinical Analysis*, T. Kuwana, ed., vol. 2, pp. 337-400. Nueva York: Academic, 1980.

que la interferencia destructiva evita la propagación de cantidades importantes en cualquier dirección que no sea la de la trayectoria original de la luz. Por otro lado, si el medio contiene grandes partículas, como las moléculas de polímeros o partículas coloidales, la interferencia destructiva es incompleta y cada parte del rayo se dispersa en todas direcciones como consecuencia de la etapa de interacción. La dispersión se analiza en la sección 6B.10.

Puesto que la velocidad de la radiación depende de la longitud de onda y como c en la ecuación 6.11 es independiente de la longitud de onda, el índice de refracción de una sustancia también debe cambiar con la longitud de onda. La variación del índice de refracción en función de la longitud de onda o de la frecuencia se denomina *dispersión*. La dispersión de una sustancia representativa se muestra en la figura 6.9. Lo intrincado de la curva quiere decir que la relación es compleja, pero en general las gráficas de dispersión muestran dos tipos de regiones. En la región de *dispersión normal* hay un incremento gradual del índice de refracción acompañado del aumento de la frecuencia (o disminución de la longitud de onda). Las regiones de *dispersión anómala* son intervalos de frecuencia en los cuales ocurren cambios abruptos en el índice de refracción. La dispersión anómala siempre se presenta en frecuencias que corresponden a la frecuencia natural armónica asociada con alguna parte de una molécula, átomo o ion de la sustancia. En dicha frecuencia se presenta la transferencia permanente de energía desde la radiación a la sustancia, y se observa la *absorción* del haz. La absorción se trata en la sección 6C.5.

Las curvas de dispersión son importantes cuando se eligen materiales para las piezas ópticas de los instrumentos. Una sustancia que manifiesta dispersión normal en la región de longitud de onda que interesa

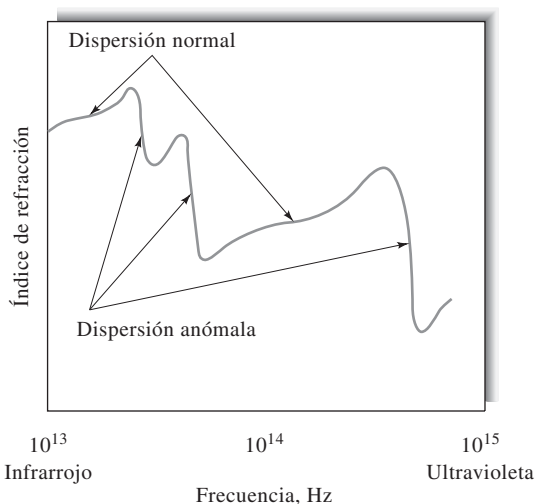


FIGURA 6.9 Curva de dispersión representativa.

conviene más para la manufactura de las lentes, para las cuales lo mejor es un índice de refracción relativamente constante. Las aberraciones cromáticas, es decir, la formación de imágenes de color, se reducen al mínimo si se eligen dichos materiales. En contraste, para manufacturar los prismas se escoge una sustancia con un índice de refracción que no es sólo grande sino que también tiene una gran dependencia de la frecuencia. La región de longitud de onda pertinente del prisma se aproxima por tanto a la región anómala de dispersión del material con el cual se fabricó.

6B.8 Refracción de la radiación

Cuando la radiación atraviesa con cierto ángulo la interfase entre dos medios transparentes de diferentes densidades, se observa un cambio abrupto de dirección, es decir, de *refracción*, del haz, como consecuencia de una diferencia en la velocidad de la radiación en los dos medios. Cuando el haz pasa de un medio menos denso a otro más denso, como en la figura 6.10, el cambio de dirección es hacia la normal de la interfase. El cambio de dirección se aleja de la normal cuando el haz pasa de un medio más denso a uno menos denso.

El grado de refracción sigue la ley de Snell:

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{v_2}{v_1} \quad (6.12)$$

Si M_1 en la figura 6.10 es el vacío, v_1 es igual a c , y n_1 es la unidad (véase la ecuación 6.11); al reacomodar términos la ecuación 6.12 se simplifica a

$$(n_2)_{\text{vac}} = \frac{(\sin \theta_1)_{\text{vac}}}{\sin \theta_2} \quad (6.13)$$

Los índices de refracción de la sustancia M_2 se pueden determinar mediante la medición de $(\theta_1)_{\text{vac}}$ y θ_2 . En general, por conveniencia, los índices de refracción se miden con el aire como referencia y no en el vacío, y

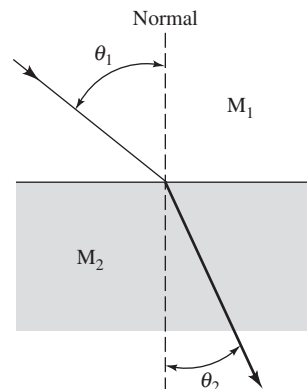


FIGURA 6.10 Refracción de la luz al pasar de un medio menos denso M_1 a uno más denso M_2 , donde su velocidad es más baja.

así se indica en los informes. Entonces, el índice de refracción es

$$(n_2)_{\text{aire}} = \frac{(\sin \theta_1)_{\text{aire}}}{\sin \theta_2} \quad (6.14)$$

La mayor parte de las compilaciones de índices de refracción proporciona los datos en términos de la ecuación 6.14. Dichos datos se convierten con facilidad a índices de refracción con el vacío como referencia multiplicándolos por el índice de refracción del aire respecto al vacío. Es decir,

$$n_{\text{vac}} = 1.00027n_{\text{aire}}$$

Esta conversión es necesaria muy rara vez.

6B.9 Reflexión de la radiación

Cuando la radiación cruza una interfase entre medios que difieren en el índice de refracción, también se presenta la reflexión. La fracción de radiación reflejada se vuelve mayor al incrementarse la diferencia en el índice de refracción. En el caso de un haz que atraviesa una interfase en ángulos rectos, la fracción reflejada está dada por

$$\frac{I_r}{I_0} = \frac{(n_2 - n_1)^2}{(n_2 + n_1)^2} \quad (6.15)$$

donde I_0 es la intensidad del haz incidente e I_r es la intensidad reflejada; n_1 y n_2 son los índices de refracción de los dos medios.

EJEMPLO 6.2

Calcule el porcentaje de la intensidad que se pierde debido a la reflexión de un haz perpendicular de luz amarilla cuando atraviesa un vaso de vidrio que contiene agua. Suponga que para la radiación amarilla, el índice de refracción del vidrio es de 1.50, el del agua es de 1.33 y el del aire es 1.00.

Solución

La pérdida total por reflexión será la suma de las pérdidas que hay en cada una de las interfases. En el caso de la primera interfase, aire-vidrio, es posible escribir

$$\frac{I_{r1}}{I_0} = \frac{(1.50 - 1.00)^2}{(1.50 + 1.00)^2} = 0.040$$

La intensidad del haz se reduce a $(I_0 - 0.040I_0) = 0.960I_0$. La pérdida por reflexión en la interfase vidrio-agua es entonces

$$\begin{aligned} \frac{I_{r2}}{0.960I_0} &= \frac{(1.50 - 1.33)^2}{(1.50 + 1.33)^2} = 0.0036 \\ I_{r2} &= 0.0035I_0 \end{aligned}$$

La intensidad del haz se reduce después a $(0.960I_0 - 0.0035I_0) = 0.957I_0$. En la interfase agua-vidrio se tiene

$$\begin{aligned} \frac{I_{r3}}{0.957I_0} &= \frac{(1.50 - 1.33)^2}{(1.50 + 1.33)^2} = 0.0036 \\ I_{r3} &= 0.0035I_0 \end{aligned}$$

y la intensidad del haz es de $0.953I_0$. Para finalizar, la reflexión en la segunda interfase vidrio-aire es

$$\begin{aligned} \frac{I_{r4}}{0.953I_0} &= \frac{(1.50 - 1.00)^2}{(1.50 + 1.00)^2} = 0.0400 \\ I_{r4} &= 0.038I_0 \end{aligned}$$

La pérdida total por reflexión I_{rt} es

$$\begin{aligned} I_{rt} &= 0.040I_0 + 0.0035I_0 + 0.0035I_0 + 0.038I_0 \\ &= 0.085I_0 \end{aligned}$$

o bien,

$$\frac{I_{rt}}{I_0} = 0.85 \quad \text{u} \quad 8.5\%$$

En capítulos posteriores se demostrará que las pérdidas que se muestran en el ejemplo 6.2 son muy importantes en varios instrumentos ópticos.

Las pérdidas por reflexión en un vidrio pulido o una superficie de cuarzo aumentan levemente cuando el ángulo del rayo incidente se incrementa hasta alrededor de 60° . Con ángulos mayores, el porcentaje de radiación que se refleja se incrementa con rapidez y se aproxima de 100% a 90° , o incidencia rasante.

6B.10 Difusión de la radiación

Como ya se mencionó la transmisión de la radiación en la materia se puede describir como una retención momentánea de la energía radiante de los átomos, iones o moléculas seguida por la reemisión de la radiación en todas las direcciones cuando las partículas vuelven a su estado original. En el caso de las partículas atómicas o moleculares que son pequeñas en relación con la longitud de onda de la radiación, la interferencia destructiva elimina la mayor parte de la radiación reemitida, excepto aquella que viaja en la dirección original del haz; al parecer, la trayectoria del haz no se modifica como consecuencia de la interacción. Sin embargo, la observación cuidadosa revela que una fracción muy pequeña de la radiación se transmite en todos los ángulos a partir de la trayectoria original y que la intensidad de esta *radiación difundida* aumenta de acuerdo con el tamaño de la partícula.

Difusión de Rayleigh

La difusión mediante moléculas o acumulaciones de ellas con dimensiones notablemente más pequeñas que la longitud de onda de la radiación se denomina *difusión de Rayleigh*. Su intensidad es proporcional al inverso de la cuarta potencia de la longitud de onda, a las dimensiones de las partículas de difusión y al cuadrado de la capacidad de las partículas para polarizarse. Una manifestación cotidiana de la difusión de Rayleigh es el color azul del cielo, el cual es resultado de la mayor difusión de las longitudes de onda más cortas del espectro visible.

Difusión de moléculas grandes

En el caso de partículas grandes, la difusión puede ser distinta en diferentes direcciones (difusión de Mie). Las mediciones de este tipo de radiación difusa se usan para determinar el tamaño y la forma de moléculas grandes y partículas coloidales (véase capítulo 34).

Difusión de Raman

El efecto de este tipo de difusión es diferente al de la difusión ordinaria en que parte de la radiación difundida sufre cambios de frecuencia cuantizados. Dichos cambios son resultado de transiciones en el nivel energético vibracional que ocurren en las moléculas como consecuencia del proceso de polarización. La espectroscopía Raman se trata en el capítulo 18.

6B.11 Polarización de la radiación

La radiación ordinaria está constituida por un haz de ondas electromagnéticas en las cuales las vibraciones están distribuidas de manera equitativa entre una gran cantidad de planos centrados a lo largo de la trayectoria del haz. Visto de frente, un haz de radiación monocromática se puede imaginar como un conjunto infinito de vectores eléctricos que fluctúan en longitud desde cero hasta una amplitud máxima A . En la figura 6.11b se ilustra una vista frontal de estos vectores en varios momentos durante el paso de una onda de radiación monocromática por un punto fijo en el espacio (figura 6.11a).

En la figura 6.12a se muestran unos pocos de los vectores que se ilustran en la figura 6.11b en el instante en que la onda está en su máximo. El vector en cualquier plano, por ejemplo el XY como se ilustra en la figura 6.12a, se puede resolver en dos componentes mutuamente perpendiculares AB y CD como se ve en la figura 6.12b. Si se combinan los dos componentes para todos los planos que se muestran en la figura 6.12a, la resultante se parece a la que se muestra en la figura

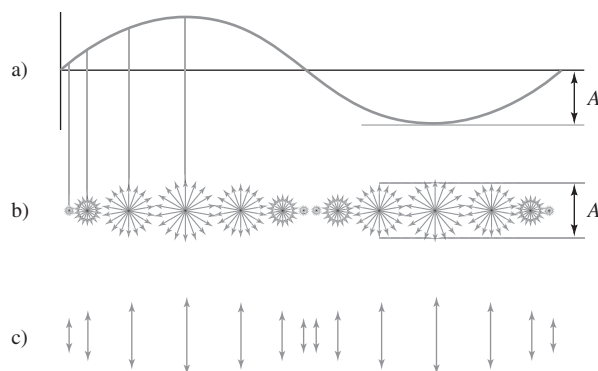


FIGURA 6.11 Radiación no polarizada y polarizada en un plano: a) vista transversal de un haz de radiación monocromática, b) sucesivas vistas frontales de la radiación en a) si no está polarizada, c) vistas frontales sucesivas de la radiación en a) si está polarizada en un plano sobre el eje vertical.

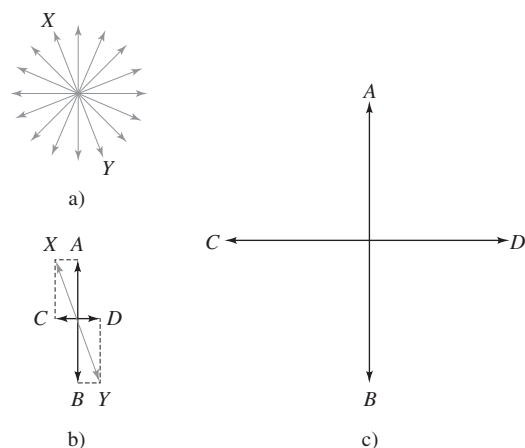


FIGURA 6.12 a) Unos cuantos vectores eléctricos de un haz que se desplaza en forma perpendicular a la página. b) Resolución de un vector en un plano XY en dos componentes mutuamente perpendiculares. c) La resultante cuando todos los vectores se descomponen (no está a escala).

6.12c. Si se elimina uno de los dos planos de vibración resultantes de la figura 6.12c se genera un haz que está *polarizado en el plano*. El vector eléctrico resultante de un haz polarizado en el plano ocupa entonces un solo plano. En la figura 6.11c se ilustra una vista frontal de un haz de radiación polarizada en un plano después de diferentes tiempos.

Ciertas fuentes de energía radiante producen radiación electromagnética polarizada en un plano. Por ejemplo, tanto las ondas de radio que parten de una antena como las microondas producidas por un tubo *klystron* están polarizadas en un plano. La radiación

visible y la ultravioleta provenientes de la relajación de un solo átomo o molécula excitado también está polarizada, pero el haz de tal fuente no tiene polarización neta, ya que está formada por una multitud de trenes de ondas individuales producidos por una gran cantidad de fenómenos atómicos o moleculares individuales. El plano de polarización de estas ondas individuales es aleatorio, de modo que sus polarizaciones individuales se anulan.

La radiación polarizada ultravioleta y la visible se producen por el paso de radiación a través de medios que absorben, reflejan o refractan de manera selectiva radiación que vibra sólo en un plano.

6C PROPIEDADES MECÁNICO-CUÁNTICAS DE LA RADIACIÓN

Cuando la radiación electromagnética es emitida o absorbida, se establece una transferencia permanente de energía desde el objeto emisor o hacia el medio absorbente. Para poder explicar estos fenómenos se requiere tratar la radiación electromagnética no como un conjunto de ondas, sino como una corriente o flujo de partículas discretas llamadas *fotones* o *cuantos*. La necesidad de un modelo de partículas para la radiación se hizo evidente como consecuencia del descubrimiento del efecto fotoeléctrico a finales del siglo XIX.

6C.1 Efecto fotoeléctrico

Heinrich Hertz observó por primera vez el efecto fotoeléctrico en 1887, e hizo saber que era más fácil hacer saltar una chispa entre dos esferas cargadas cuando su superficie estaba iluminada. Entre el momento de esta observación y la explicación teórica del efecto fotoeléctrico que dio Einstein en 1905, se llevaron a cabo varios estudios importantes de tal efecto con lo que ahora se conoce como fototubo de vacío. La explicación que dio Einstein sobre el efecto fotoeléctrico fue a la vez sencilla e ingeniosa, pero sólo después de mucho tiempo, en 1916, se le aceptó de manera generalizada. En ese año, los estudios sistemáticos de Millikan confirmaron los detalles de las conclusiones teóricas de Einstein.

En la figura 6.13 se ilustra un esquema del circuito del fototubo de vacío similar al que usó Millikan para estudiar el efecto fotoeléctrico. Por lo regular, la superficie del *fotocátodo* grande a la izquierda está cubierta con un metal alcalino o uno de sus compuestos, pero también se pueden usar otros metales. Cuando la radiación monocromática choca con el fotocátodo, su superficie emite electrones con ciertos valores de ener-

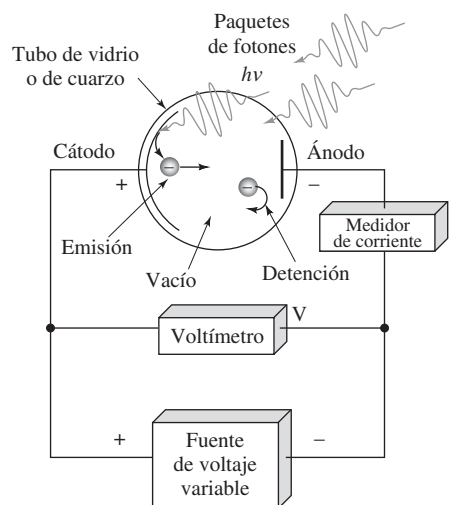


FIGURA 6.13 Aparato para estudiar el efecto fotoeléctrico. Los fotones entran en el fototubo, chocan con el cátodo y expulsan electrones. Los fotoelectrones son atraídos por el ánodo cuando es positivo con respecto al cátodo. Cuando el ánodo es negativo, como se ilustra, los electrones son “detenidos” y no pasa ninguna corriente. El voltaje negativo entre el ánodo y el cátodo cuando la corriente es cero, se llama potencial de detención.

gía cinética. Siempre y cuando el voltaje V aplicado entre el ánodo y el cátodo sea positivo, los electrones se mueven de izquierda a derecha por el fototubo para generar una corriente I en el circuito. Cuando el voltaje que pasa por el fototubo se ajusta de tal modo que el ánodo es ligeramente negativo respecto al cátodo, el ánodo repele a los fotoelectrones, y la corriente fotoeléctrica disminuye, como era de esperarse. Sin embargo, en este punto del experimento, algunos de los electrones poseen suficiente energía cinética para vencer el potencial negativo aplicado al ánodo, y todavía se observa una corriente.

Este experimento se podría repetir con fototubos en los que el fotocátodo esté cubierto con diferentes materiales. En cada experimento, la corriente fotoeléctrica se mide en función del voltaje aplicado y se registra el voltaje V_0 al cual la corriente fotoeléctrica es precisamente cero. El voltaje negativo al cual la corriente fotoeléctrica es cero se llama *voltaje de detención*. Corresponde al potencial al cual los electrones más energéticos procedentes del cátodo son repelidos por el ánodo. Si se multiplica el voltaje de detención por la carga del electrón, $e = 1.60 \times 10^{-19}$ se tiene una me-



Asesorías interactivas: aprenda más acerca del **efecto fotoeléctrico**.

dida de la energía cinética en joules de los electrones emitidos *más energéticos*. Cuando este experimento se repite a varias frecuencias de luz monocromática, se obtienen los siguientes resultados:

1. Cuando se enfoca una luz a frecuencia constante en el ánodo a un bajo potencial negativo aplicado, la corriente fotoeléctrica es directamente proporcional a la intensidad de la radiación incidente.
2. La magnitud del voltaje de detención depende de la frecuencia de la radiación que choca con el fotocátodo.
3. El voltaje de detención depende de la composición química del revestimiento del fotocátodo.

4. El voltaje de detención es *independiente de la intensidad de la radiación incidente*.

Estas observaciones hacen pensar que la radiación electromagnética es una forma de energía que libera electrones de superficies metálicas y les imparte suficiente energía cinética para hacer que se desplacen a un electrodo con carga negativa. Además, la cantidad de fotoelectrones liberados es proporcional a la intensidad del haz incidente.

Los resultados de estos experimentos se muestran en las gráficas de la figura 6.14, en las cuales la energía cinética máxima, o energía de detención, $KE_m = eV_0$ de los fotoelectrones se grafica contra la frecuencia

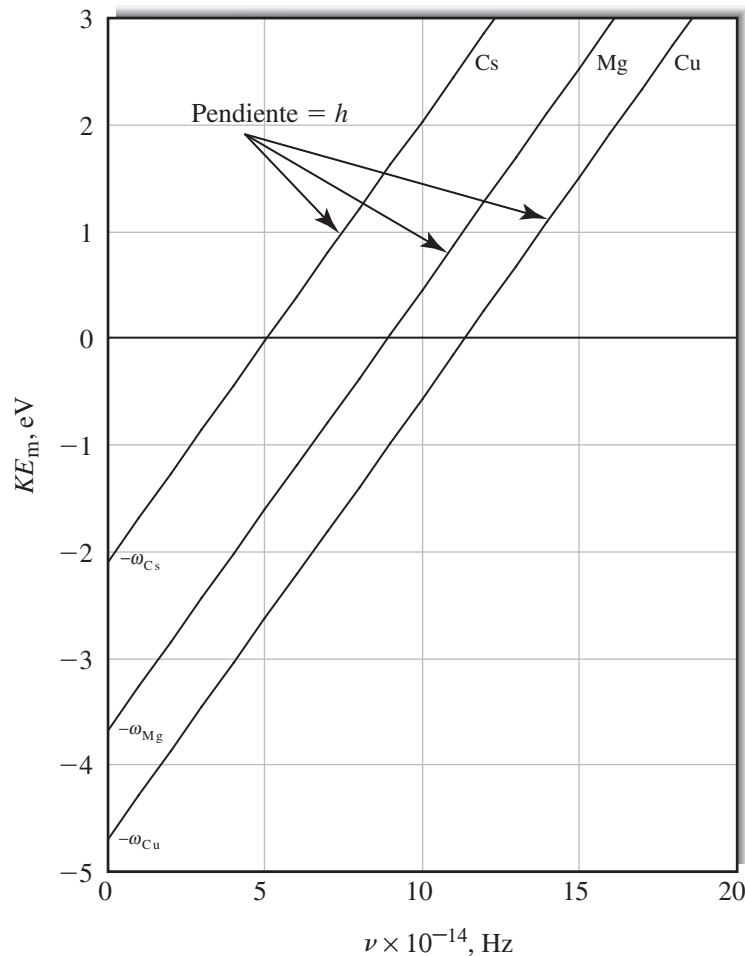


FIGURA 6.14 Energía cinética máxima de fotoelectrones emitidos desde tres superficies metálicas en función de la frecuencia de la radiación. Las intersecciones con el eje de las y u ordenadas al origen ($-\phi$) son las funciones trabajo para cada metal. Si los fotones incidentes no poseen energía de al menos $h\nu = \phi$, el fotocátodo no emite ningún fotoelectrón.

para superficies de magnesio, cesio y cobre del fotocátodo. Con otras superficies se obtienen gráficas con pendientes idénticas, h , pero diferentes ordenadas al origen, ω . Las gráficas que se muestran en la figura 6.14 se expresan mediante la ecuación

$$KE_m = h\nu - \omega \quad (6.16)$$

En esta ecuación, la pendiente h es la constante de Planck, la cual es igual a 6.6254×10^{-34} joule segundo, y la ordenada al origen $-\omega$ es la *función trabajo*, una constante que es característica del material de la superficie y representa la mínima energía de enlace del electrón en el metal. Alrededor de una década antes del trabajo de Millikan que dio origen a la ecuación 6.16, Einstein había propuesto la relación entre la frecuencia ν de la luz y la energía E como lo expresa la ahora famosa ecuación

$$E = h\nu \quad (6.17)$$

Al sustituir esta ecuación en la ecuación 6.16 y reacomodar los términos se obtiene

$$E = h\nu = KE_m + \omega \quad (6.18)$$

Con esta ecuación se expresa que la energía de un fotón que entra es igual a la energía cinética del fotoelectrón expelido más la energía necesaria para expulsar al fotoelectrón de la superficie que está siendo irradiada.

El efecto fotoeléctrico no se puede explicar mediante un modelo clásico ondulatorio, sino que requiere un modelo cuántico, en el que la radiación se vea como una corriente de paquetes discretos de energía, o fotones, como se ilustra en la figura 6.13. Por ejemplo, los cálculos indican que ningún electrón individual podría adquirir energía suficiente para ser expulsado si la radiación que incide sobre la superficie estuviera uniformemente distribuida en la cara del electrodo como sucede en el modelo ondulatorio; tampoco podría acumular energía con la rapidez suficiente para establecer las corrientes casi instantáneas que se observan. Por consiguiente, es necesario suponer que la energía no está uniformemente distribuida en el frente del haz, sino que más bien se concentra en paquetes de energía.

La ecuación 6.18 se puede replantear en términos de la longitud de onda sustituyendo en la ecuación 6.12, es decir,

$$E = h\frac{c}{\lambda} = KE_m + \omega \quad (6.19)$$

Observe que aunque la energía del fotón es directamente proporcional a la frecuencia, es una función recíproca de la longitud de onda.

EJEMPLO 6.3

Calcule la energía de a) un fotón de rayos X de 5.3 angstroms y b) un fotón de radiación visible de 530 nm.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Solución

$$\begin{aligned} \text{a) } E &= \frac{(6.63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}) \times (3.00 \times 10^8 \text{ m/s})}{5.30 \text{ \AA} \times (10^{-10} \text{ m/\AA})} \\ &= 3.75 \times 10^{-16} \text{ J} \end{aligned}$$

La energía de radiación en la región de los rayos X se expresa de ordinario en electronvolts, la energía que adquiere un electrón que ha sido acelerado mediante el potencial de un volt. En la tabla de conversión ubicada al final del libro se ve que $1 \text{ J} = 6.24 \times 10^{18} \text{ eV}$.

$$\begin{aligned} E &= 3.75 \times 10^{-16} \text{ J} \times (6.24 \times 10^{18} \text{ eV/J}) \\ &= 2.34 \times 10^3 \text{ eV} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b) } E &= \frac{(6.63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}) \times (3.00 \times 10^8 \text{ m/s})}{530 \text{ nm} \times (10^{-9} \text{ m/nm})} \\ &= 3.75 \times 10^{-19} \text{ J} \end{aligned}$$

A menudo, la energía de la radiación en la región visible se expresa en kJ/mol y no en kJ/fotón para ayudar en el estudio de las relaciones entre la energía de los fotones absorbidos y la energía de los enlaces químicos.

$$\begin{aligned} E &= 3.75 \times 10^{-19} \frac{\text{J}}{\text{fotón}} \\ &\times \frac{(6.02 \times 10^{23} \text{ fotones})}{\text{mol}} \times 10^{-3} \frac{\text{kJ}}{\text{J}} \\ &= 226 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

6C.2 Estados energéticos de las especies químicas

Fue Max Planck, un físico alemán, quien planteó primero la teoría cuántica para explicar las propiedades de la radiación que emiten los cuerpos calientes. La teoría se extendió después para englobar otros tipos de procesos de emisión y absorción. Dos de los postulados más importantes de la teoría cuántica son:

1. Los átomos, iones y moléculas tienen la capacidad de existir sólo en ciertos estados discretos caracterizados por cantidades definidas de energía. Cuando

una especie cambia su estado, absorbe o emite una cantidad de energía *exactamente* igual a la diferencia de energía entre los estados.

2. Cuando átomos, iones o moléculas absorben o emiten radiación al transitar de un estado energético a otro, la frecuencia ν o la longitud de onda λ de la radiación se relaciona con la diferencia de energía entre los estados mediante la ecuación

$$E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (6.20)$$

donde E_1 es la energía del estado más alto y E_0 es la energía del estado más bajo. Los términos c y h son la velocidad de la luz y la constante de Planck, respectivamente.

En el caso de átomos o iones en estado elemental, la energía de cualquier estado surge por el movimiento de los electrones alrededor de un núcleo con carga positiva. Como consecuencia, los diversos estados de energía se llaman *estados electrónicos*. Además de tener estados electrónicos, las moléculas también poseen *estados vibracionales* que están vinculados con la energía de las vibraciones interatómicas y los *estados rotacionales* cuantizados que surgen de la rotación de las moléculas alrededor de sus centros de masa.

El estado de energía más bajo de un átomo o molécula es el *estado basal* o *fundamental*. Los estados energéticos superiores se llaman *estados excitados*. En general, a temperatura ambiente, las especies químicas están en su estado basal.

6C.3 Interacciones de la radiación y la materia

Quienes se dedican a la espectroscopía utilizan las interacciones de la radiación con la materia para obtener información sobre una muestra. Varios de los elementos químicos se descubrieron mediante espectroscopía. La muestra se estimula aplicándole energía en la forma de calor, energía eléctrica, luz, partículas o reacciones químicas. Antes de aplicar el estímulo, el analito está predominantemente en su estado energético más bajo, es decir, en el *estado basal*. Entonces, el estímulo hace que algunas de las especies del analito transiten hacia un estado energético superior o *estado excitado*. Se adquiere información relacionada con el analito al medir la radiación electromagnética emitida cuando regresa a su estado basal o al medir la cantidad de radiación electromagnética absorbida o difundida como resultado de la excitación.

En la figura 6.15 se ilustran los procesos que se presentan en la espectroscopía de emisión y en la espec-

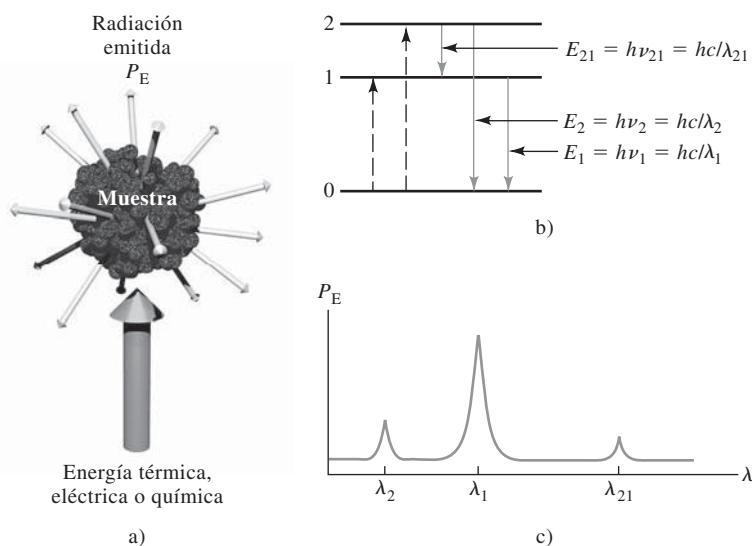


FIGURA 6.15 Procesos de emisión y de quimioluminiscencia. En a) la muestra es excitada mediante la aplicación de energía térmica, eléctrica o química. En estos procesos no hay energía radiante y, por tanto, se llaman procesos no radiantes. En el diagrama de nivel de energía b), las líneas discontinuas con flechas hacia arriba simbolizan estos procesos de excitación no radiantes, y las líneas continuas con flechas que señalan hacia abajo quieren decir que el analito pierde su energía al emitir un fotón. En c), el espectro resultante se muestra como una medición de la energía radiante emitida P_E en función de la longitud de onda, λ .

troscopía de quimioluminiscencia. En estos casos, el analito es estimulado con calor, energía eléctrica o mediante una reacción química. Por lo regular, la *espectroscopía de emisión* requiere métodos en los cuales el estímulo es calor o energía eléctrica, y la *espectroscopía de quimioluminiscencia* se refiere a la excitación del analito mediante una reacción química. En ambos casos, la medición de energía radiante emitida cuando el analito regresa al estado fundamental proporciona información respecto a su identidad y concentración. El resultado de dichas mediciones se expresa con frecuencia en forma gráfica mediante un *espectro*, el cual es una gráfica de la radiación emitida en función de la frecuencia o de la longitud de onda.

Cuando la muestra se estimula mediante la aplicación de una fuente de radiación electromagnética

externa, son posibles varios procesos. Por ejemplo, la radiación se puede reflejar (sección 6B.9), difundir (sección 6B.10) o absorber (sección 6C.5). Cuando se absorbe una parte de la radiación incidente, se favorece que algunas de las especies del analito pasen a un estado excitado, como se muestra en la figura 6.16. En la *espectroscopía de absorción* se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda. Esto proporciona información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de la muestra. En el caso de la *espectroscopía de fotoluminiscencia* (figura 6.17), la emisión de fotones se mide después de la absorción. Las formas más importantes de fotoluminiscencia para fines analíticos son la *fluorescencia* y la *espectroscopía de fosforescencia*.

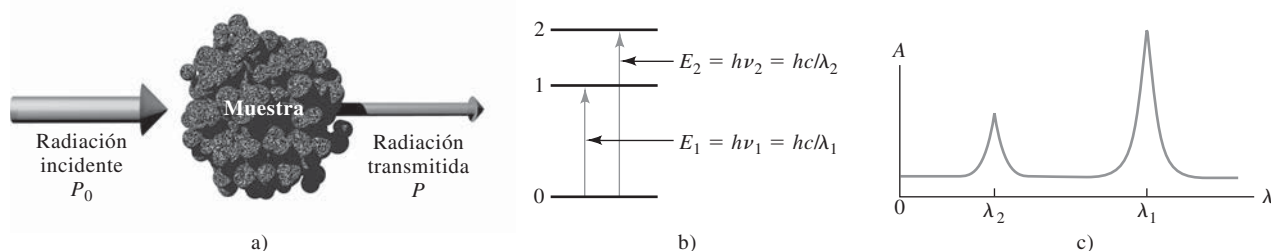


FIGURA 6.16 Métodos de absorción. La radiación de la energía radiante incidente P_0 puede ser absorbida por el analito, lo que resulta en la transmisión de un haz de potencia radiante baja P . Para que haya absorción, la energía del haz incidente tiene que corresponder a una de las diferencias de energía que se muestran en b). El espectro de absorción resultante se muestra en c).

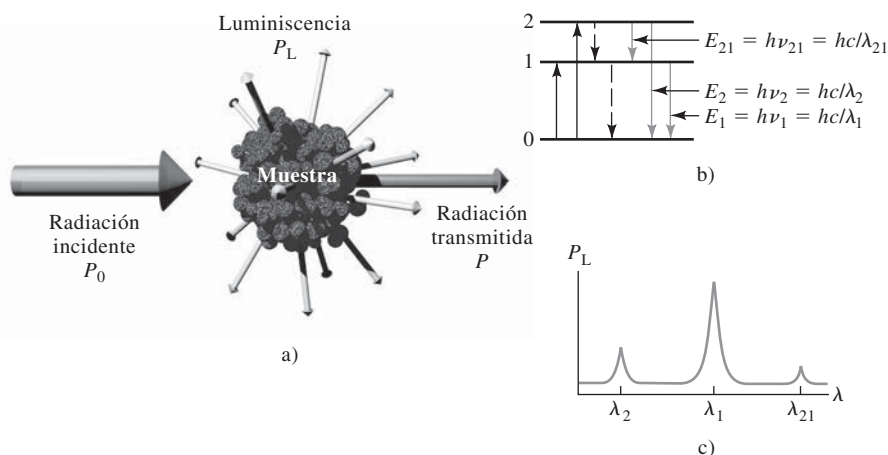


FIGURA 6.17 Métodos de fotoluminiscencia (fluorescencia y fosforescencia). Ambos son el resultado de la absorción de la radiación electromagnética y la disipación posterior de la emisión energética de radiación a). En b), la absorción causa la excitación del analito para que pase del estado 1 al estado 2. Una vez excitado, el exceso de energía se pierde por emisión de un fotón (luminiscencia, representada con la línea continua) o mediante procesos no radiantes (líneas discontinuas). La emisión ocurre en todos los ángulos, y las longitudes de onda emitidas c) corresponden a las diferencias de energía entre niveles. La principal distinción entre fluorescencia y fosforescencia es la escala de tiempo de la emisión, es decir, la fluorescencia es expedita y la fosforescencia se retrasa.

Cuando la radiación se difunde, la interacción entre la radiación entrante y la muestra puede ser elástica o inelástica. En el caso de la difusión elástica, la longitud de onda de la radiación difundida es igual que la de la fuente de radiación. La intensidad de la radiación difundida elásticamente se utiliza para realizar mediciones en la *nefelometría* y en la *turbidimetría*, y en la determinación de las dimensiones de partículas. La *espectroscopía Raman*, la cual se menciona brevemente en la sección 6B.10 y se trata con detalle en el capítulo 18, aprovecha la difusión inelástica para producir un espectro vibracional de moléculas de muestra, como se ilustra en la figura 6.18. En este tipo de análisis espectroscópico, la intensidad de la radiación difundida se registra en función del desplazamiento o corrimiento de la frecuencia de la radiación incidente. La intensidad de los picos Raman se relaciona con la concentración del analito.



Simulación: aprenda más acerca de la **interacción de la radiación con la materia**.

6C.4 Emisión de radiación

La radiación electromagnética se produce cuando partículas excitadas — átomos, iones o moléculas — se relajan y pasan a niveles de energía inferiores cediendo el exceso de energía en forma de fotones. La excitación puede ser originada por varios medios, como 1) bombardeo con electrones u otras partículas elementales, las cuales causan la emisión de radiaciones X; 2) exposición a una corriente eléctrica, a una chispa ca o a una fuente intensa de calor (llama, arco cd u horno), lo que produce radiación ultravioleta, visible o infrarroja; 3) irradiación con un haz de radiación electromagnética, la cual genera radiación fluorescente, y 4) reacción química exotérmica que produce quimio-luminiscencia.

La radiación desde una fuente excitada se caracteriza en forma aceptable mediante un *espectro de emisión*, el cual toma la forma de una gráfica de la potencia relativa de la radiación emitida en función de la longitud de onda o la frecuencia. En la figura 6.19 se ilustra un espectro de emisión representativo que se obtuvo al

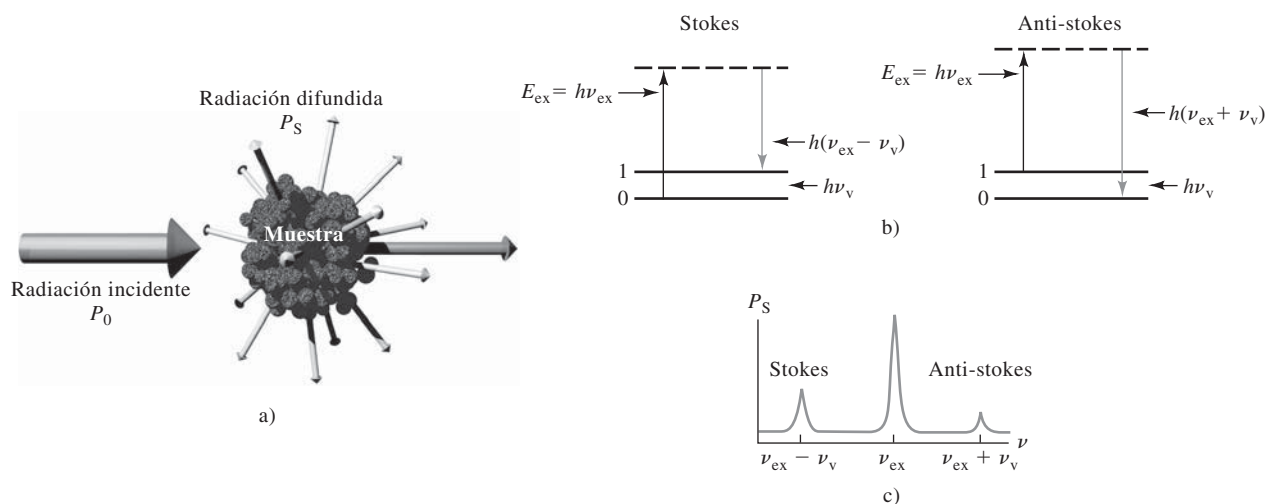


FIGURA 6.18 Difusión inelástica en la espectroscopía Raman. a) Cuando la radiación incidente de frecuencia ν_{ex} choca con la muestra, las moléculas excitadas de ésta pasan de uno de sus estados vibracionales fundamentales a uno superior llamado *estado virtual*, que se representa con el nivel discontinuo en b). Cuando la molécula se relaja, a veces regresa al primer estado vibracional, como se señala, y emite un fotón de energía $E = h(\nu_{ex} - \nu_v)$ donde ν_v es la frecuencia de la transición vibracional. Otra posibilidad es que si la molécula está en el primer estado excitado vibracional, podría absorber un cuanto de la radiación incidente, ser excitada al estado virtual y volverse a relajar hasta el estado vibracional fundamental. Este proceso hace que se emita un fotón de energía $E = h(\nu_{ex} + \nu_v)$. En ambos casos, la radiación emitida y la radiación incidente difieren en la frecuencia vibracional de la molécula ν_v . c) El espectro resultante de la radiación difundida en forma inelástica muestra tres picos, a saber, uno en $\nu_{ex} - \nu_v$ (Stokes), un segundo pico intenso en ν_{ex} para la radiación difundida sin cambio de frecuencia y un tercero (anti-stokes) en $\nu_{ex} + \nu_v$. Las intensidades de los picos Stokes y antiStokes dan información cuantitativa, y la posición de los picos proporciona datos cualitativos respecto a la molécula de la muestra.

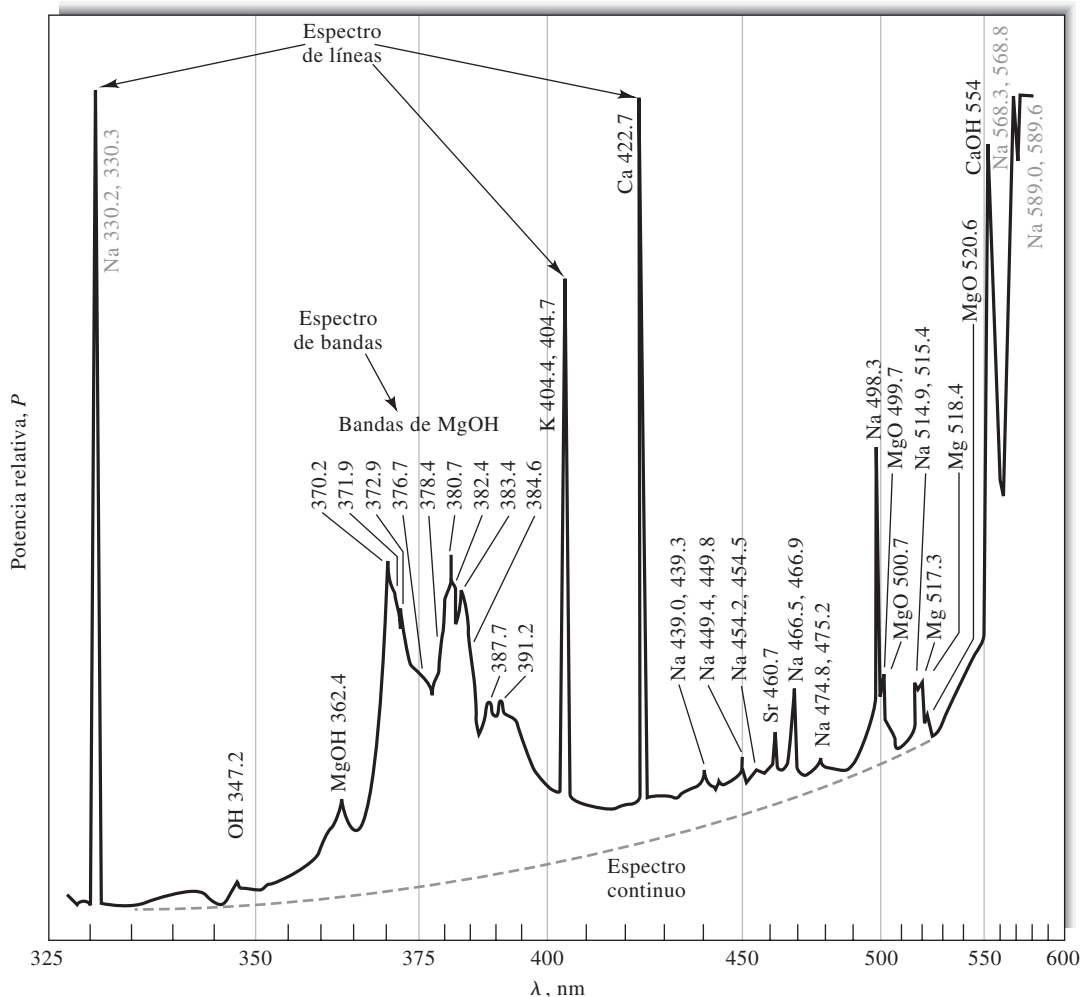


FIGURA 6.19 Espectro de emisión de una muestra de salmuera obtenido con una llama de oxígeno-hidrógeno. El espectro consiste del traslape de los espectros de líneas, de bandas y continuo de los constituyentes de la muestra. Las longitudes de onda características de las especies que contribuyen al espectro se enlistan al lado de cada rasgo. (R. Hermann y C. T. J. Alkemade, *Chemical Analysis by Flame Photometry*, 2ª ed., p. 484. Nueva York: Interscience, 1979.)

aspirar una solución de salmuera en una llama de oxígeno-hidrógeno. En la figura se ven tres tipos de espectros: de *líneas*, de *bandas* y *continuo*. El espectro de línea se forma con una serie de picos claros y bien definidos ocasionados por la excitación de átomos individuales. El espectro de bandas está constituido por varios grupos de líneas tan estrechamente cercanas que no están definidas con claridad. La fuente de las bandas consiste en pequeñas moléculas o radicales. Para finalizar, la parte continua del espectro es la causa del incremento en el fondo que es evidente por arriba de 350 nm. Los espectros de líneas y de bandas es-

tán superpuestos en esta parte continua. La fuente de la parte continua se explica más adelante.

La figura 6.20 es un espectro de emisión de rayos X producido al bombardear una pieza de molibdeno con una corriente energética de electrones. Observe el espectro de líneas superpuesto en el continuo. El origen del continuo se explica en la sección 12A.1.

Espectros de líneas

Estos espectros en las regiones ultravioleta y visible son producidos cuando las especies radiantes son partículas atómicas individuales que están muy bien se-

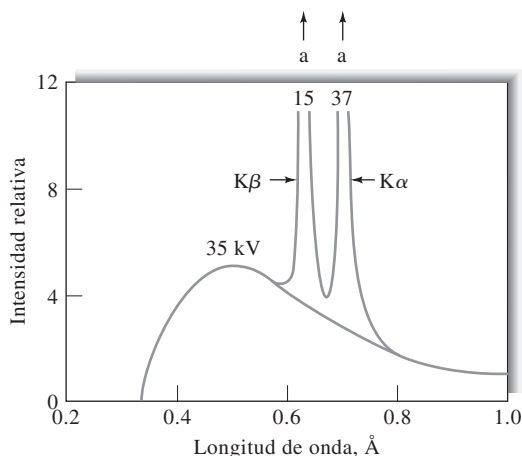


FIGURA 6.20 Espectro de emisión de rayos X del metal molibdeno.

paradas en la fase gaseosa. Las partículas individuales en un gas tienen comportamiento independiente, y el espectro consta de una serie de líneas muy bien definidas con anchuras de casi 10^{-5} nm (10^{-4} angstroms). En la figura 6.19, se pueden identificar las líneas de sodio, potasio y calcio en fase gaseosa.

El diagrama de niveles de energía de la figura 6.21 indica el origen de dos de las líneas en un espectro de emisión representativo de un elemento. La línea horizontal marcada con E_0 corresponde a la energía más baja, es decir, al estado energético fundamental del átomo. Las líneas horizontales E_1 y E_2 son dos niveles electrónicos de energía más alta de las especies. Por ejemplo, el único electrón externo en el estado fun-

damental E_0 para el caso de un átomo de sodio se localiza en el orbital 3s. Entonces, el nivel energético E_1 representa la energía del átomo cuando este electrón ha sido promovido al estado 3p mediante la absorción de energía térmica, eléctrica o radiante. La promoción se representa mediante la flecha ondulada más corta a la izquierda de la figura 6.21a. Después de tal vez 10^{-8} s, el átomo regresa a su estado fundamental emitiendo un fotón, cuya frecuencia y longitud de onda se obtienen por medio de la ecuación 6.20.

$$\nu_1 = (E_1 - E_0)/h$$

$$\lambda_1 = hc/(E_1 - E_0)$$

Este proceso de emisión se ilustra mediante la flecha azul más corta a la derecha de la figura 6.21a.

En el caso del átomo de sodio, E_2 en la figura 6.21 corresponde al estado más energético 4p; la radiación resultante emitida λ_2 es de longitud de onda más corta o de una frecuencia más alta. La línea de casi 330 nm de la figura 6.19 es el resultado de esta transición; la transición 3p a 3s genera una línea de casi 590 nm.

Los espectros de línea de rayos X también son producidos por transiciones electrónicas. En este caso, los electrones afectados son los de los orbitales más internos. Por consiguiente, al contrario de lo que sucede en las emisiones ultravioleta y visible, el espectro de rayos X de un elemento es independiente de su entorno. Por ejemplo, el espectro de emisión del molibdeno es el mismo sin importar que la muestra que está siendo excitada sea molibdeno metálico, sulfuro de molibdeno sólido, hexafluoruro de molibdeno gaseoso o una disolución acuosa de un complejo aniónico del metal.

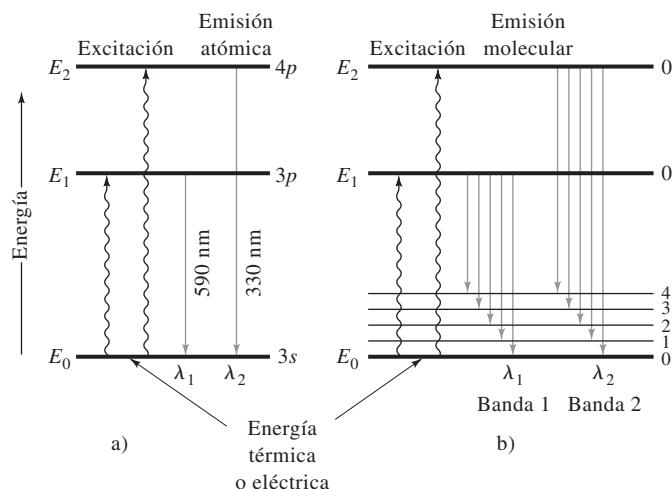


FIGURA 6.21 Diagramas del nivel de energía para a) un átomo de sodio que muestra el origen de un espectro de líneas y b) una sola molécula que muestra el origen de un espectro de bandas.

Espectros de bandas

Se observan con frecuencia en fuentes espectrales cuando están presentes radicales gaseosos o moléculas pequeñas. Por ejemplo, en la figura 6.19 están señaladas las bandas de OH, MgOH y MgO que están constituidas de líneas muy cercanas y que el instrumento usado para obtener el espectro no distingue del todo. Las bandas son el resultado de numerosos niveles vibracionales cuantizados que se superponen en el nivel energético del estado fundamental de una molécula.

En la figura 6.21b se ilustra un diagrama parcial de niveles energéticos de una molécula que manifiesta su estado fundamental E_0 y dos de sus estados electrónicos excitados, E_1 y E_2 . También se muestran algunos de los varios niveles vibracionales asociados con el estado fundamental. Los niveles vibracionales de los dos estados excitados se omiten porque el tiempo de vida de un estado vibracional excitado es breve en comparación con el de un estado excitado electrónicamente (casi 10^{-15} s contra 10^{-8} s). Una consecuencia de esta gran diferencia en los tiempos de vida es que cuando un electrón es excitado para pasar a uno de los niveles vibracionales superiores, la relajación al nivel vibracional más bajo de ese estado ocurre antes de que haya una transición electrónica al estado basal. Por tanto, la radiación que produce la excitación térmica o eléctrica de especies poliatómicas casi siempre es el resultado de una transición desde *el nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado* a cualquiera de los diversos niveles vibracionales del estado fundamental.

El mecanismo mediante el cual una especie excitada vibracionalmente se relaja y pasa al estado electrónico más cercano requiere una transferencia de su exceso de energía a otros átomos del sistema mediante una serie de choques. Como ya se dijo, este proceso sucede a una enorme velocidad. La relajación desde un estado electrónico a otro puede ocurrir también mediante la transferencia de energía por choque, pero el ritmo del proceso es lento, de manera que se favorece la relajación mediante la liberación de fotones.

El diagrama de niveles energéticos de la figura 6.21b ilustra el mecanismo mediante el cual dos bandas de radiación que constan de cinco líneas muy cercanas entre sí son emitidas por una molécula excitada por energía térmica o eléctrica. En el caso de una molécula real, la cantidad de líneas individuales es mucho más grande porque además de los numerosos estados vibracionales se podría superponer una gran variedad de estados rotacionales a cada uno. Las diferencias de energía entre los niveles rotacionales tal vez sea de un orden de magnitud más pequeño que el de los estados vibracionales. Por consiguiente, una banda molecular real estaría formada por muchas líneas más que las que se muestran en la figura 6.21b, y estas líneas estarían mucho más cercanas.

Espectros continuos

Como se puede ver en la figura 6.22, la radiación verdaderamente continua se produce cuando los sólidos se calientan hasta la incandescencia. La radiación térmica de esta clase, llamada *radiación de cuerpo negro*, es característica de la temperatura de la superficie emisora y no del material del que está hecha la superficie. La radiación del cuerpo negro es producto de las innumerables oscilaciones atómicas y moleculares excitadas en el sólido condensado por la energía térmica. Observe que los picos de energía de la figura 6.22 se desplazan a longitudes de onda más cortas cuando aumenta la temperatura. Es evidente que se requieren temperaturas muy altas para tener una fuente excitada térmicamente que emita una fracción sustancial de su energía en la forma de radiación ultravioleta.

Como ya se mencionó, parte de la radiación continua de fondo que se muestra en el espectro de llama que se muestra en la figura 6.19 es quizá emisión térmica de partículas incandescentes en la llama. Note que este fondo disminuye con rapidez cuando se alcanza la región ultravioleta.

Los sólidos calientes son fuentes importantes de radiación infrarroja, visible y ultravioleta con longitudes de onda más largas que pueden detectar los instrumentos analíticos.

6C.5 Absorción de la radiación

Cuando la radiación atraviesa una capa de un sólido, líquido o gas, es posible eliminar en forma selectiva ciertas frecuencias mediante *absorción*, un proceso en el cual la energía electromagnética se transfiere a los átomos, iones o moléculas que forman la muestra. La absorción impulsa a estas partículas desde su estado normal a temperatura ambiente, o estado fundamental, a uno o más estados excitados de energía superior.

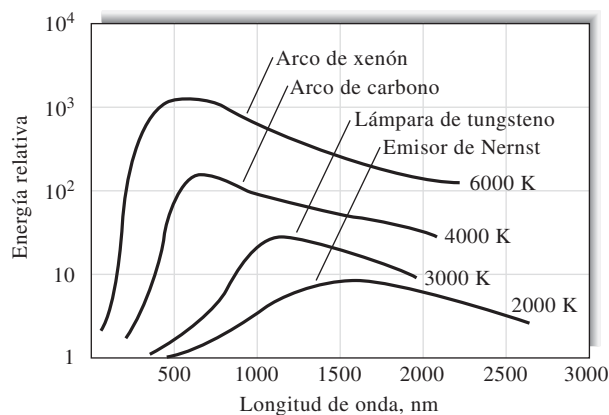


FIGURA 6.22 Curvas de radiación de un cuerpo negro.

De acuerdo con la teoría cuántica, los átomos, moléculas e iones tienen sólo una cantidad limitada de niveles energéticos discretos. Para que haya absorción de radiación, la energía del fotón excitador debe corresponder *exactamente* con la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de la especie absorbente. Como estas diferencias de energía son únicas para cada especie, el estudio de las frecuencias de radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar los constituyentes de una muestra de materia. Con este objetivo, se determina en forma experimental una gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda o de la frecuencia (la *absorbancia* es una medida de la disminución de la potencia radiante, se define mediante la ecuación 6.32 de la sección 6D.2). Algunos espectros de absorción característicos se proporcionan en la figura 6.23.

Las cuatro gráficas de la figura 6.23 revelan que los espectros de absorción varían ampliamente en apariencia. Algunos contienen numerosos picos muy bien definidos, pero otros están constituidos por curvas continuas suaves. En general, la naturaleza del espectro se ve influenciada por variables como la complejidad, el estado físico y el entorno de la especie absorbente. Sin embargo, son más fundamentales las diferencias entre

los espectros de absorción de los átomos y los de las moléculas.

Absorción atómica

El paso de radiación policromática ultravioleta o visible a través de un medio que consta de partículas monoatómicas, como mercurio o sodio gaseosos, origina la absorción de sólo unas frecuencias muy bien determinadas (véase la figura 6.23a). La sencillez relativa de dichos espectros se debe a la pequeña cantidad de posibles estados de energía de las partículas absorbentes. La excitación ocurre sólo mediante un proceso electrónico en el cual uno o más de los electrones del átomo son llevados a un nivel superior de energía. Por ejemplo, el vapor de sodio manifiesta dos picos de absorción, nítidos y muy cercanos en la región amarilla del espectro visible (589.0 y 589.6 nm) como un resultado de la excitación del electrón $3s$ a dos estados $3p$ que difieren sólo un poco en cuanto a energía. También se observan varias otras líneas angostas de absorción que corresponden a otras transiciones electrónicas permitidas. Por ejemplo, un pico ultravioleta de casi 285 nm es resultado de la excitación del electrón $3s$ en el sodio al pasar al estado excitado $5p$ un proceso que requiere más energía que la excitación al estado $3p$ (de hecho, el pico de 285 nm es el doble; la diferencia de energía entre los dos picos es tan pequeña que la mayor parte de los instrumentos no puede distinguirla).

La radiación ultravioleta y la visible tienen suficiente energía para conseguir sólo las transiciones de los electrones más externos o de enlace. Por otro lado, las frecuencias de rayos X son varios órdenes de magnitud más energéticos (véase ejemplo 6.3) y son capaces de interactuar con los electrones que están más cerca del núcleo del átomo. Los picos de absorción que corresponden a las transiciones electrónicas de estos electrones más internos se observan entonces en la región de los rayos X.

Absorción molecular

Los espectros de absorción de moléculas poliatómicas, en particular en el estado condensado, son en gran medida más complejos que los espectros atómicos porque, en general, la cantidad de estados de energía de las moléculas es enorme cuando se compara con la cantidad de estados de energía de los átomos aislados. La energía E asociada con las bandas de una molécula está formada por tres componentes. Es decir,

$$E = E_{\text{electrónica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} \quad (6.21)$$

donde $E_{\text{electrónica}}$ representa la energía electrónica de la molécula que surge de los estados energéticos de sus diversos electrones de enlace. El segundo término de la derecha se refiere a la energía total de la multitud

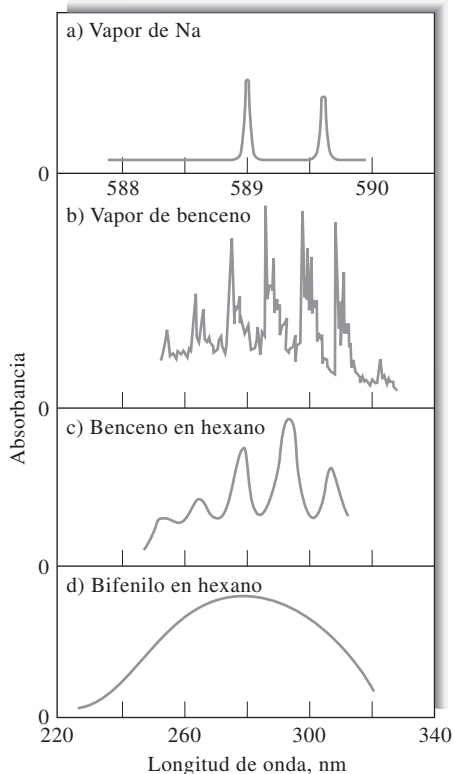


FIGURA 6.23 Algunos espectros ultravioleta característicos.

de vibraciones interatómicas que se presentan en la especie molecular. En general, una molécula posee muchos más niveles de energía vibracional cuantizados que niveles electrónicos. Por último, $E_{\text{rotacional}}$ es la energía que ocasionan los diferentes movimientos de rotación dentro de una molécula. Otra vez, la cantidad de estados de rotación es mayor que la cantidad de estados vibracionales. Por consiguiente, para cada estado energético electrónico de una molécula hay por lo regular varios estados vibracionales posibles. Para cada uno de ellos, a su vez, son posibles numerosos estados rotacionales. Por tanto, la cantidad de niveles de energía posibles para una molécula es de ordinario varios órdenes de magnitud mayor que la cantidad de niveles energéticos posibles de una partícula atómica.

La figura 6.24 es una representación gráfica de los niveles de energía asociados con unos pocos de los numerosos estados electrónicos y vibracionales de la molécula. La línea gruesa marcada con E_0 representa la energía electrónica de la molécula en su estado fundamental (su estado de energía electrónica más bajo); las líneas E_1 y E_2 representan las energías de dos estados

electrónicos excitados. Varios de los diversos niveles de energía vibracionales ($e_0, e_1, \dots, e_n$) se muestran para cada uno de estos estados electrónicos.

En la figura 6.24 se ve que la diferencia de energía entre el estado fundamental y un estado electrónicamente excitado es grande en relación con las diferencias de energía entre niveles vibracionales en un estado electrónico dado (casi siempre difieren los dos por un factor de 10 a 100).

Las flechas de la figura 6.24 ilustran algunas de las transiciones que resultan de la absorción de radiación. La radiación visible ocasiona la excitación de un electrón desde E_0 a cualquiera de los n niveles vibracionales asociados con E_1 (sólo cinco de los n niveles vibracionales se muestran en la figura 6.24). Las frecuencias de absorción se obtienen mediante n ecuaciones, cada una de la forma

$$\nu_i = \frac{1}{h} (E_1 + e'_i - E_0) \quad (6.22)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, n$.

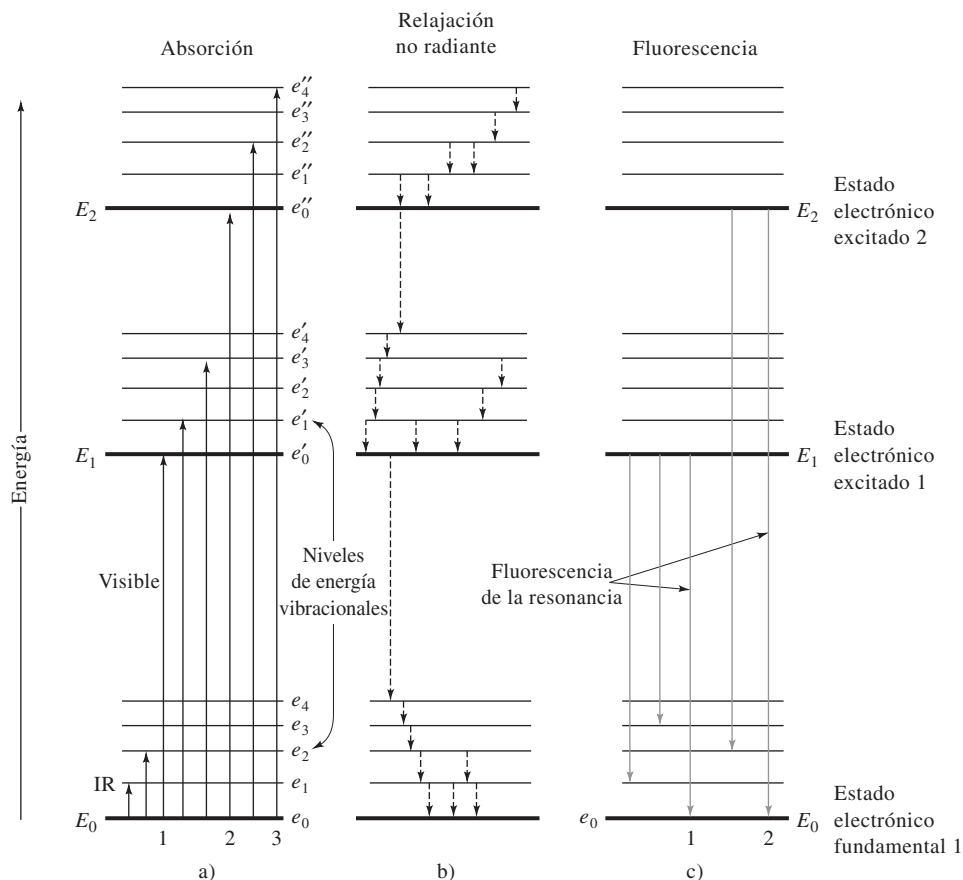


FIGURA 6.24 Diagramas parciales de los niveles de energía para una molécula orgánica fluorescente.

De igual manera, el segundo estado electrónico tiene m niveles vibracionales (se muestran cuatro de ellos), las frecuencias de absorción potenciales para radiación ultravioleta se obtienen con m ecuaciones del tipo

$$\nu_i = \frac{1}{h}(E_2 + e_i'' - E_0) \quad (6.23)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, m$.

Para finalizar, como se observa en la figura 6.24a, la radiación menos energética del infrarrojo cercano y medio puede ocasionar transiciones sólo entre los k niveles vibracionales del estado fundamental. En este caso, las k frecuencias de absorción potenciales se obtienen mediante k ecuaciones, las cuales se pueden plantear como

$$\nu = \frac{1}{h}(e_i - e_0) \quad (6.24)$$

donde $i = 1, 2, 3, \dots, k$.

Aunque no se muestran, hay varios niveles energéticos rotacionales relacionados con cada nivel vibracional en la figura 6.24. La diferencia de energía entre los niveles de energía rotacionales es pequeña comparada con la diferencia de energía entre los niveles vibracionales. Las transiciones entre un estado fundamental y uno excitado rotacional son ocasionadas por la radiación en el intervalo de 0.01 a 1 cm de longitud de onda, el cual incluye radiación de microondas e infrarrojo de longitud de onda más grande.

En contraste con los espectros de absorción atómica, que consisten en una serie de líneas nítidas muy bien definidas, los espectros moleculares en las regiones ultravioleta y visible se caracterizan de ordinario por regiones de absorción que a menudo abarcan un gran intervalo de longitudes de onda (véase figura 6.23b, c). La absorción molecular también involucra transiciones electrónicas. Pero, como muestran las ecuaciones 6.23 y 6.24, varias líneas de absorción muy cercanas corresponden a cada transición electrónica debido a la existencia de numerosos estados vibracionales. Además, como ya se mencionó, muchos niveles energéticos rotacionales están vinculados con cada uno de los estados vibracionales. El resultado es que, en general, el espectro de una molécula está constituido por una serie de líneas de absorción muy cercanas que forman una *banda de absorción*, como las del vapor de benceno en la figura 6.23b. A menos que se utilice un instrumento de alta resolución, no se detecta cada uno de los picos, y los espectros aparecerán como picos suaves y anchos, tal como los que se ven en la figura 6.23c. Para finalizar, en el estado condensado y en presencia de moléculas de solvente, las líneas individuales tienden a ensancharse aún más para casi dar *espectros continuos* como el que se muestra en la figura 6.23d.

Los efectos del disolvente se tratan en capítulos posteriores.

La absorción vibracional pura se observa en la región infrarroja, donde la energía de radiación es insuficiente para causar transiciones electrónicas. Dichos espectros muestran picos de absorción angostos, muy cercanos, que son el resultado de las transiciones entre los varios niveles cuánticos vibracionales (véase la transición marcada como IR en la parte inferior de la figura 6.24a). Las variaciones en los niveles rotacionales podrían originar una serie de picos por cada estado vibracional, pero en muestras líquidas o sólidas la rotación se impide a tal grado que casi no se detectan los efectos de estas diferencias energéticas pequeñas. Los espectros rotacionales puros de gases se pueden ver en la región de microondas.

Absorción inducida por un campo magnético

Cuando los electrones del núcleo de ciertos elementos están sujetos a un fuerte campo magnético, se pueden observar otros niveles de energía cuantizados como efecto de las propiedades magnéticas de estas partículas elementales. Las diferencias energéticas entre los estados inducidos son pocas, y las transiciones entre los estados se originan sólo al absorber radiación de longitud de onda larga o de baja frecuencia. Por lo que se refiere al núcleo, en general están involucradas ondas de radio que varían de 30 a 500 MHz ($\lambda = 1000$ a 60 cm). En cuanto a los electrones, se absorben microondas con frecuencia de alrededor de 9500 MHz ($\lambda = 3$ cm). La absorción que realizan núcleos o electrones en campos magnéticos se estudia mediante técnicas de *resonancia magnética nuclear* (RMN) y de *resonancia de espín electrónica* REE, respectivamente. Los métodos RMN se estudian en el capítulo 19.

6C.6 Procesos de relajación

Por lo regular, la vida de un átomo o molécula excitada por la absorción de radiación es breve porque hay muchos *procesos de relajación* que permiten su regreso al estado fundamental.

Relajación no radiante

Como se ve en la figura 6.24b, en la *relajación no radiante* hay una pérdida de energía en una serie de pequeñas etapas, la energía de excitación se transforma en energía cinética al chocar con otras moléculas. Así resulta un incremento mínimo en la temperatura del sistema.

Como se ilustra con las líneas azules de la figura 6.24c, la relajación puede ocurrir por emisión de radiación fluorescente. Otros procesos de relajación se tratan en los capítulos 15, 18 y 19.

Relajación por fluorescencia y por fosforescencia

La fluorescencia y la fosforescencia son procesos de emisión importantes desde el punto de vista analítico en los cuales la especie es excitada por absorción de un haz de radiación electromagnética. La emisión de radiación se presenta cuando la especie excitada regresa a su estado fundamental. La fluorescencia ocurre con más rapidez que la fosforescencia y se completa después de 10^{-5} s a partir del tiempo de excitación. La emisión de fosforescencia tiene lugar en periodos mayores a 10^{-5} s y, de hecho, puede continuar durante minutos y hasta horas después de que la radiación ha cesado. La fluorescencia y la fosforescencia se observan con más facilidad a un ángulo de 90° respecto al haz de excitación.

La fluorescencia en las moléculas es ocasionada por la irradiación de moléculas en disolución o en fase gaseosa. Como se ilustra en la figura 6.24a, la absorción de la radiación coloca a las moléculas en cualquiera de los diversos niveles vibracionales asociados con los dos niveles electrónicos excitados. La vida de estos estados excitados vibracionales es sólo del orden de 10^{-15} s, que es mucho menor que la vida de los estados electrónicos excitados (10^{-8} s). Por tanto, la relajación vibracional se presenta en promedio antes que la relajación electrónica. Entonces, la energía de la radiación emitida es menor que la de la absorbida por una cantidad igual a la energía vibracional de excitación. Por ejemplo, en el caso de la absorción marcada con 3 en la figura 6.24a, la energía absorbida es igual a $(E_2 - E_0 + e_4'' - e_0'')$, en tanto que la energía de la radiación de la fluorescencia es $(E_2 - E_0)$. Entonces, la radiación emitida tiene frecuencia más baja o longitud de onda más larga que la radiación que originó la fluorescencia. Este corrimiento en longitud de onda a unas frecuencias menores se llama a veces *desplazamiento de Stokes* como se menciona en relación con la difusión Raman de la figura 6.18.

La fosforescencia se presenta cuando una molécula excitada se relaja hasta llegar a un estado electrónico excitado metaestable, que se denomina *estado triple*, el cual tiene un promedio de vida de más de 10^{-5} s. La naturaleza de este tipo de estado excitado se estudia en el capítulo 15.

6C.7 Principio de incertidumbre

Heisenberg fue el primero en formular el *principio de incertidumbre* en 1927. Planteó que la naturaleza pone límites en la precisión con la que ciertos pares de mediciones físicas se pueden efectuar. Este principio, que tiene efectos muy importantes y ampliamente extendidos en el análisis instrumental, deriva del principio de

superposición, el cual se trata en la sección 6B.4. Las aplicaciones de este principio se presentan en varios de los capítulos siguientes que tratan sobre métodos espectroscópicos.⁵

Suponga que se quiere determinar la frecuencia ν_1 de un haz de radiación monocromática comparándolo con la salida de un reloj estándar, el cual es un oscilador que produce un haz luminoso cuya frecuencia ν_2 se conoce con precisión. Para detectar y medir la diferencia entre las frecuencias conocida y desconocida, $\Delta\nu = \nu_1 - \nu_2$, se deja que los dos haces choquen como en la figura 6.5, y se determina el tiempo para una oscilación (de A a B en la figura 6.5). El tiempo mínimo Δt que se requiere para efectuar esta medición tiene que ser igual o mayor que el periodo de una pulsación, el cual como se muestra en la figura 6.5 es igual a $1/\Delta\nu$. Por tanto, el tiempo mínimo para una medición es

$$\Delta t \geq 1/\Delta\nu$$

o bien,

$$\Delta t \Delta\nu \geq 1 \quad (6.25)$$

Observe que para determinar $\Delta\nu$ con una incertidumbre insignificante, se requiere un tiempo de medición enorme. Si la observación se realiza durante un periodo corto, la incertidumbre será grande.

Si se multiplican ambos miembros de la ecuación 6.25 por la constante de Planck:

$$\Delta t \cdot (h\Delta\nu) = h$$

A partir de la ecuación 6.17 es evidente que

$$\Delta E = h\Delta\nu$$

y

$$\Delta t \cdot \Delta E = h \quad (6.26)$$

La ecuación 6.26 es una de varias maneras de formular el principio de incertidumbre de Heisenberg. El significado en palabras de esta ecuación es el siguiente: si la energía E de una partícula o sistema de partículas, a saber, fotones, electrones, neutrones o protones, se mide en un periodo exactamente conocido Δt , entonces dicha energía es incierta en por lo menos $h/\Delta t$. Por tanto, la energía de una partícula se puede conocer con incertidumbre cero sólo si se le observa durante un periodo infinito. En el caso de periodos finitos, la medición de la energía nunca puede ser más precisa que $h/\Delta t$. Las consecuencias prácticas de esta limitación serán evidentes en varios de los capítulos siguientes.

⁵ Un ensayo general sobre el principio de incertidumbre y algunas aplicaciones se encuentran en L. S. Bartell, *J. Chem. Ed.*, **1985**, 62, p. 192.

6D ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LAS MEDICIONES ESPECTROQUÍMICAS

Como se ve en la tabla 6.2, los métodos espectroquímicos se pueden clasificar en cuatro grandes categorías. En las cuatro se requiere medir la energía radiante P , que es la energía de un haz de radiación que llega a cierta área por segundo. En el caso de los instrumentos modernos la energía radiante se determina con un detector de radiación que transforma la energía radiante en una señal eléctrica S . En general S es un voltaje o una intensidad de corriente que, desde el punto de vista ideal, es directamente proporcional a la energía radiante. Es decir,

$$S = kP \quad (6.27)$$

donde k es una constante.

Muchos detectores proporcionan una pequeña respuesta constante que se conoce como *corriente residual*, en ausencia de radiación. En esos casos, la respuesta se describe mediante la relación

$$S = kP + k_d \quad (6.28)$$

donde k_d es la corriente residual, la cual casi siempre es pequeña y constante por lo menos durante cortos lapsos. Por lo regular, los instrumentos espectroquímicos están equipados con un circuito compensador que reduce k_d a cero siempre que se hacen mediciones. Entonces, en dichos instrumentos se aplica la ecuación 6.27.

6D.1 Métodos de emisión, luminiscencia y difusión

Como se puede ver en la columna 3 de la tabla 6.2, en los métodos por emisión, luminiscencia y difusión, la potencia de la radiación que emite un analito después de la excitación es directamente proporcional a la con-

centración del analito c ($P_e = kc$). Si se combina esta ecuación con la 6.27 se tiene

$$S = k'c \quad (6.29)$$

donde k' es una constante que se puede evaluar mediante la excitación del analito por radiación en uno o más patrones y midiendo S . Una relación análoga también se aplica en los métodos de luminiscencia y difusión.

6D.2 Métodos de absorción

Como se muestra en la tabla 6.2, los métodos cuantitativos de absorción requieren dos medidas: una antes de que el haz pase a través del medio que contiene el analito (P_0) y otra después (P). Dos términos que se usan ampliamente en la espectrometría por absorción y que se relacionan con el cociente de P_0 y P , son la *transmitancia* y la *absorbancia*.

Transmitancia

En la figura 6.25 se ilustra un haz de radiación paralela antes y después de que ha pasado a través de un medio que tiene un espesor de b cm y una concentración c de una especie absorbente. Como consecuencia de las interacciones entre los fotones y los átomos o las moléculas absorbentes, la potencia del rayo se atenúa desde P_0 a P . La *transmitancia* T del medio es entonces la fracción de la radiación incidente transmitida por el medio:

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (6.30)$$

A menudo, la transmitancia se expresa como porcentaje

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100\% \quad (6.31)$$



Asesorías interactivas: aprenda más acerca de la **transmitancia y la absorbancia**.

TABLA 6.2 Principales clases de métodos espectroquímicos.

Clase	Potencia radiante medida	Relación de la concentración	Tipo de método
Emisión	Emitida, P_e	$P_e = kc$	Emisión atómica
Luminiscencia	Luminiscente, P_l	$P_l = kc$	Fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia, atómicas y moleculares
Difusión	Difundida, P_{sc}	$P_{sc} = kc$	Difusión, turbidimetría y dimensionamiento de las partículas Raman
Absorción	Incidente, P_0 , y transmitida, P	$-\log \frac{P}{P_0} = kc$	Absorción atómica y molecular

Absorbancia

La absorbancia A de un medio se define mediante la ecuación

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P} \quad (6.32)$$

Observe que al contrario que la transmitancia, la absorbancia de un medio aumenta cuando se incrementa la atenuación de un haz.

Ley de Beer

En el caso de la radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional a la longitud b de la trayectoria a través de un medio y la concentración c de la especie absorbente. Esta relación se representa con

$$A = abc \quad (6.33)$$



Asesorías interactivas: aprenda más acerca de la ley de Beer.

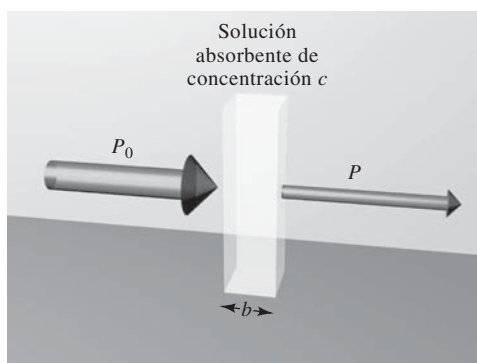


FIGURA 6.25 Atenuación de un haz de radiación mediante una solución absorbente. La flecha más grande en el rayo incidente quiere decir que hay una energía radiante superior que se transmite por la solución. El largo de la trayectoria de la solución es b , y la concentración es c .

donde a es una constante de proporcionalidad que se llama *absortividad*. La magnitud de a depende de las unidades de b y c . Para soluciones de una especie absorbente, b está con frecuencia en cm y c en gramos por litro. Entonces, las unidades de la absortividad son $L g^{-1} cm^{-1}$.

Cuando la concentración de la ecuación 6.33 se expresa en moles por litro y el largo de la celda está en centímetros, la absortividad se llama *absortividad molar*, y se representa con el símbolo especial ϵ . Por tanto, cuando b está en centímetros y c en moles por litro se tiene,

$$A = \epsilon bc \quad (6.34)$$

donde las unidades de ϵ son $L mol^{-1} cm^{-1}$.

Las ecuaciones 6.33 y 6.34 son expresiones de la *ley de Beer*, la cual sienta las bases del análisis cuantitativo tanto para las mediciones de la absorción atómica como de la molecular. Hay ciertas limitaciones en la aplicación de la ley de Beer, las cuales se analizan con detalle en la sección 13B.2.

Medición de la transmitancia y la absorbancia

La figura 6.26 es el esquema de un instrumento sencillo llamado *fotómetro*, con el cual se mide la transmitancia y la absorbancia de soluciones acuosas mediante un haz filtrado de radiación visible. Aquí, la radiación de una lámpara de tungsteno atraviesa un filtro de vidrio de color que restringe la radiación a una banda limitada de longitudes de onda contiguas. El rayo atraviesa un diafragma variable que permite ajustar la intensidad de la radiación que llega hasta la celda transparente que contiene la muestra. Se puede instalar un obturador frente al diafragma para bloquear por completo al rayo. Con el obturador abierto la radiación choca con un transductor fotoeléctrico que convierte la energía radiante del haz en una corriente directa que se mide con un microamperímetro. La salida del medidor S se representa con la ecuación 6.28. Note que el medidor posee una escala lineal que va de 0 a 100.

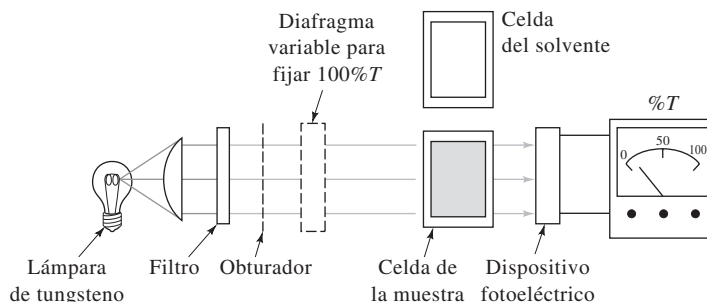


FIGURA 6.26 Fotómetro de un solo haz para medir la absorción en la región visible.

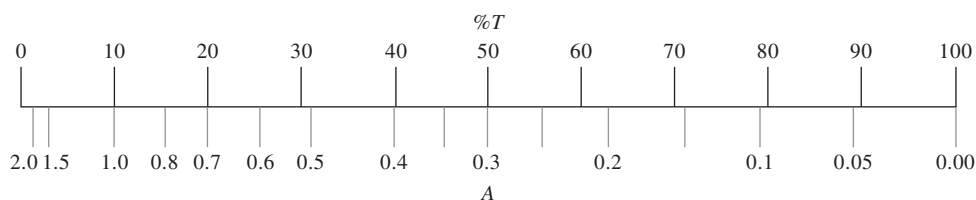


FIGURA 6.27 Escala de un fotómetro barato. Los fotómetros más modernos transforman directamente los resultados en absorbancia con ayuda de los instrumentos físicos o mediante los programas incorporados.

Para que este instrumento haga una lectura directa del porcentaje de transmitancia, se efectúan dos ajustes preliminares: el *ajuste de 0% de T o corriente residual* y el *ajuste 100% de T*. El primer ajuste se hace con el detector protegido de la fuente mediante el cierre del obturador mecánico. Cualquier corriente residual pequeña en el detector se anula eléctricamente hasta que la aguja marca cero.

El ajuste de 100% de T se hace con el obturador abierto y con la celda del disolvente en la trayectoria de la luz. Por lo regular, el solvente está en una celda que es idéntica dentro de lo posible a aquella donde está la muestra. El ajuste de 100% de T con este instrumento requiere variar la intensidad del haz por medio del diafragma variable. En algunos instrumentos se consigue el mismo efecto variando eléctricamente la salida radiante de la fuente. La potencia radiante que

llega al detector se hace variar hasta que el medido da una lectura exacta de 100. En efecto, este procedimiento fija P_0 en la ecuación 6.31 en 100%. Cuando se reemplaza el disolvente por la celda que contiene la muestra, entonces la escala indica directamente el porcentaje de transmitancia como se demuestra con la ecuación

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100\% = \frac{P}{100\%} \times 100\% = P$$

Una escala de absorbancia también puede ser escrita en el dispositivo de lectura de salida. Como se muestra en la figura 6.27, la escala puede ser no lineal. Los fotómetros modernos linealizan la lectura de salida por conversión mediante una función logarítmica que se verá en la sección 13D.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

6.1 Defina

- radiación coherente
- dispersión de una sustancia transparente
- dispersión anómala
- función trabajo de una sustancia
- efecto fotoeléctrico
- estado fundamental de una molécula
- excitación electrónica
- radiación de cuerpo oscuro
- fluorescencia
- fosforescencia
- fluorescencia por resonancia
- fotón
- absortividad
- número de onda
- relajación
- desplazamiento de Stokes

- *6.2** Calcule la frecuencia en hertz, la energía en joules y la energía en electronvolts de un fotón de rayos X con longitud de onda de $6.24 \text{ \AA}$.
- *6.3** Determine la frecuencia en hertz, el número de onda, la energía en joules y la energía en kJ/mol asociados con la banda de absorción vibracional de $3.517 \text{ }\mu\text{m}$ de una cetona alifática.
- *6.4** Calcule la longitud de onda y la energía en joules de una señal RMN a 368 MHz .
- *6.5** Determine la velocidad, frecuencia y longitud de onda de la línea D del sodio ($\lambda = 589 \text{ nm}$) cuando una luz desde su fuente atraviesa una especie cuyo índice de refracción, n_D , es 1.09 .
- *6.6** Cuando la línea D del sodio choca con una interfase aire-diamante con un ángulo de incidencia de 30.0° , el ángulo de refracción es de 11.9° . ¿Cuál es el n_D del diamante?
- *6.7** ¿Cuál es la longitud de onda de un fotón que posee el triple de energía que un fotón cuya longitud de onda es 779 nm ?
- *6.8** La energía del enlace del yoduro de plata es de alrededor de 255 kJ/mol (AgI es uno de los posibles componentes activos de los lentes para Sol fotogrey). ¿Cuál es la longitud de onda de la luz que es capaz de romper el enlace del yoduro de plata?
- *6.9** El cesio se usa ampliamente en fotoceldas y en las cámaras de televisión porque su energía de ionización es la más baja de todos los elementos estables.
- ¿Cuál es la energía cinética máxima de un fotoelectrón que sale del cesio por una luz de 555 nm ? Tome en cuenta que si la longitud de onda de la luz que se usa para irradiar la superficie del cesio es mayor de 660 nm , no se emite ningún fotoelectrón.
 - Use la masa en reposo del electrón para calcular la velocidad del fotoelectrón en a).
- *6.10** La ley del desplazamiento de Wien para los radiadores de cuerpo oscuro establece que el producto de la temperatura en kelvin por la longitud de onda de la emisión máxima es una constante k ($k = T \cdot \lambda_{\text{máx}}$). Determine la longitud de onda de la emisión máxima para una fuente infrarroja Global que opera a 1800 K . Use los datos de la figura 6.22 para el emisor de Nernst para evaluar la constante.
- *6.11** Calcule la longitud de onda de
- la línea de sodio a 589 nm en miel, cuyo índice de refracción es de 1.50 .
 - la salida de un rayo láser de rubí a 694.3 nm cuando atraviesa una pieza de cuarzo, cuyo índice de refracción es de 1.55 .
- *6.12** Determine la pérdida por reflexión cuando un haz de energía radiante atraviesa una celda de cuarzo vacía. El índice de refracción del cuarzo es de 1.55 .
- 6.13** Explique por qué el modelo de onda para la radiación no puede explicar el efecto fotoeléctrico.
- *6.14** Convierta los siguientes valores de absorbancia en porcentaje de transmitancia:
- a) 0.278 b) 1.499 c) 0.039
- *6.15** Convierta los siguientes porcentajes de transmitancia en valores de absorbancia:
- a) 29.9 b) 86.1 c) 2.97

- *6.16 Determine el porcentaje de transmitancia de soluciones con la mitad de absorbancia que las del problema 6.14.
- *6.17 Calcule la absorbancia de disoluciones con la mitad del porcentaje de transmitancia que las del problema 6.15.
- *6.18 Una solución de X cuya concentración era de $3.78 \times 10^{-3} \text{ M}$ tenía una transmitancia de 0.212 cuando se midió en una celda de 2.00 cm. ¿Qué concentración de X se requerirá para que la transmitancia se incremente por un factor de 3 cuando se use una celda de 1.00 cm?
- *6.19 La absorptividad molar de un compuesto es de $3.03 \times 10^3 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. ¿Qué concentración de compuesto se requiere para producir una solución que tenga una transmitancia de 9.53% en una celda de 2.50 cm?



Problema de reto

- 6.20 Uno de los puntos decisivos en el desarrollo de la física y la química fue la publicación del trabajo de Einstein en el que explicaba el efecto fotoeléctrico y establecía la naturaleza corpuscular de la luz, con el cual encabezaba el moderno punto de vista de la dualidad partícula-onda del ámbito microscópico.
- Estudie el trabajo de Millikan sobre el efecto fotoeléctrico, y describa cómo caracterizó él el trabajo de Einstein.⁶
 - En la sección 6C.1 se describió cómo las mediciones del voltaje de detención en un fototubo en función de la frecuencia sirven para determinar la constante de Planck. Explique y analice tres dificultades experimentales para conseguir calcular la constante de Planck con este método. El trabajo de Keesing⁷ es útil en este caso.
 - Con la información de la tabla III del trabajo de Millikan determine el potencial de detención en función de la longitud de onda de 433.9, 404.7, 365.0, 312.5 y 253.5 nm.
 - Escriba los datos en una hoja de cálculo de Excel, y ejecute un análisis de mínimos cuadrados con los datos para determinar la constante de Planck y su incertidumbre. Compare sus resultados con los de Millikan y analice las diferencias.
 - Una de las dificultades que usted descubrió en b) y c) se relaciona con la determinación del potencial de detención. Knudsen⁸ elaboró un método que se basa en las siguientes ecuaciones normalizadas:⁹

$$\phi(\delta) = \frac{4\pi m k^2 T^2}{h^2} \left(e^\delta - \frac{e^{2\delta}}{2^2} + \frac{e^{3\delta}}{3^2} - \dots \right) \quad (\delta \leq 0)$$

$$\phi(\delta) = \frac{4\pi m k^2 T^2}{h^2} \left[\frac{\pi^2}{6} + \frac{1}{2} \delta^2 - \left(e^{-\delta} - \frac{e^{-2\delta}}{2^2} + \frac{e^{-3\delta}}{3^2} - \dots \right) \right] \quad (\delta \geq 0)$$

donde $\phi(\delta)$ es la corriente fotoeléctrica y δ es el voltaje retrasado normalizado en unidades de kT . Elabore una hoja de cálculo, trace una gráfica de $\Phi(\delta) = \log \phi(\delta)$ contra δ para 56 valores en el intervalo de $\delta = -5$ a $\delta = 50$. También grafique los siguientes datos normalizados recolectados a 365.015 nm.

⁶R. A. Millikan, *Phys. Rev.*, **1918**, 7, p. 355.

⁷R. G. Keesing, *Eur. J. Phys.*, **1981**, 2, p. 139.

⁸A. W. Knudsen, *Am. J. Phys.*, **1983**, 8, p. 725.

⁹R. H. Fowler, *Phys. Rev.*, **1931**, 38, p. 45.

δ, kT	$\log \phi(\delta)$
33.24	0.17
33.87	0.33
34.72	0.53
35.46	0.79
36.20	0.99
36.93	1.20
37.67	1.39
38.41	1.58
40.43	1.97
42.34	2.27
44.25	2.47
46.16	2.64
47.97	2.77
49.99	2.89
51.90	3.01
53.82	3.10
55.63	3.19
57.65	3.25
59.56	3.33
61.48	3.38
63.29	3.44
65.31	3.51
67.23	3.54
69.04	3.60

Imprima dos copias de la gráfica en un formato de página completa y sobreponga las dos copias sobre una fuente luminosa. Determine el potencial de detención a 365.015 nm como lo describe Knudsen. Compare sus resultados con los de él que se enlistan en la tabla *f*).

- f) Haga un análisis de mínimos cuadrados de los datos de la tabla siguiente para determinar la constante de Planck. Compare estos resultados con los de Millikan y los resultados que usted obtuvo en *c*). Explique las diferencias en los resultados en términos de las diferencias experimentales y otras consideraciones fundamentales.

λ, nm	Potencial de detención	
	kT	V
435.834	56.7	1.473
404.656	48.1	1.249
365.015	35.4	0.919
334.148	23.4	0.608
313.170	14.0	0.364
296.728	5.8	0.151
289.36	1.3	0.034

- g) Hay un elemento de razonamiento circular en el procedimiento de Knudsen. Explique y analice rigurosamente la aplicación del proceso para hacer coincidir curvas con el fin de determinar el potencial de detención.

- h) La constante de Planck ya no se determina mediante mediciones en fotoceldas. ¿Cómo se determina?¹⁰ ¿Qué otras constantes fundamentales dependen de la constante de Planck? ¿Cuáles son los valores actuales de estas constantes y cuáles son sus incertidumbres?
- i) Se pueden aplicar procedimientos de mínimos cuadrados para ajustar los valores de las constantes fundamentales de modo que sean internamente consistentes.¹¹ Explique cómo se podría realizar este procedimiento. ¿De qué manera una mejora en la calidad de la medición de una constante como el número de Avogadro afecta los valores de otras constantes?
- j) En las décadas pasadas se hicieron muchos esfuerzos con el fin de determinar los valores de las constantes fundamentales. ¿Por qué es importante este esfuerzo en la química analítica o por qué no lo es? ¿Qué cantidades mensurables de la química analítica dependen de los valores de las constantes fundamentales? ¿Por qué estos esfuerzos son importantes para la ciencia y, finalmente, para el mundo? Haga un comentario crítico sobre la ganancia por haber invertido tiempo y esfuerzo en la determinación de las constantes fundamentales.

¹⁰E. R. Williams, R. L. Steiner, D. B. Newell y P. T. Olsen, *Phys. Rev. Lett.*, **1998**, *81*, p. 2404.

¹¹J. W. M. DuMond y E. Richard Cohen, *Rev. Modern Phys.*, **1953**, *25*, p. 691.

Componentes de los instrumentos ópticos

Los instrumentos que se utilizan en las regiones ultravioleta (UV), visible e infrarroja (IR) tienen varias características en común, por lo que con frecuencia se les llama instrumentos ópticos aun cuando el ojo humano es insensible a las longitudes de onda del ultravioleta y del infrarrojo. En este capítulo se tratan las funciones, las condiciones y el rendimiento de los componentes de instrumentos que se utilizan en la espectroscopía óptica de los tres tipos de radiación. Los instrumentos para los estudios espectroscópicos en regiones más energéticas que la ultravioleta y menos que la infrarroja tienen características que son muy distintas de las de los instrumentos ópticos y se estudian por separado en los capítulos 12 y 19.

7A DISEÑOS GENERALES DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS

Los métodos espectroscópicos ópticos se apoyan en seis fenómenos, a saber, 1) absorción, 2) fluorescencia, 3) fosforescencia, 4) dispersión, 5) emisión y 6) quimioluminiscencia. Los instrumentos que miden cada uno de ellos difieren un poco en su configuración, pero la mayor parte de sus partes básicas son muy similares. Además, las propiedades que se requieren de estos componentes son las mismas sin importar si se aplican a las partes ultravioleta, visible o infrarroja del espectro.¹

Los instrumentos espectroscópicos típicos están compuestos por cinco componentes: 1) una fuente estable de energía radiante; 2) un recipiente transparente en donde se coloca la muestra; 3) un dispositivo que aísla una región restringida del espectro para efectuar las mediciones;² 4) un detector de radiación que convierte la energía radiante en una señal eléctrica útil y 5) una unidad que procesa las señales y despliega resultados, la cual exhibe la señal que entrega el transductor en la escala de un medidor, una pantalla de computadora, un medidor digital u otro dispositivo de registro. En la figura 7.1 se ilustran los tres modos en que estos componentes están configurados para poder ejecutar las seis mediciones espectroscópicas mencionadas. En la figura también se muestra que los componentes 1, 4 y 5 están acomodados de la misma manera en cada tipo de medición.

Las primeras dos configuraciones instrumentales que se usan para medir absorción, fluorescencia y fosforescencia requieren una fuente externa de energía radiante. En el caso de la absorción, el haz de la fuente pasa por el selector de longitud de onda y luego atraviesa la muestra, pero en algunos instrumentos las posiciones del selector y la muestra están invertidas. Por lo que toca a la fluorescencia y fosforescencia, la fuente induce a la muestra, que está contenida en el recipiente, a emitir una radiación característica, la cual se

¹ Si desea mayor información sobre los componentes de los instrumentos ópticos refiérase a J. Lindon, G. Tranter, J. Holmes, eds., *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, vols. 1-3, San Diego: Academic Press, 2000; J. W. Robinson, ed., *Practical Handbook of Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1991; E. J. Meehan, *Treatise on Analytical Chemistry*, P. J. Elving, E. J. Meehan y I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 7, cap. 3, Nueva York: Wiley, 1981; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, caps. 3 y 4, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988.

² Los instrumentos para la transformada de Fourier, que se tratan en la sección 7I.3, no requieren dispositivo de selección de longitud de onda, sino el uso de un modulador de frecuencia que proporciona datos espectrales de un modo que se puede interpretar mediante una técnica matemática llamada transformación de Fourier.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad de estudiar en línea. Visite el sitio de red <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

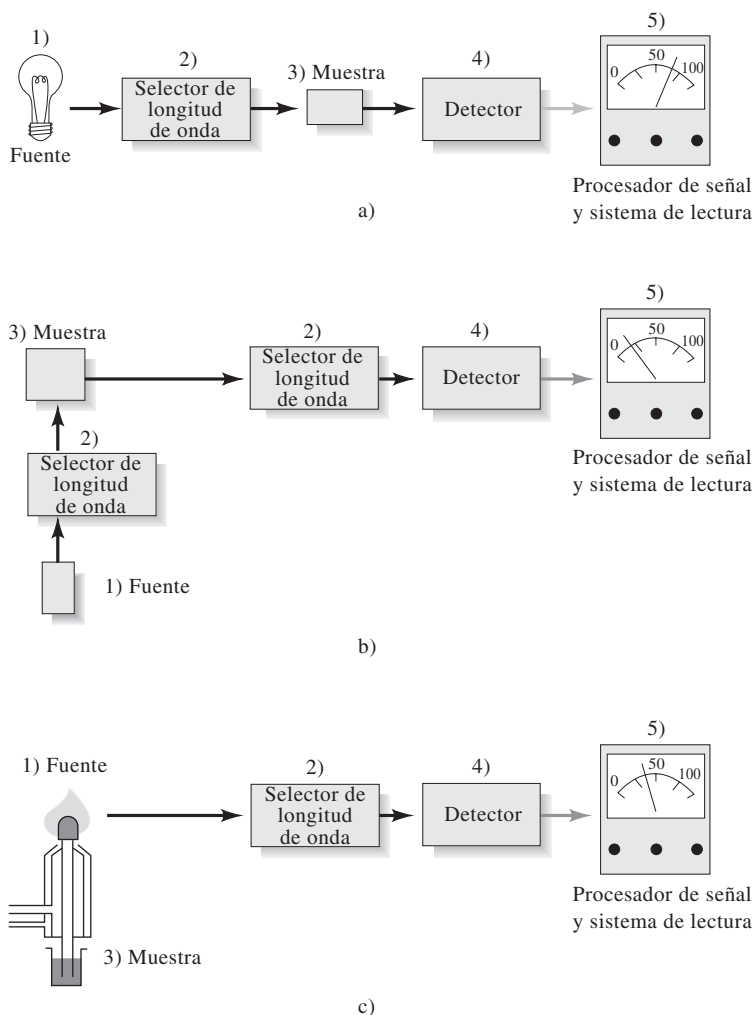


FIGURA 7.1 Componentes de diversos tipos de instrumentos para espectroscopia óptica. En a) se muestra el acomodo para las mediciones de absorción. Observe que la fuente de radiación de la longitud de onda seleccionada se envía desde la fuente a través de la muestra, y la radiación transmitida se mide por medio de la unidad detector-procesador de la señal y sistema de lectura. En algunos instrumentos las posiciones de la muestra y del selector de longitud de onda están invertidas. En b) se ilustra la configuración para las mediciones de fluorescencia. En este caso se necesitan dos selectores de longitud de onda para escoger las longitudes de la excitación y la emisión. La radiación de la fuente seleccionada incide en la muestra y se mide la radiación emitida, por lo regular en ángulos rectos para evitar la dispersión. En c) se ilustra la configuración para la espectroscopia de emisión. La fuente emite energía térmica en la forma de una llama o plasma que produce un vapor del analito, el cual emite radiación aislada por el selector de longitud de onda y la convierte en una señal eléctrica por medio del detector.

mide de ordinario a un ángulo de 90° respecto a la muestra.

Las espectroscopías de emisión y de quimioluminiscencia difieren de otros tipos en que no se requiere fuente de radiación externa; la muestra misma es el emisor (véase la figura 7.1c). En la espectroscopia de emisión, el contenedor de la muestra es un plasma, una

chispa o una llama que además hace que la muestra emita su radiación característica. En la espectroscopia de quimioluminiscencia, la fuente de radiación es una solución del analito con reactivos contenidos en un recipiente transparente. La emisión se logra con la energía que libera una reacción química en la cual el analito toma parte directa o indirectamente.

Longitud de onda, nm											
	100	200	400	700	1000	2000	4000	7000	10 000	20 000	40 000
Región del espectro	RT		UV	Visible	IR cercano		IR				IR lejano
a) Materiales para celdas, ventanas, lentes y prismas											
	Fluoruro de litio Sílice o cuarzo fundido Vidrio Corex Vidrio de silicato NaCl KBr TlBr o bien TlI ZnSe										
b) Selectores de longitud de ondas											
	Prisma de fluorita Sílice o cuarzo fundido Prisma de vidrio Prisma de NaCl Prisma de KBr 3000 líneas/mm Redes 50 líneas/mm										

FIGURA 7.2 a) Materiales de construcción y b) selectores de longitud de onda para instrumentos espectroscópicos.

En las figuras 7.2 y 7.3 se resumen las características ópticas de todos los componentes que se muestran en la figura 7.1, con excepción del procesador de la señal y el sistema de lectura. Observe que los componentes de los instrumentos difieren en detalles, lo cual depende de la región de longitud de onda dentro de la cual se vayan a usar. Su diseño también depende de si el instrumento se usará principalmente para análisis cualitativo o cuantitativo y de si se aplicará a la espectroscopía atómica o molecular. Aparte de eso, la función general y los requisitos de rendimiento de cada

tipo de componente son similares, sin que importe la región de longitud de onda y la aplicación.

7B FUENTES DE RADIACIÓN

Para que la fuente sea aceptable para los estudios espectroscópicos, debe generar un haz de energía radiante suficiente para que se detecte y se mida con facilidad. Además, su potencia de salida debe ser estable durante periodos razonables. Por lo regular, la

Longitud de onda, nm		100	200	400	700	1000	2000	4000	7000	10 000	20 000	40 000
Región del espectro		RT	UV	Visible	IR cercano			IR				IR lejano
(a) Fuentes	Continuo	Lámpara de Ar										
			Lámpara de Xe									
			Lámpara de H ₂ o de D ₂									
				Lámpara de tungsteno								
					Emisor de Nernst (ZrO ₂ + Y ₂ O ₃)							
							Alambre de níquel y cromo (Ni + Cr)					
	Líneas							Globar (SiC)				
			Lámparas de cátodo hueco									
				Rayos láser								
(b) Detectores	Detector de fotones		Placa fotográfica									
			Tubo fotomultiplicador									
			Fototubo									
			Fotocelda									
			Diodo de silicio									
			Detector de transferencia de carga									
	Detectores térmicos							Fotoconductor				
								Termopar (voltaje) o bolómetro (resistencia)				
								Celda neumática de Golay				
								Celda piroeléctrica (capacitancia)				

FIGURA 7.3 a) Fuentes y b) detectores para los instrumentos espectroscópicos.

energía radiante de una fuente varía en forma exponencial con el voltaje de la fuente de alimentación. Por tanto, casi siempre se requiere una fuente de energía regulada para proporcionar la estabilidad que se necesita. Por otro lado, el problema de la estabilidad de la fuente algunas veces se puede evitar con diseños de haz doble en los cuales el cociente entre la señal proveniente de la muestra y la señal de la fuente sin la muestra funciona como la variable analítica. En dichos diseños, las intensidades de los dos rayos se miden en forma simultánea o casi simultánea de modo que el efecto de las fluctuaciones en la salida de la fuente se anula casi por completo.

En la figura 7.3a se proporciona una lista de las fuentes espectroscópicas más ampliamente usadas. Observe que son de dos tipos, a saber: *fuentes continuas*, las cuales emiten radiación cuya intensidad cambia sólo lentamente en función de la longitud de onda, y las *fuentes de líneas*, que emiten una cantidad limitada de líneas o bandas de radiación; cada una de las cuales abarca un intervalo limitado de longitudes de onda.



Clases interactivas: aprenda más acerca de los **materiales ópticos y las fuentes**.

7B.1 Fuentes continuas

Este tipo de fuentes se usa ampliamente en la espectroscopía de absorción y de fluorescencia. En el caso de la región UV, la fuente más común es la lámpara de deuterio. Las lámparas de arco de alta presión llenas de gas, que puede ser argón, xenón o mercurio, se usan cuando se requiere una fuente muy intensa. En el caso de la región visible del espectro, la que casi todo el mundo usa es la lámpara con filamento de tungsteno. Las fuentes comunes infrarrojas son sólidos inertes calientes a 1500 a 2000 K, una temperatura a la cual la salida máxima radiante ocurre de 1.5 a 1.9 μm (véase figura 6.22). Los detalles acerca de la construcción y el comportamiento de estas diversas fuentes continuas se proporcionan en los capítulos en los que se tratan los distintos tipos de métodos espectroscópicos.

7B.2 Fuentes de líneas

Las fuentes que emiten unas cuantas líneas discretas también tienen gran aceptación en la espectroscopía de absorción atómica, la espectroscopía de fluorescencia atómica y molecular y la espectroscopía Raman (en la refractometría y la polarimetría también se usan fuentes de líneas). Las conocidas lámparas de mercurio y de sodio proporcionan unas cuantas líneas nítidas en las regiones ultravioleta y visible, y se usan en varios instrumentos espectroscópicos. Las lámparas de cátodo hueco y las de descarga sin electrodo son las fuentes de líneas más importantes para los métodos de absorción atómica y de fluorescencia. El estudio de dichas fuentes se encuentra en la sección 9B.1.

7B.3 Fuentes de rayos láser

Los rayos láser son fuentes de uso muy extendido en los instrumentos analíticos debido a sus altas intensidades, sus anchos de banda angostos y la naturaleza coherente de sus salidas.³ El primer láser se construyó en 1960. Desde entonces, los químicos han encontrado numerosas aplicaciones útiles para ellos en la espectroscopía de alta resolución, en los estudios de cinética de procesos con tiempos de vida que varían de 10^{-9} a 10^{-12} s, en la detección y en la determinación de concentraciones en extremo pequeñas de especies presentes en la atmósfera, así como en la inducción de

reacciones selectivas desde el punto de vista isotópico.⁴ Además, las fuentes de rayos láser se han vuelto importantes en varios métodos analíticos de rutina, como espectroscopía Raman, espectroscopía de absorción molecular, espectroscopía de emisión y como parte de los instrumentos para la espectroscopía de IR de la transformada de Fourier.

El término láser se forma con las siglas de *laser* (*light amplification by stimulated emission of radiation*, es decir, luz mediante la emisión estimulada de radiación). Debido a sus características amplificadoras de luz, los rayos láser producen haces de radiación espacialmente angostos, de sólo unos cuantos centésimos de micrómetro, pero en extremo intensos. El proceso de la emisión estimulada, que se explicará más adelante en forma resumida, genera un haz de radiación altamente monocromático con ancho de banda de 0.01 nm o menos y con coherencia notable (sección 6B.6). Debido a estas características únicas, los rayos láser se han convertido en fuentes importantes que se usan en las regiones UV, visible e IR del espectro. Una limitación de los primeros rayos láser era que la radiación proveniente de una fuente dada estaba restringida a relativamente pocas y discretas longitudes de onda o líneas. Pero ahora se cuenta con los rayos láser de colorante, los cuales proporcionan bandas angostas de radiación en cualquier longitud de onda seleccionada dentro de un intervalo un poco limitado de la fuente.

Componentes de los rayos láser

En la figura 7.4 se proporciona un esquema en el que se ilustran los componentes de una fuente láser típica. El corazón del dispositivo es el medio de amplificación de la luz. Puede ser un cristal sólido como un rubí, un semiconductor como el arseniuro de galio, una solución de un colorante orgánico, o un gas como el argón o el kriptón. Con frecuencia, el material generador se activa o se *bombea* por radiación proveniente de una fuente externa de modo que unos pocos fotones de energía apropiada desencadenarán la formación de una cascada de fotones de la misma energía. El bombeo se puede lograr también mediante una corriente eléctrica o mediante una descarga eléctrica. Por consiguiente, los láser de gas no tienen la fuente de radiación externa que se muestra en la figura 7.4, sino que la alimentación de energía se conecta a un par de electrodos que están dentro de una celda llena de gas.

Un rayo láser funciona por lo regular como un oscilador o un resonador en el sentido de que la ra-

³Un estudio más amplio sobre rayos láser se encuentra en W. T. Silfvast, *Laser Fundamentals*, 2a. ed., Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2004; D. L. Andrews y A. A. Demidov, eds., *An Introduction to Laser Spectroscopy*, 2a. ed., Nueva York: Plenum, 2002; G. R. Van Hecke y K. K. Karukstis, *A Guide to Lasers in Chemistry*, Boston: Jones and Bartlett, 1998; D. L. Andrews, ed., *Lasers in Chemistry*, 3a. ed., Nueva York: Springer-Verlag, 1997.

⁴Para revisar algunas de estas aplicaciones, refiérase a J. C. Wright y M. J. Wirth, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, pp. 988A, 1087A; J. K. Steehler, *J. Chem. Educ.*, **1990**, 67, p. A37; C. P. Christensen, *Science*, **1984**, 224, p. 117; R. N. Zare, *Science*, **1984**, 226, p. 1198; E. W. Ffindsend y M. R. Ondrias, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. 479; A. Schawlow, *Science*, **1982**, 217, p. 9.

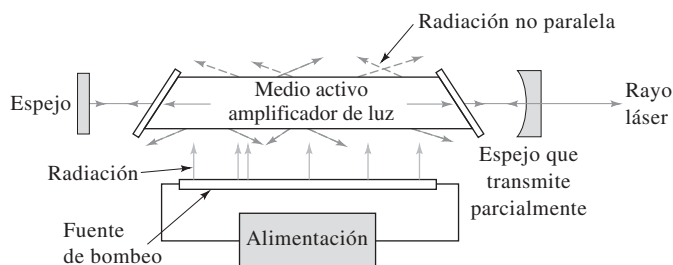


FIGURA 7.4 Esquema de una fuente de rayos láser representativa.

diación producida por su acción se mueve numerosas veces de un lado a otro en el medio por medio de un par de espejos, como se ilustra en la figura 7.4. Cada vez que pasa se generan fotones adicionales, lo que ocasiona la enorme amplificación. Los movimientos repetidos también producen un haz que es casi paralelo porque la radiación que no lo es escapa desde los lados del medio después de ser reflejada algunas veces (véase figura 7.4). Una de las maneras más fáciles de obtener un rayo láser útil es cubrir uno de los espejos con una capa suficientemente fina de material reflectante para que una fracción del haz se transmita en lugar de reflejarse.

Mecanismos de acción láser

Para ilustrar la acción láser, considere un sistema molecular. Muchos rayos láser son atómicos o iónicos, y aunque sus mecanismos son similares a los de los rayos láser moleculares, los detalles son un tanto distintos. Se puede entender la acción láser si se consideran los cuatro procesos que se ilustran en la figura 7.5: *a*) bombeo, *b*) emisión espontánea (fluorescencia), *c*) emisión estimulada y *d*) absorción. En esta figura se muestra el comportamiento de dos de las diversas moléculas que conforman el medio donde se genera el rayo láser. Se muestran dos de los diversos niveles energéticos electrónicos que poseen energías E_y y E_x . Observe que el estado electrónico superior de cada molécula tiene niveles energéticos vibracionales ligeramente diferentes denominados E_y , E'_y , E''_y , y así sucesivamente. No se han mostrado otros niveles para el estado electrónico inferior, aunque existen por lo regular. Note que He-Ne, Ar^+ , rubí, Nd-YAG, y otros rayos láser atómicos o iónicos *carecen de niveles vibracionales*, pero estos medios de generación de rayos láser tienen otros estados electrónicos.

Bombeo. Es necesario para la acción láser. Es un proceso en el cual la especie activa de un rayo láser es excitada por medio de una descarga eléctrica, el paso de

una corriente eléctrica o la exposición a una fuente radiante intensa. Durante el bombeo de un sistema molecular se pueblan varios de los niveles energéticos vibracionales y electrónicos superiores de la especie activa. En el diagrama 1) de la figura 7.5a se muestra un electrón que es impulsado a un estado de energía E''_y ; el segundo es excitado a un nivel vibracional E'''_y ligeramente superior. El tiempo de vida de un estado vibracional excitado es breve, por lo que después de 10^{-13} a 10^{-15} s, el electrón se relaja y baja al nivel vibracional excitado más bajo [E_y en la figura 7.5a(3)] y se genera una cantidad indetectable de calor. Algunos estados electrónicos excitados de materiales láser tienen vidas mucho más largas, a menudo de 1 ms o más, que sus equivalentes vibracionales excitados. A veces, los estados de vida larga se llaman metaestables.

Emisión espontánea. Como ya se mencionó en el estudio sobre la fluorescencia (sección 6C.5), una especie en un estado electrónico excitado podría perder todo el exceso de energía o parte de él por emisión espontánea de radiación. Este proceso se ilustra en el diagrama de árbol que se muestra en la figura 7.5b. Tenga en cuenta que la longitud de onda de la radiación de fluorescencia está dada por la relación $\lambda = hc/(E_y - E_x)$, donde h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz. También es importante hacer notar que el instante en el cual ocurre la emisión y la trayectoria que sigue el fotón resultante varían de molécula a molécula porque la emisión espontánea es un proceso aleatorio; por consiguiente, la radiación de fluorescencia producida por una de las especies de la figura 7.5b(1) difiere en dirección y fase de la producida por la segunda especie de la figura 7.5b(2). Por tanto, la emisión espontánea produce radiación monocromática *incoherente*.

Emisión estimulada. Este tipo de emisión, que se basa en el comportamiento del rayo láser, se ilustra en la figura 7.5c. En este caso, las especies láser excitadas son golpeadas por fotones que tienen precisamente las mismas energías ($E_y - E_x$) que los fotones producidos por emisión espontánea. Los choques de este tipo



Simulación: aprenda más acerca de **cómo funcionan los rayos láser**.

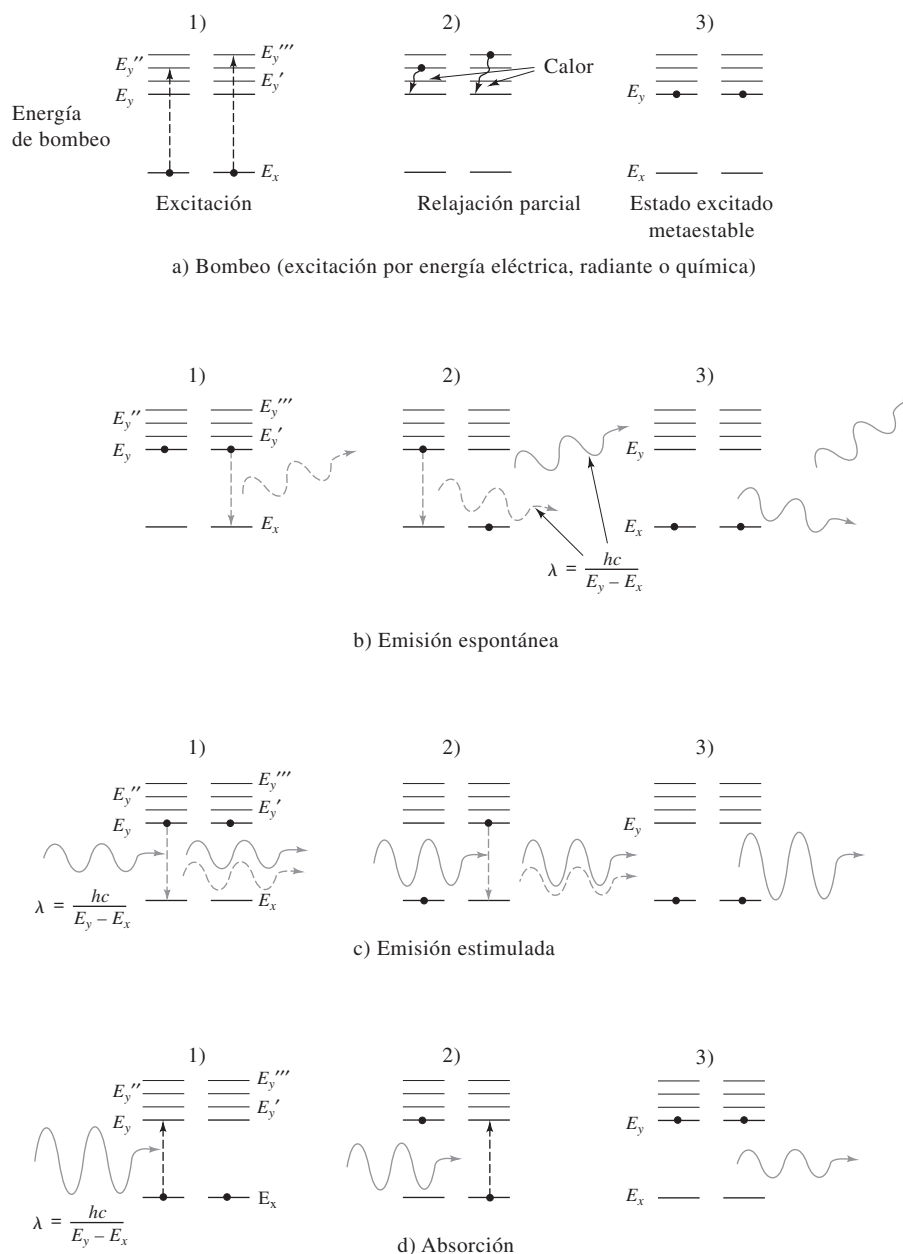


FIGURA 7.5 Cuatro procesos importantes en la acción láser: a) bombeo (excitación por medio de energía eléctrica, radiante o química), b) emisión espontánea, c) emisión estimulada y d) absorción.

ocasionan que las especies excitadas se relajen de inmediato y bajen al estado energético inferior emitiendo de manera simultánea un fotón con exactamente la misma energía que aquel que estimuló este proceso. De igual importancia es que el fotón emitido *viaja* en la misma dirección y *está precisamente en fase* con el fotón que ocasionó la emisión. Por tanto, la emisión estimulada es del todo *coherente* con la radiación que entra.

Absorción. El proceso de absorción, el cual compete con la emisión estimulada, se ilustra en la figura 7.5d. En este caso, dos fotones cuyas energías son exactamente iguales a $(E_y - E_x)$ son absorbidos para producir el estado excitado metaestable que se ilustra en la figura 7.5d(3). Tenga en cuenta que este estado es idéntico al que se obtuvo en la figura 7.5a(3) por bombeo.

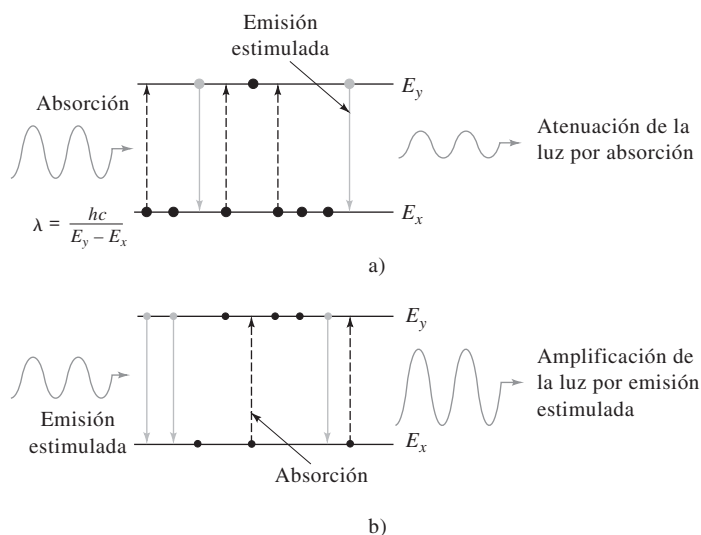


FIGURA 7.6 Paso de radiación a través de a) una población no invertida y b) una población invertida creada por la excitación de electrones hacia estados virtuales por una fuente de energía externa (bombeo).

Inversión de la población y amplificación de luz

Para que haya amplificación de luz en un rayo láser, el número de fotones producidos por emisión estimulada tiene que superar la cantidad perdida por absorción. Esta condición prevalece sólo cuando la cantidad de partículas en el estado energético superior excede la cantidad en el inferior; en otras palabras, debe haber una *inversión de la población* a partir de la distribución normal de los estados energéticos. Las inversiones de la población se crean por bombeo. En la figura 7.6 se comparan los efectos de la radiación entrante de una población no invertida con la de una que sí está invertida. En cada caso, nueve moléculas de medio láser están en los dos estados E_x y E_y . En el sistema no invertido, tres moléculas están en el estado excitado y seis están en el nivel energético inferior. El medio absorbe tres de los fotones que entran para producir tres moléculas excitadas adicionales, las cuales luego se relajan con rapidez y llegan a un estado fundamental sin que se logre una inversión de la población en estado estable. La radiación podría estimular la emisión de dos fotones a partir de moléculas excitadas, lo cual da como resultado la atenuación neta del haz por un fotón. Como se puede ver en la figura 7.6b, el bombeo de dos moléculas en los estados virtuales E_n seguido por una relajación a E_y crea una inversión en la población entre E_y y E_x . Por consiguiente, el diagrama muestra seis electrones en estado E_y y sólo tres electrones en E_x . En el sistema invertido, prevalece la emisión estimulada sobre la absorción para producir una ganancia neta en fotones emitidos. Ocurre entonces la amplificación de la luz o la generación de rayos láser.

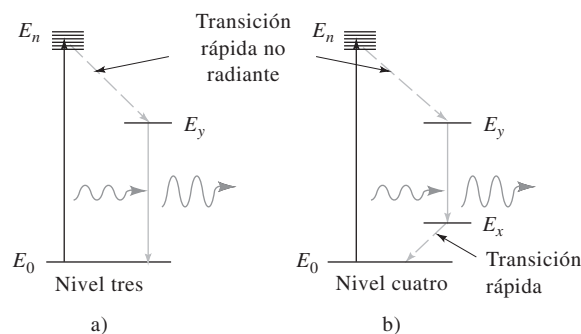


FIGURA 7.7 Diagramas de los niveles energéticos para dos tipos de sistemas láser.

Sistemas láser de tres y cuatro niveles

En la figura 7.7 se muestran diagramas energéticos simplificados para los dos tipos comunes de sistemas láser. En el sistema de tres niveles, la transición causante de la radiación láser está entre un estado excitado E_y y el estado fundamental E_0 . En cambio, en un sistema de cuatro niveles, la radiación es generada por una transición desde E_y hasta el estado E_x cuya energía es mayor que la del estado fundamental. Además, es necesario que las transiciones entre E_x y el estado basal sean rápidas. La ventaja del sistema de cuatro niveles es que las inversiones de la población esenciales para la acción láser se consiguen con mayor facilidad que en sistemas de tres niveles. Para entender esta ventaja, observe que a temperatura ambiente la mayoría de las especies láser estarán en el nivel energético fun-

damental E_0 en ambos sistemas. Por consiguiente, se tiene que proporcionar energía suficiente para transformar más de 50% de las especies que generan el rayo láser en el nivel E_y del sistema de tres niveles. En un sistema de cuatro niveles, sólo se requiere un bombeo suficiente para hacer que la cantidad de partículas en el nivel energético E_y sobrepase la cantidad en E_x . El tiempo de vida de una partícula en el estado E_x es breve porque la transición a E_0 es rápida; por tanto, la cantidad de las que se hallan en el estado E_x es insignificante por lo general en relación con las que tienen energía E_0 y también, con una modesta entrada de energía de bombeo, respecto al número de las que se encuentran en el estado E_y . Por tanto, el rayo láser de cuatro niveles logra una inversión de la población con un pequeño gasto de energía de bombeo.

Algunos ejemplos de rayos láser útiles

En química analítica se utilizan varios tipos de rayos láser.⁵

Rayos láser de estado sólido. El primer rayo láser satisfactorio y que todavía se utiliza es un dispositivo de tres niveles en el cual un cristal de rubí es el medio activo. El rubí es principalmente Al_2O_3 pero contiene alrededor de 0.05% de cromo(III), distribuido entre los espacios del retículo cristalino de aluminio(III), lo cual explica el color rojo. Los iones de cromo(III) son el material generador activo del rayo. En los primeros rayos láser se elaboraba una varilla de rubí de 4 cm de largo por 0.5 cm de diámetro. Una lámpara de destellos, casi siempre una de xenón de baja presión, rodeaba el cilindro y producía destellos intensos de luz ($\lambda = 694.3 \text{ nm}$). Puesto que la lámpara de destellos era de pulso, se generaba un haz de pulsos. En la actualidad hay fuentes de rubí de ondas continuas.

El rayo láser Nd-YAG de estado sólido es uno de los más usados. El medio de generación del rayo es de iones de neodimio alojados en un cristal de granate que contiene aluminio e itrio. Este sistema tiene la ventaja de ser un rayo láser de cuatro niveles, lo cual facilita más la inversión de la población que con el rayo láser de rubí. El rayo láser Nd-YAG proporciona una salida de energía radiante muy potente (1064 nm), la cual por lo general duplica su frecuencia (véase página 175) con el fin de proporcionar una línea intensa de 532 nm. Esta radiación se puede usar para bombear rayos láser de colorante sintonizable.

Rayos láser de gas. En el comercio hay una gran diversidad de rayos láser de gas. Estos dispositivos pueden ser de cuatro tipos, a saber, 1) láser de átomos neutros como He-Ne; 2) láser de iones en los cuales la especie activa es Ar^+ o Kr^+ ; 3) rayos láser de moléculas en los cuales el medio de generación es CO_2 o N_2 ; y 4) rayos láser excímeros. El rayo láser de helio-neón es el más común porque su costo inicial y el de conservación son muy bajos, es muy confiable y consume poca energía. La más importante de sus líneas de salida se genera a 632.8. Por lo general funciona de modo continuo y no con pulsos.

El rayo láser de ion de argón, el cual produce líneas intensas en las regiones del verde (514.5 nm) y el azul (488.0 nm), es un ejemplo importante de un ion láser. Este láser es de cuatro niveles, y los iones de argón se forman por medio de una descarga eléctrica o de radiofrecuencia. La entrada de energía que se requiere es alta porque los átomos de argón primero tienen que ser ionizados y luego excitados para que dejen su estado fundamental, con un número cuántico principal de 3, para pasar a varios estados $4p$. La generación del rayo láser ocurre cuando los iones excitados se relajan y llegan al estado $4s$. El rayo láser de argón se usa como fuente en la espectroscopía de fluorescencia y Raman debido a la alta intensidad de sus líneas.

El rayo láser de nitrógeno se bombea con una fuente de chispas de alto voltaje que proporciona un impulso momentáneo (1 a 5 ns) de corriente a través del gas. La excitación origina una inversión de la población que disminuye con rapidez mediante emisión espontánea porque el tiempo de vida del estado excitado es muy corto respecto al tiempo de vida del nivel inferior. El resultado es un pulso breve, de unos cuantos nanosegundos, de radiación intensa (mayor a 1 MW) a 337.1 nm. Esta salida se usa para excitar fluorescencia en una variedad de moléculas y para bombear rayos láser de colorante. El rayo láser de dióxido de carbono se utiliza para producir radiación monocromática infrarroja a 10.6 μm .

Los rayos láser excímeros contienen una mezcla gaseosa de helio, flúor y uno de los gases raros argón, kriptón o xenón. El gas raro se excita electrónicamente mediante una corriente y enseguida reacciona con el flúor para formar especies excitadas, como ArF^* , KrF^* , o XeF^* , a los que se les llama *excímeros* porque son estables sólo en el estado excitado. Puesto que el estado fundamental del excímero es inestable, la disociación rápida de los compuestos se presenta cuando al relajarse ceden un fotón. Por consiguiente, hay una inversión de la población siempre que haya bombeo. Los rayos láser de excímeros producen pulsos de alta energía en el ultravioleta (351 nm para XeF , 248 nm para KrF y 193 nm para ArF).

⁵Refiérase a C. Gooijer, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 400, p. 281 donde encontrará un estudio sobre los rayos láser útiles en química analítica.

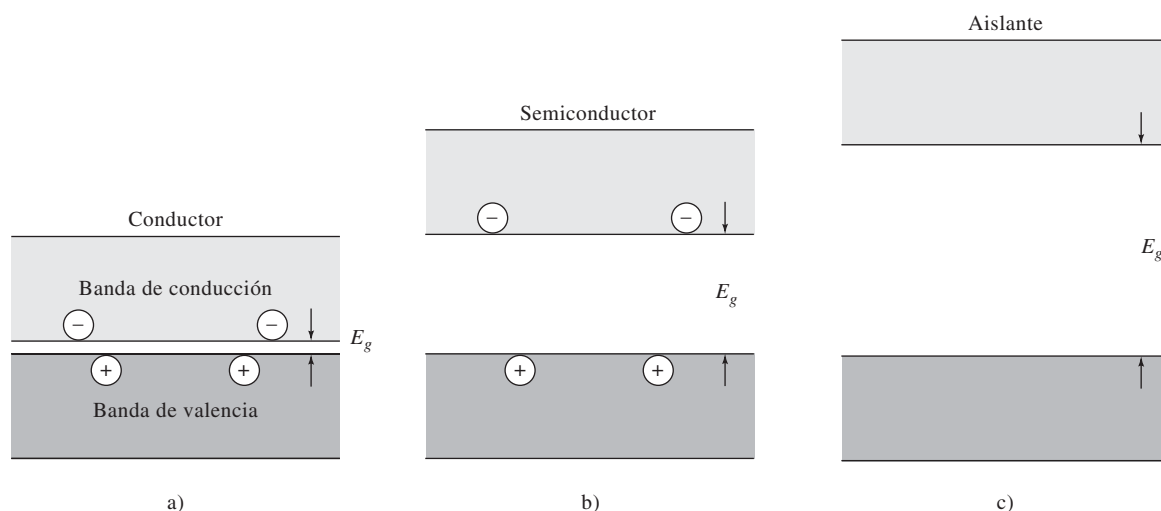


FIGURA 7.8 Bandas de conducción y bandas de valencia en tres tipos de materiales.

Rayos láser de colorante.⁶ Se han vuelto fuentes importantes de radiación en la química analítica porque son sintonizables en forma continua en un intervalo de 29 a 50 nm. Al cambiar los colorantes, los valores de longitud de onda de un rayo láser de colorante se pueden ajustar para que sean amplios. El ancho de banda de un rayo láser de colorante sintonizable es en general de sólo unas centésimas de nanómetro o menos. Los materiales activos en los rayos láser de colorante son disoluciones de compuestos orgánicos capaces de manifestar fluorescencia en las regiones ultravioleta, visible o infrarroja. Los rayos láser de colorante son sistemas de cuatro niveles. En contraste con los otros rayos láser de este tipo que se han considerado, el nivel energético inferior para la acción láser (E_x en la figura 7.6b) no es energía simple, sino una banda de energías que surgen de la superposición de una gran cantidad de estados energéticos vibracionales y rotacionales, muy cercanos, basados en el estado energético electrónico. Los electrones en E_y podrían entonces sufrir transiciones a cualquiera de estos estados, lo cual produciría fotones de energías ligeramente diferentes. La sintonización de los rayos láser de colorante se puede lograr con facilidad si se reemplaza el espejo no transmisor que se muestra en la figura 7.4 con una red de reflexión o un interferómetro de Fabry-Perot (véase más adelante) que refleja sólo un ancho de banda angosto de radiación en el medio láser. La longitud de onda pico se puede hacer variar mediante una red o inclinando el interferómetro. Luego se estimula la emisión para sólo una parte del es-

pectro de fluorescencia, a saber, la longitud de onda seleccionada por el monocromador. Los rayos láser de colorante se pueden operar en el modo de impulsos o en el modo de onda continua.

Rayos láser de diodos semiconductores. Una fuente cada vez más importante de radiación casi monocromática es el diodo de rayo láser.⁷ Éste es un producto de la técnica moderna de los semiconductores. Es posible entender su mecanismo de operación si se consideran las características de la conducción eléctrica de varios materiales, como se ilustra en la figura 7.8. Un buen conductor, como un metal está constituido por un arreglo regular de átomos inmersos en un mar de electrones de valencia. Los orbitales de los átomos adyacentes se traslapan para formar la *banda de valencia*, la cual es en esencia un orbital molecular que se extiende sobre todo el metal y contiene los electrones de valencia de todos los átomos. Los orbitales vacíos externos se traslapan para formar la *banda de conducción*, la cual posee una energía ligeramente superior a la de la banda de valencia. La diferencia de energía entre las bandas de valencia y de conducción es el salto de energía entre bandas E_g . Como este salto de energía es tan pequeño en los conductores (véase figura 7.8a), los electrones que están en la banda de valencia adquieren con facilidad suficiente energía térmica para ser impulsados a la banda de conducción, con lo que hay portadores de carga móviles para la conducción.

En cambio, los aislantes poseen saltos de energía relativamente grandes y, como resultado, los electrones

⁶Si desea mayor información refiérase a M. Stuke, ed., *Dye Lasers: Twenty-Five Years*, Nueva York: Springer, 1992; F. J. Duarte y L. W. Hillman, *Dye Laser Principles with Applications*, San Diego: Elsevier, 1990.

⁷M. G. D. Bauman, J. C. Wright, A. B. Ellis, T. Kuech y G. C. Lisensky, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, p. 89; T. Imasaka y N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 363A; R. L. Beyer, *Science*, **1989**, 239, p. 742; K. Niemax, A. Zybin, C. Schnürer-Patschan y H. Groll, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, p. 351A.

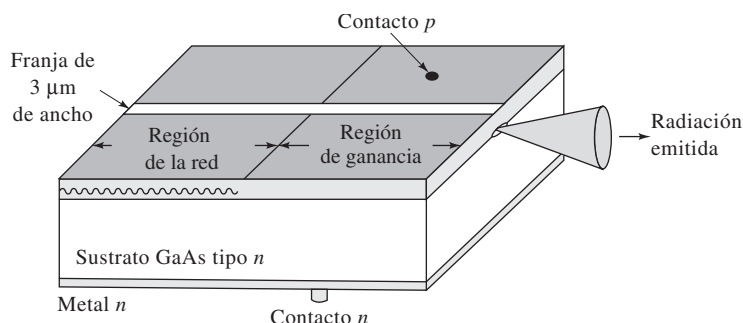


FIGURA 7.9 Diodo láser reflector de Bragg distribuido. (Tomado de D. W. Nam y R. G. Waarts, *Laser Focus World*, 1994, 30 (8), p. 52. Reimpreso con autorización de PennWell Publishing Company.)

que están en la banda de valencia son incapaces de adquirir energía térmica suficiente para pasarse a la banda de conducción. Por consiguiente, los aislantes no conducen electricidad (véase figura 7.8c). Los semiconductores, como el silicio o el germanio, poseen saltos de energía intermedios, de modo que sus características de conducción son intermedias entre las de conductores y aislantes (véase figura 7.8b). Es necesario notar que si un material es semiconductor o aislante depende no sólo del salto de energía entre bandas, sino también de la temperatura de operación y de la energía de excitación del material, todo lo cual se relaciona con el voltaje que se le aplica.

Cuando se aplica un voltaje a un diodo semiconductor en la dirección hacia adelante (véase la sección 2C.2), los electrones se excitan en la banda de conducción, se crean pares de huecos de electrones y el diodo conduce. En última instancia, algunos de estos electrones se relajan y regresan a la banda de valencia, y se libera energía que corresponde al salto de energía entre bandas $E_g = h\nu$. Una parte de la energía se libera en forma de radiación electromagnética de frecuencia $\nu = E_g/h$. Los diodos que se fabrican para mejorar la producción de luz se llaman diodos emisores de luz (LED, por sus siglas en inglés); se fabrican con fosforo de arsénico y galio, que tiene un salto de energía entre bandas que corresponde a una longitud de onda máxima λ_m de 650 nm. Los diodos de este tipo se utilizan ampliamente en indicadores y en los sistemas de lectura de los instrumentos electrónicos. También son fáciles de encontrar los diodos hechos de arseniuro de galio y aluminio ($\lambda_m = 900$ nm), fosforo de galio ($\lambda_m = 550$ nm), nitruro de galio ($\lambda_m = 465$ nm), y nitruro de galio e indio ($\lambda_m = 450$ nm). Los diodos emisores de luz se utilizan en fotómetros sencillos y otros detectores fotométricos como los que se describen en la sección 13D.1.

En los años recientes, las técnicas de fabricación de semiconductores han avanzado al grado de que facilitan la fabricación de dispositivos integrados muy complejos, tal como el diodo láser reflector de Bragg distri-

buido que se muestra en la figura 7.9. Este dispositivo contiene un diodo de unión *pn* de arseniuro de galio que produce radiación infrarroja a casi 975 nm. Además, en el circuito integrado se incluye una banda de material que funciona como una cavidad de resonancia para la radiación, de modo que la amplificación de la luz ocurre dentro de ella. Una retícula o red proporciona retroalimentación a la cavidad de resonancia de modo que la radiación resultante es de un ancho de banda extremadamente angosto, a saber, de alrededor de 10^{-5} nm. Los diodos láser de este tipo han logrado salidas de potencia continua de más de 100 mW con una estabilidad térmica característica de 0.1 nm/°C. Los diodos láser funcionan en el modo de impulsos o de onda continua, lo cual aumenta su versatilidad en diversas aplicaciones. Su rápido perfeccionamiento es el resultado de su utilidad como fuentes de luz en aparatos reproductores de discos compactos de audio, en unidades de CD-ROM, en reproductores de DVD, en los lectores de códigos de barras y otros dispositivos optoelectrónicos, y su producción en masa asegura que su costo seguirá en descenso.

Un gran obstáculo para el uso de los diodos láser en las aplicaciones espectroscópicas es que su intervalo de longitudes de onda está limitado a las regiones del rojo y del infrarrojo del espectro. Esta desventaja se puede subsanar operando el diodo láser en el modo de pulsos para lograr una potencia máxima suficiente con la que se pueda usar equipo óptico no lineal con el fin de proporcionar una frecuencia duplicada, como se puede ver en la figura 7.10. En este caso, la salida de un diodo láser se enfoca en un cristal duplicador para proporcionar una salida en la región azul-verde del espectro (~ 490 nm). Con equipo óptico externo adecuado, los diodos láser con frecuencia duplicada pueden alcanzar potencias de salida promedio de 0.5 a 1.0 W con un intervalo de espectro sintonizable de alrededor de 30 nm. Dichas fuentes de luz tienen como ventajas que son compactas, eficientes en cuanto a potencia, poseen alta confiabilidad y constitución fuerte. La adición de instrumentos ópticos externos al diodo láser

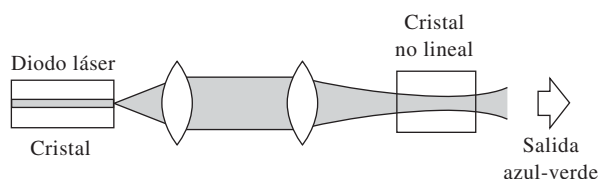


FIGURA 7.10 Un sistema de frecuencia duplicada para convertir la salida del láser de 975 nm en una de 490 nm. (Tomado de D. W. Nam y R. G. Waarts, *Laser Focus World*, **1994**, 30 (8), p. 52. Reimpreso con autorización de PennWell Publishing Company.)

aumenta mucho el costo de los instrumentos, pero son competitivos con los rayos láser de gas menos confiables, menos efectivos y más grandes.

Los diodos láser de nitruro de galio producen directamente radiación en la región azul, verde y amarilla del espectro.⁸ Ahora son de uso rutinario en los estudios espectroscópicos.

La utilidad de los diodos láser en las aplicaciones espectroscópicas está demostrada en la espectrometría de absorción molecular, espectrometría de fluorescencia molecular, espectrometría de absorción atómica y como fuentes de luz para detectores en varios métodos cromatográficos. Los adelantos recientes en la técnica de los diodos láser fueron estimulados por los consumidores que demandan reproductores de DVD de alta velocidad y alta capacidad, y el resultado es la disponibilidad de diodos láser azules con potencias de salida de hasta 50 mW a 473 nm. Estas fuentes de luz se pueden ver ya en sistemas espectrométricos comerciales.

Efectos ópticos no lineales con los rayos láser

Ya se hizo notar en la sección 6B.7 que cuando una onda electromagnética se transmite a través de un medio dieléctrico⁹ el campo electromagnético de la radiación ocasiona distorsión o polarización momentánea de los electrones de valencia de las moléculas que constituyen el medio. En cuanto a la radiación ordinaria, el grado de polarización P es directamente proporcional a la magnitud del campo eléctrico E de la radiación. Por consiguiente, es posible escribir

$$P = \alpha E$$

donde α es la constante de proporcionalidad. Se dice que los fenómenos ópticos que ocurren cuando esta situación prevalece son *lineales*.

A las altas intensidades de radiación que se encuentran en los rayos láser, esta relación deja de funcio-

nar, en particular cuando E se aproxima a la energía de enlace de los electrones. En estas circunstancias, se observan los efectos ópticos no lineales, y la relación entre la polarización y el campo eléctrico es

$$P = \alpha E + \beta E^2 + \gamma E^3 + \dots \quad (7.1)$$

donde las magnitudes de las tres constantes están en el orden $\alpha > \beta > \gamma$. A intensidades de radiación ordinaria, sólo el primer término de la derecha es significativo, por lo que la relación entre la polarización y la intensidad del campo es lineal. No obstante, con los rayos láser de alta intensidad, se requiere el segundo término y, a veces, hasta el tercero para describir el grado de polarización. Cuando se necesitan sólo dos términos, la ecuación 7.1 se puede expresar en función de la frecuencia de radiación ω y la amplitud máxima de la intensidad del campo E_m . Entonces,

$$P = \alpha E_m \sin \omega t + \beta E_m^2 \sin^2 \omega t \quad (7.2)$$

Al sustituir la identidad trigonométrica $\sin^2 \omega t = (1 - \cos 2\omega t)/2$ en la ecuación 7.2 se tiene

$$P = \alpha E_m \sin \omega t + \frac{\beta E_m^2}{2} (1 - \cos 2\omega t) \quad (7.3)$$

El primer término de la ecuación 7.3 es el término normal lineal que predomina a intensidades de radiación bajas. A intensidad suficientemente alta, el término de segundo orden se vuelve significativo y resulta en radiación cuya frecuencia es 2ω que es el *doble* de la radiación incidente. Este proceso para duplicar la frecuencia se utiliza ahora ampliamente para producir frecuencias láser de longitudes de onda más cortas. Por ejemplo, la radiación de 1064 nm del infrarrojo cercano proveniente de un rayo láser Nd-YAG se puede duplicar a menudo para producir un rendimiento de 30% de radiación verde a 532 nm al pasar la radiación a través de un material cristalino como el fosfato diácido de potasio. La radiación de 532 nm se puede duplicar una vez más para producir radiación UV a 266 nm al pasar a través de un cristal de fosfato diácido de amonio.

La radiación láser se usa en varios tipos de espectroscopía no lineal, sobre todo en la espectroscopía Raman (véase la sección 18D.3).

7C SELECTORES DE LONGITUD DE ONDA

La mayor parte de análisis espectroscópicos requiere radiación que consiste de un grupo de longitudes de onda limitadas, angostas y continuas llamadas *banda*.¹⁰

⁸G. Fasol, *Science*, **1996**, 272, p. 1751.

⁹Los dieléctricos son una clase de sustancias que no son conductoras porque no contienen electrones libres. En general, los dieléctricos son ópticamente transparentes en contraste con los sólidos conductores, los cuales absorben radiación o la reflejan con fuerza.

¹⁰Tome en cuenta que el término *banda* en este contexto tiene un significado algo distinto del que se usa al describir los tipos de espectros en el capítulo 6.

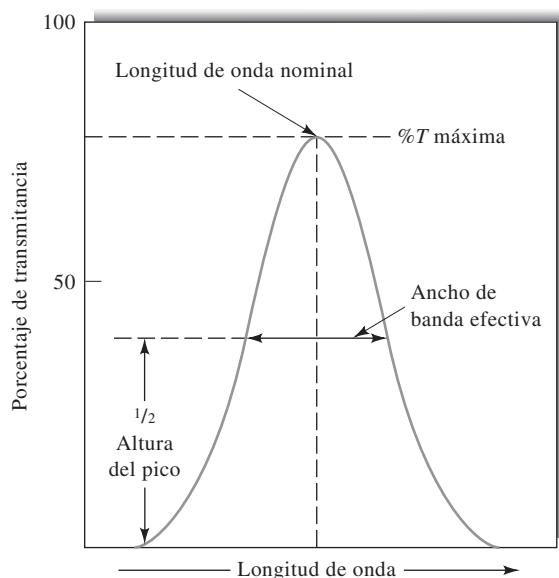


FIGURA 7.11 Salida de un selector característico de longitud de onda.

Un ancho de banda angosto intensifica la sensibilidad de las medidas de absorbancia, puede proporcionar selectividad tanto a los métodos de emisión como a los de absorción y se le requiere a menudo para obtener una relación lineal entre la señal óptica y la concentración (ecuación 6.29). Idealmente, la salida desde un selector de longitud de onda sería radiación de una sola longitud de onda o frecuencia. Ningún selector de longitud de onda real se aproxima a este ideal; lo que se obtiene es una banda como la que se ve en la figura 7.11. En este caso, el porcentaje de radiación incidente de una longitud de onda dada que transmite el selector se grafica en función de la longitud de onda. El *ancho de banda efectivo*, que se define en la figura 7.11, es una medida inversa de la calidad del dispositivo, un ancho de banda más angosto representa un mejor rendimiento. Hay dos tipos de selectores de longitud de onda: filtros y monocromadores.

7C.1 Filtros

Se usan dos tipos de filtros para seleccionar la longitud de onda, a saber, *filtros de interferencia*, los cuales a veces reciben el nombre de *filtros de Fabry-Perot* y los *filtros de absorción*. Estos últimos están restringidos a la región visible del espectro; en cambio, los primeros funcionan en la región UV, visible e infrarroja.

Filtros de interferencia

Como su nombre lo indica, los filtros de interferencia dependen de la interferencia óptica para proporcionar

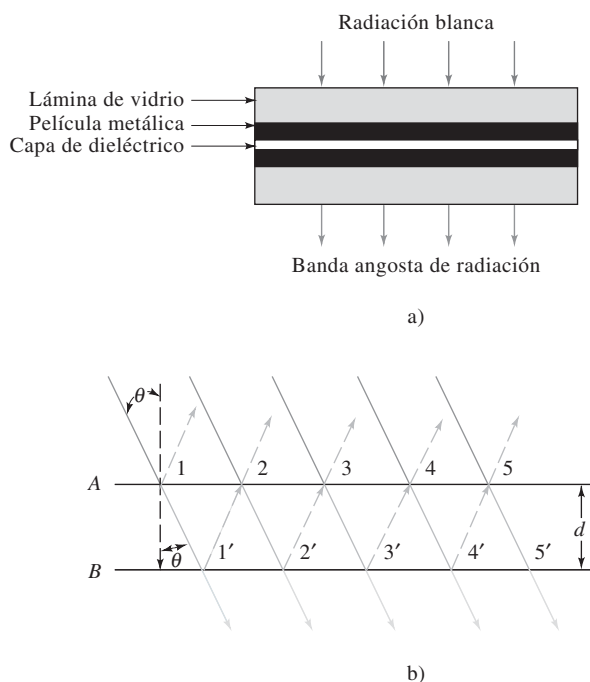


FIGURA 7.12 a) Sección transversal esquemática de un filtro de interferencia. Observe que el dibujo no está a escala y que las tres bandas del centro son mucho más angostas que las que se muestran. b) Esquema para mostrar las condiciones de la interferencia constructiva.

bandas angostas de radiación. Un filtro de interferencia consiste en un dieléctrico transparente, a menudo fluoruro de calcio o fluoruro de magnesio, que ocupa el espacio entre dos películas metálicas semitransparentes. Esta combinación, a su vez, está entre dos láminas de vidrio o de otros materiales transparentes (véase la figura 7.12a). El espesor de la capa dieléctrica se controla con todo cuidado y se determina la longitud de onda de la radiación transmitida. Cuando un haz perpendicular de radiación colimada choca con este acomodo, una fracción atraviesa la primera capa metálica y el resto se refleja. La parte que atraviesa sufre una división similar al chocar con la segunda capa metálica. Si la porción reflejada de esta segunda interacción tiene una longitud de onda apropiada, es reflejada parcialmente desde el lado interior de la primera capa en fase con la luz entrante que tiene la misma longitud de onda. El resultado es que esta longitud de onda particular se refuerza, y la mayor parte de las otras longitudes de onda, que están fuera de fase, sufren una interferencia destructiva.

La relación entre el espesor de la capa de dieléctrico d y la longitud de onda transmitida λ se puede determinar con ayuda de la figura 7.12b. Con el fin de aclarar conceptos, el haz incidente se muestra inclinado un ángulo θ respecto a la perpendicular a la superficie del dieléctrico. En el punto 1, la radiación es



Clases interactivas: aprenda más acerca de los **selectores de longitud de onda**.

reflejada en forma parcial y transmitida también en parte al punto 1' donde tienen lugar de nuevo la reflexión y la transmisión parciales. El mismo proceso sucede en 2, 2', y así sucesivamente. Para que el refuerzo ocurra en el punto 2, la distancia que recorre el haz reflejado en 1' debe ser un múltiplo de su longitud de onda en el medio λ' . Puesto que la longitud de la trayectoria entre las superficies se puede expresar como $d/\cos \theta$, la condición para el refuerzo es que

$$n\lambda' = 2d/\cos \theta$$

donde n es un número entero pequeño, λ' es la longitud de onda de la radiación en el dieléctrico y d es el espesor de éste.

En el uso ordinario, θ se aproxima a cero y $\cos \theta$ se aproxima a la unidad, de modo que la ecuación anterior se simplifica y queda

$$n\lambda' = 2d \quad (7.4)$$

La longitud de onda correspondiente en el aire está definida por

$$\lambda = \lambda' n$$

donde n es el índice de refracción del medio dieléctrico. Por consiguiente, las longitudes de onda de la radiación que transmite el filtro son

$$\lambda = \frac{2dn}{n} \quad (7.5)$$

El entero n es el *orden* de interferencia. A menudo, las láminas de vidrio del filtro se seleccionan para que absorban todas menos una de las bandas reforzadas; por tanto, la transmisión se restringe a un solo orden.

En la figura 7.13 se ilustran las características de desempeño de los filtros de interferencia representativos. Lo que caracteriza a dichos filtros es la longitud de onda de sus picos de transmitancia, el porcentaje de la radiación incidente transmitida en el pico, es decir, su *porcentaje de transmitancia*, ecuación 6.31, y sus anchos de banda efectivos.

Hay filtros de interferencia con picos de transmisión en la totalidad de las regiones UV y visible y hasta alrededor de $14 \mu\text{m}$ en el infrarrojo. Casi siempre, los anchos de bandas efectivos son de alrededor de 1.5% de la longitud de onda en la transmitancia pico, aunque este valor disminuye a 0.15% en algunos filtros de banda angosta, cuya transmitancia máxima es de 10 por ciento.

Interferómetro de Fabry-Perot

Otro instrumento importante que se basa en la interferencia es el *interferómetro de Fabry-Perot*. Este dispositivo consta de una lámina de material transparente con caras exactamente paralelas revestidas con un material no absorbente y de gran reflexión. Otra posibilidad es un separador de espesor determinado hecho de

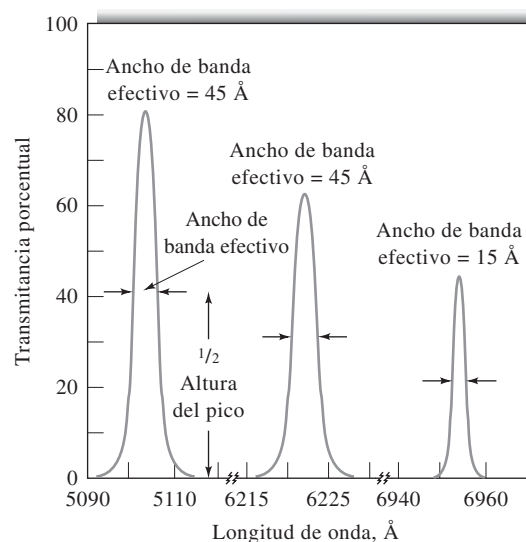


FIGURA 7.13 Características de transmisión de los filtros de interferencia representativos.

invar o de cuarzo, también con caras paralelas, que se coloca entre dos espejos para formar el interferómetro. El ancho de banda del dispositivo está determinado por la reflectividad de los revestimientos o espejos, y la distancia entre los espejos define la separación de las bandas transmitidas. El interferómetro se puede inclinar para hacer variar la banda que se transmite. Si las superficies reflectoras están configuradas con una capa de aire entre ellas de modo que su separación se pueda ajustar en forma mecánica, el instrumento se denomina *interferómetro de Fabry-Perot*.¹¹ Este tipo de interferómetro se usa ampliamente en los experimentos de rayos láser, espectroscopía y en las comunicaciones con fibra óptica para separar bandas de frecuencia.

Cuñas de interferencia

Una cuña de interferencia es un par de láminas similares a espejos, parcialmente transparentes, que están separadas por una capa en forma de cuña de un material dieléctrico. El largo de las láminas va de 50 a 200 mm. La longitud de onda de la radiación transmitida varía en forma continua desde un extremo hasta el otro cuando cambia el espesor de la cuña. Al seleccionar la posición lineal apropiada a lo largo de la cuña se puede aislar un ancho de banda de casi 20 nm.

Hay cuñas de interferencia para la región visible (400 a 700 nm), la región del infrarrojo cercano (1000 a 2000 nm) y para varias partes de la región infrarroja (2.5 a $14.5 \mu\text{m}$). Se pueden usar en lugar de los prismas o redes en los monocromadores.

¹¹ J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 78-81, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988.

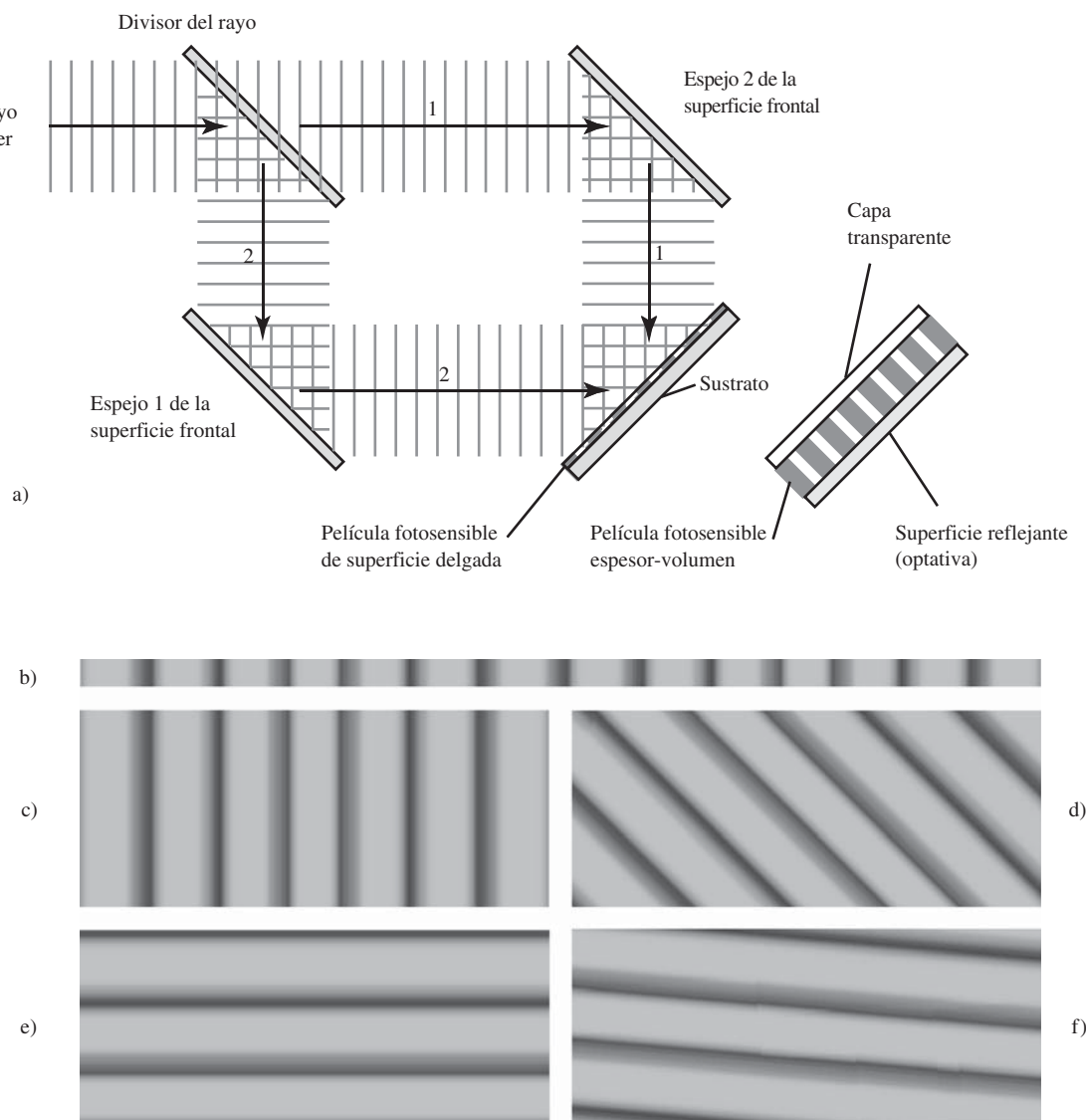


FIGURA 7.14 a) Disposición experimental para fabricar hologramas. Un rayo láser se divide en dos haces, los cuales son dirigidos por espejos para recombinarse en la superficie de una película fotosensible. El aparato que se muestra se usa para producir redes de reflexión holográficas. Al reemplazar el objeto de la superficie con una película fotosensible espesor-volumen que se muestra a la derecha, se origina un holograma de transmisión de volumen. b) Patrón de interferencia en la superficie de la película fotosensible, el cual produce un patrón correspondiente del índice de refracción sobre la película. c) Patrón de franjas sin inclinación. d) Patrón de franjas inclinado. e) Patrón de franjas ajustado producido al colocar un espejo en la superficie posterior de una película espesor-volumen. f) Patrón de franjas no ajustado.

Filtros holográficos

Los dispositivos ópticos holográficos y, en particular, los filtros¹² holográficos están entre un repertorio creciente de instrumentos y materiales ópticos que son el resultado de la amplia disponibilidad de la técnica láser. En la figura 7.14a se presenta el diagrama de un

acomodo experimental característico para producir hologramas. La radiación coherente de un rayo láser choca contra un divisor de rayos, y ahí el haz se divide en dos, el 1 y el 2, que se muestran en la figura. Los dos rayos adquieren una nueva dirección mediante los dos espejos de la superficie frontal y se recombinan en la superficie de la película fotosensible fina (10–50 μm). Puesto que los dos rayos mutuamente coherentes

¹²J. M. Tedesco *et al.*, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 441A.

tienen una relación fase-intensidad fija, producen un patrón de interferencia en extremo uniforme de barras luminosas y oscuras, o franjas, en la superficie de la película, como se ilustra en la figura 7.14b. Estas franjas de interferencia sensibilizan la película, la cual es una capa de emulsión fotográfica o de un polímero fotorresistivo, de modo que las áreas sensibilizadas se pueden revelar o se pueden eliminar disolviéndolas, lo que deja una estructura en bajorrelieve en la superficie del sustrato. Esta estructura se recubre con aluminio o con otro material reflector para producir una *red de reflexión holográfica*. Las características y usos de las redes se describen en forma minuciosa en la sección 7C.2.

Un segundo tipo de aparato holográfico que se puede fabricar de modo similar es el *holograma de transmisión de volumen*. Estos dispositivos se forman dentro de una capa gruesa ($>100\ \mu\text{m}$) de material fotosensible que se coloca entre dos capas transparentes, como se muestra a la derecha en la figura 7.14a. El sistema se sitúa en el plano de intersección de los dos rayos láser como antes, y las franjas de interferencia se forman en todo el volumen de la capa de la película y no sólo en su superficie. Cuando los dos rayos se cortan en ángulos iguales respecto a la normal de la superficie de la película, se forma dentro de ésta un patrón en franjas modulado en forma sinusoidal, como el que se ilustra en la figura 7.14c, y el volumen total de la película se sensibiliza con dicho patrón. Para “fijarlo”, la película se revela, lo cual produce un patrón correspondiente de variación del índice de refracción dentro del material de la película. Si el ángulo de incidencia de los dos rayos se hace asimétrico respecto a la normal

de la película, el patrón resultante de la modulación del índice de refracción puede estar inclinado, como se observa en la figura 7.14d. Si se controla la longitud de onda del rayo láser y el ángulo de incidencia del haz, la frecuencia de la modulación del índice de refracción se podría adaptar a las condiciones del dispositivo. Estos equipos se usan también como redes y como filtros para eliminar radiación indeseable, como líneas de plasma y bandas laterales de la radiación del rayo láser.

Tal vez el dispositivo holográfico más útil se obtiene cuando la cara posterior transparente de la película gruesa se reemplaza con un espejo, y la película se ilumina con un solo rayo láser. El haz penetra la superficie frontal de la película, se refleja desde la interfase entre la parte posterior de la película y el espejo, y forma un patrón de interferencia dentro de la película que es paralelo a la cara, como se ilustra en la figura 7.14e. Estos dispositivos se llaman *hologramas de reflexión ajustados*, y sus características los hacen casi ideales para usarlos en los *filtros de muesca o de ranura*. Las características de transmisión de un filtro holográfico de ranura típico se comparan con las de un filtro de interferencia dieléctrico en la figura 7.15a. Observe que el filtro holográfico proporciona transmisión plana en extremo en todas las longitudes de onda, excepto en la ranura, donde bloquea más de 99.99% de la radiación incidente, que corresponde a una densidad óptica (absorbancia) de 4. El ancho de banda efectivo del filtro es menor que 10 nm y su ancho de margen, o intervalo de longitud de onda a lo largo del cual su densidad óptica varía de 0.3 a 4, es menor que 4 nm. En la figura

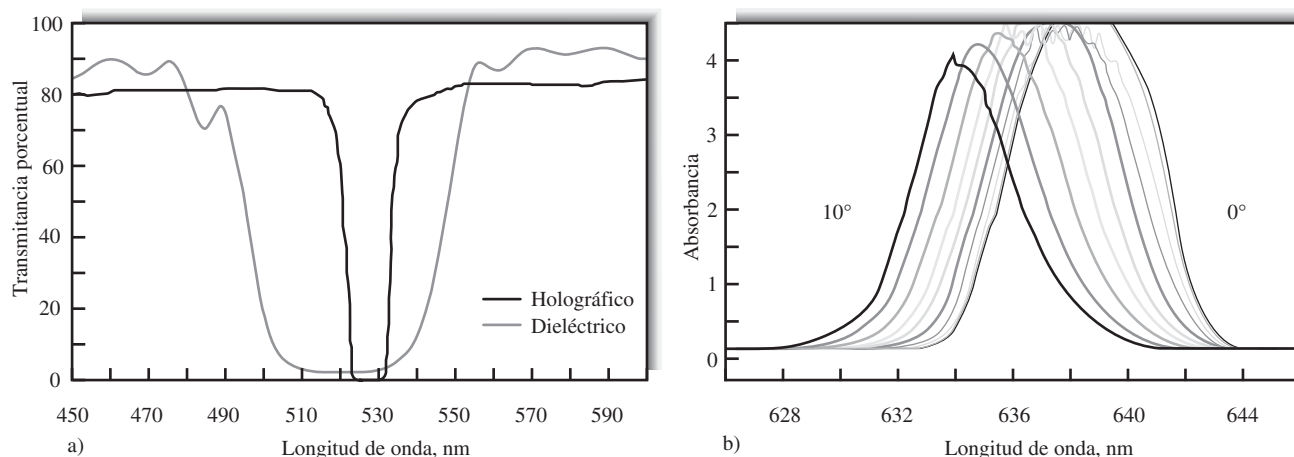


FIGURA 7.15 a) Comparación de los anchos de banda de un filtro holográfico de ranura representativo y un filtro de interferencia. b) Sintonización por inclinación de un filtro holográfico de ranura mediante incrementos de 1° a partir de la perpendicular respecto al rayo láser incidente. A la banda de rechazo se le pueden aplicar ajustes finos modificando el ángulo del filtro de ranura respecto al rayo láser. (Cortesía de Kaiser Optical Systems, Inc., Ann Arbor, MI, con autorización.)

7.15b se muestra cómo la banda de rechazo de un filtro de ranura se puede sintonizar con precisión inclinando respecto a la radiación entrante. Estos filtros están disponibles en una gran variedad de dimensiones y de bandas de rechazo sintonizadas con las líneas láser más comunes en el intervalo de 350 a 1400 nm. La disponibilidad comercial de los filtros de ranura holográficos ha iniciado una revolución en la espectroscopia Raman (véase sección 18B.3) al eliminar de manera virtual la necesidad de costosos monocromadores dobles de alta resolución en los trabajos de rutina. Las características de modulación del índice de refracción de elementos ópticos holográficos *no ajustados* se muestran en la figura 7.14f. Como hay cierta modulación del índice de refracción en la superficie del dispositivo, actúa en un principio como filtro de ranura y como red.

Filtros de absorción

Estos filtros, que son casi siempre más baratos que los de interferencia, se usan ampliamente para la selección de bandas en la región visible. Su función es absorber porciones seleccionadas del espectro. El tipo más común consta de un vidrio coloreado o de un colorante suspendido en gelatina y colocado entre dos láminas de vidrio. Los filtros de vidrio coloreado tienen la ventaja de poseer una estabilidad térmica mayor.

Los anchos de banda efectivos de los filtros de absorción varían desde 30 a 250 nm (véanse las figuras 7.16 y 7.17). Los filtros que proporcionan los anchos de banda más angostos también absorben una fracción importante de la radiación deseada y podrían tener una transmitancia de 10% o menos en sus picos de banda. En el comercio se pueden conseguir filtros de

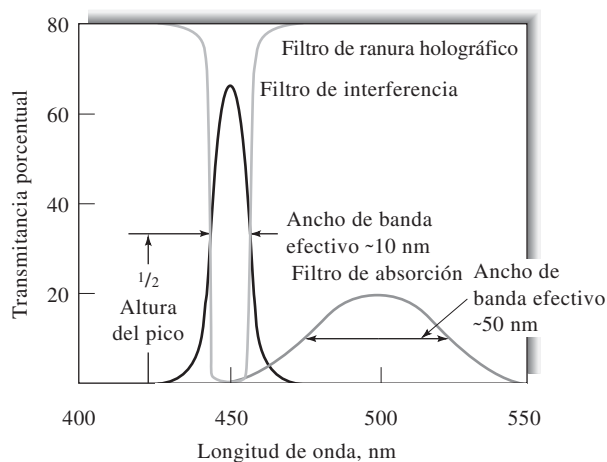


FIGURA 7.16 Anchos de banda efectivos para tres tipos de filtros.

vidrio con transmitancia máxima a través de toda la región visible.

La transmitancia de los *filtros de corte* es de casi 100% en una parte del espectro visible, pero luego disminuye con rapidez a una transmitancia de cero en el resto del espectro. Se puede aislar una banda angosta del espectro acoplando un filtro de corte a un segundo filtro (véase figura 7.17).

En la figura 7.16 se muestra que las características de desempeño de los filtros de absorción son muy inferiores a las de los filtros del tipo de interferencia. No sólo los anchos de banda de los primeros son mayores que los de los segundos, sino que también es menor la fracción de luz que transmiten para los anchos de banda angostos. Sin embargo, los filtros de absorción son adecuados en algunas aplicaciones.

7C.2 Monocromadores

En muchos métodos espectroscópicos se requiere variar en forma continua la longitud de onda de la radiación en un intervalo amplio. Este proceso se llama *barrido* del espectro; los monocromadores están diseñados para ejecutarlo. Todos los monocromadores para radiación ultravioleta, visible e infrarroja son similares en cuanto a su construcción mecánica porque usan ranuras, lentes, espejos, ventanas y redes o prismas. Los materiales a partir de los cuales se fabrican dichos componentes dependen de la región en donde se quieran utilizar (véase figura 7.2).

Componentes de los monocromadores

En la figura 7.18 se muestran los elementos ópticos que constituyen todos los monocromadores; entre dichos componentes están 1) una ranura o rendija de entrada que proporciona una imagen óptica rectangular; 2) una lente o espejo colimador que produce un haz paralelo de radiación; 3) un prisma o una red que

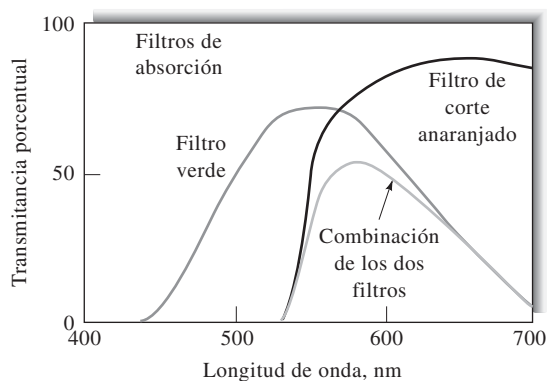


FIGURA 7.17 Comparación de varios tipos de filtros de absorción para radiación visible.

dispersa la radiación en las longitudes de onda que la componen; 4) un elemento de enfoque que reforma la imagen de la ranura de entrada y la enfoca sobre una superficie plana denominada *plano focal*, y 5) una rendija de salida en el plano focal que aísla la banda espectral deseada. Además, la mayoría de los monocromadores posee ventanas de entrada y de salida diseñadas para proteger a los componentes del polvo y las emisiones corrosivas del laboratorio.

Como se muestra en la figura 7.18, hay dos tipos de elementos dispersores en los monocromadores, a saber, redes y prismas de reflexión. Para ilustrar su función, se ilustra un haz formado justamente por dos longitudes de onda λ_1 y λ_2 ($\lambda_1 > \lambda_2$). Esta radiación entra en el monocromador por medio de una abertura rectangular angosta o *rendija*; se alinea, y luego choca contra la superficie del elemento dispersor a un cierto ángulo. En el monocromador de red, la dispersión angular de las longitudes de onda es el resultado de la difracción, la cual se presenta en la superficie reflectora; en cuanto al prisma, la refracción en las dos caras da como resultado una dispersión angular de la radiación, como se muestra. En ambos diseños, la radiación dispersada se enfoca en el plano focal *AB* donde aparece como dos imágenes rectangulares de la rendija de

entrada, una para λ_1 y otra para λ_2 . Al girar el elemento dispersor, una banda o la otra se puede enfocar en la rendija de salida.

Los monocromadores antiguos eran casi todos instrumentos con prismas. En la actualidad, casi todos los que están disponibles en el comercio se basan en redes de reflexión porque son más baratas de fabricar, proporcionan mejor separación de longitudes de onda que un elemento dispersor del mismo tamaño y dispersan la radiación en forma lineal a lo largo del plano focal. Como se puede ver en la figura 7.19a, dispersión lineal quiere decir que la posición de una banda a lo largo del plano focal para una red varía en forma lineal con su longitud de onda. Por lo que se refiere a los instrumentos con prismas, las longitudes de onda más pequeñas se dispersan a un grado mayor que las más grandes, lo cual complica el diseño del instrumento. La dispersión no lineal de dos tipos de monocromadores de prismas se ilustra en la figura 7.19b. Debido a su uso más general, el análisis se enfocará principalmente en el estudio de los monocromadores de red.



Ejercicio: aprenda más acerca de los **monocromadores**.

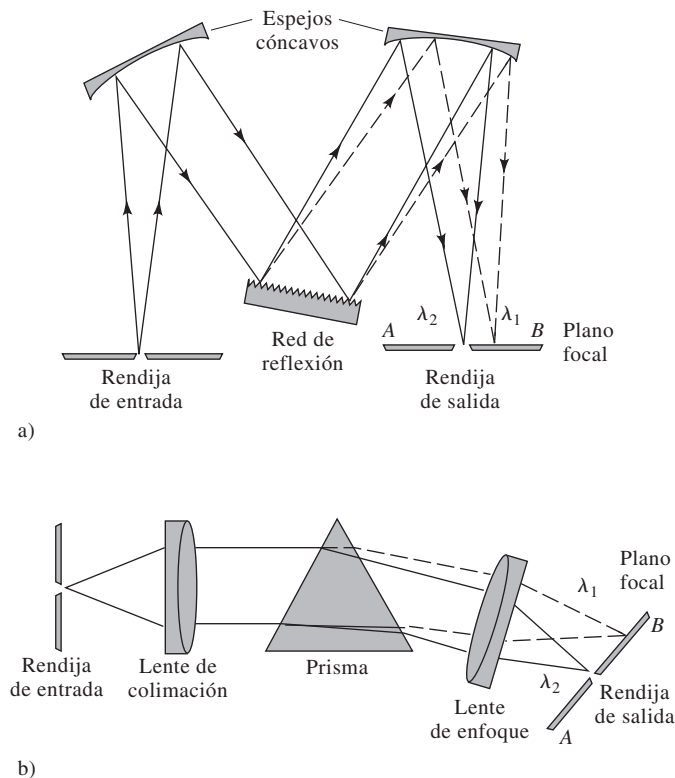


FIGURA 7.18 Dos tipos de monocromadores: a) monocromador Czerney-Turner de red y b) monocromador Bunsen de prisma. (En ambos, $\lambda_1 > \lambda_2$.)

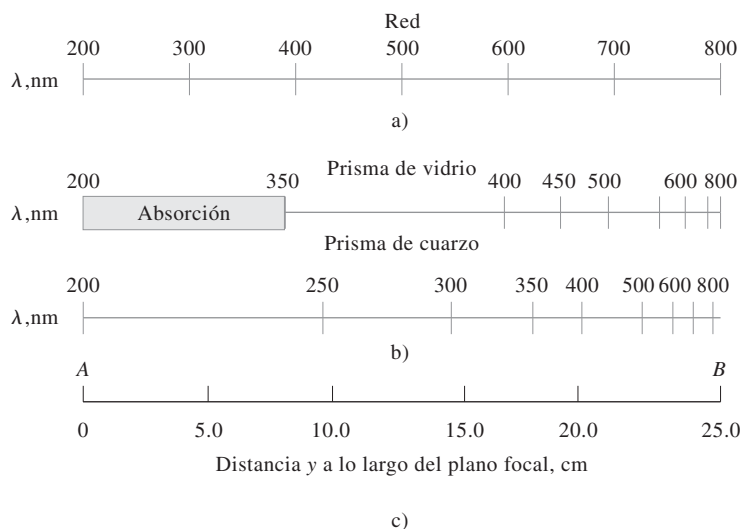


FIGURA 7.19 Dispersión en tres tipos de monocromadores. Los puntos A y B en la escala en c) corresponden a los puntos que se muestran en la figura 7.18.

Monocromadores de prisma

Los prismas se pueden utilizar para dispersar radiación UV, visible e infrarroja. El material que se usa para construirlos es distinto, pues depende de la región de longitud de onda (véase figura 7.2b).

En la figura 7.20 se muestran los dos tipos más comunes de diseño de prismas. El primero es un prisma de 60° , el cual se fabrica por lo regular a partir de una sola pieza de material. Si el material de construcción es cuarzo cristalino, pero no fundido, el prisma se forma pegando dos prismas de 30° , como se ilustra en la figura 7.20a. Uno se fabrica con cuarzo dextrógiro y el otro con cuarzo levógiro. De esta manera, el cuarzo ópticamente activo no causa polarización neta de la radiación emitida; este tipo de prisma se denomina *prisma Cornu*. En la figura 7.18b se muestra un *monocromador Bunsen* el cual contiene un prisma de 60° , casi siempre hecho de cuarzo.

Como se puede ver en la figura 7.20b, el *prisma Littrow*, que permite diseños de monocromadores más compactos, es un prisma de 30° con una parte posterior pulimentada. La refracción en este tipo de prisma tiene lugar dos veces en la misma interfase de modo que las características de rendimiento son similares a las de un prisma de 60° en un ensamble tipo Bunsen.

Monocromadores de red

La dispersión de la radiación ultravioleta, visible e infrarroja se puede lograr dirigiendo un haz policromático a través de una *red de transmisión* o sobre la superficie de una *red de reflexión*. La segunda es, por mucho, la opción más común. Las *redes réplica*, que se usan en la mayor parte de los monocromadores, se

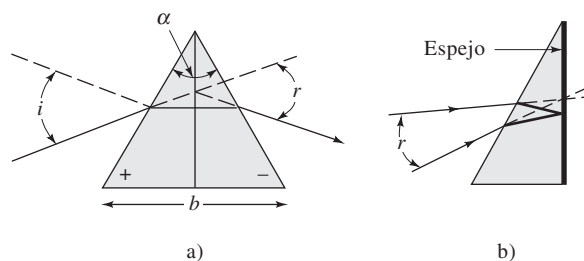


FIGURA 7.20 Dispersión mediante un prisma: a) tipo Cornu de cuarzo y b) tipo Littrow.

manufacturan a partir de una *red maestra*.¹³ Ésta es una superficie dura, ópticamente plana, pulimentada con una gran cantidad de hendiduras paralelas muy cercanas entre sí, hechas con una herramienta de diamante. Una vista de una sección transversal ampliificada de algunas hendiduras representativas se muestra en la figura 7.21. Una red para la región UV y visible tiene casi siempre de 300 a 2000 hendiduras/mm, y lo más común son 1200 a 1400. En la región del infrarrojo, las redes tienen 10 a 200 hendiduras/mm; en cuanto a los espectrofotómetros diseñados para el intervalo del infrarrojo más ampliamente usado de 5 a $15\ \mu\text{m}$, es aceptable una red de alrededor de 100 hendiduras/mm. La manufactura de una buena red maestra es tediosa, requiere mucho tiempo y es cara porque

¹³ Un trabajo interesante y con mucha información acerca de la manufactura, prueba y características del funcionamiento de las redes es *Diffraction Grating Handbook*, 6a. ed., Irvine, CA: Newport Corp., 2005 (www.newport.com). Si desea una perspectiva histórica de la importancia de las redes en el avance de la ciencia refiérase a A. G. Ingalls, *Sci. Amer.*, **1952**, 186 (6), p. 45.

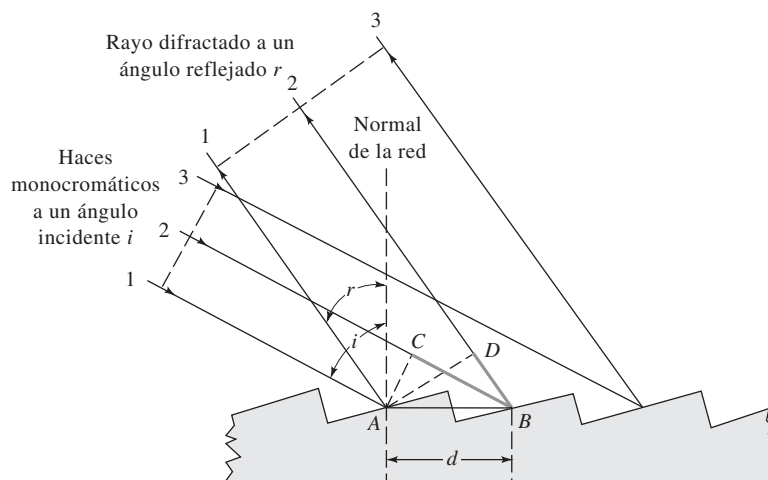


FIGURA 7.21 Mecanismos de difracción de una red tipo escalerilla.

las hendiduras tienen que ser de tamaño idéntico, exactamente paralelas y la separación entre ellas debe ser la misma en toda la red (3 a 30 centímetros).

Las redes réplica se forman a partir de una red maestra por medio de un proceso de vaciado con resina líquida con lo que se conserva virtualmente perfecta la exactitud óptica de la red original sobre una superficie de resina transparente. Por lo regular, esta superficie se hace reflectora mediante un revestimiento de aluminio o, a veces, de oro o de platino.

Red de escalerilla. En la figura 7.21 se presenta un esquema de una *red de difracción de escalerilla*, a la cual se le hacen hendiduras o marcas de tal modo que tiene caras relativamente anchas desde las cuales hay reflexión y caras angostas que no se usan. Esta geometría proporciona una difracción de la radiación muy efectiva, y la función de las marcas es concentrar la radiación en una dirección preferida.¹⁴ Cada una de las caras anchas se puede considerar como una fuente de líneas de radiación perpendicular al plano de la página; por consiguiente, puede haber interferencia entre los rayos reflejados 1, 2 y 3. Para que la interferencia sea constructiva se requiere que las longitudes de la trayectoria difieran por un múltiplo entero n de la longitud de onda λ del rayo incidente.

En la figura 7.21 se muestran rayos paralelos de radiación monocromática 1 y 2 al chocar con la red a un ángulo incidente i respecto a la *normal de la red*. Se muestra la interferencia constructiva máxima que ocurre a un ángulo reflejado r . El rayo 2 viaja una distancia mayor que el rayo 1, y la diferencia en las trayectorias es igual a $(\overline{CB} + \overline{BD})$ (se muestra como una

línea gris en la figura). Para que la interferencia constructiva suceda, esta diferencia debe ser igual a $n\lambda$. Es decir,

$$n\lambda = (\overline{CB} + \overline{BD})$$

donde n , un número entero pequeño, recibe el nombre de *orden* de difracción. Observe que el ángulo CAB es igual al ángulo i y que el ángulo DAB es idéntico al ángulo r . Por tanto, de acuerdo con las identidades trigonométricas, es posible plantear

$$\overline{CB} = d \sin i$$

donde d es la separación entre las superficies reflectoras. También se puede ver que

$$\overline{BD} = d \sin r$$

La sustitución de las dos últimas expresiones en la primera proporciona la condición para la interferencia constructiva. Por consiguiente,

$$n\lambda = d (\sin i + \sin r) \quad (7.6)$$

La ecuación 7.6 hace pensar que hay varios valores de λ para un ángulo de difracción dado r . Entonces, si una línea de primer orden ($n = 1$) de 900 nm se encuentra en r , también aparecen en este ángulo líneas de segundo orden (450 nm) y de tercer orden (300 nm). Por lo regular, la línea de primer orden es la más intensa; de hecho, es posible diseñar redes con ángulos marcados y formas que concentran hasta 90% de la intensidad incidente en este orden. En general, los filtros pueden eliminar las líneas de orden superior. Por ejemplo, el vidrio, que absorbe radiación por abajo de 350 nm, elimina los espectros de orden superior asociados con la radiación de primer orden en la mayor

¹⁴J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 66, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988.

parte de la región visible. Con el ejemplo siguiente se ilustran estos puntos.

EJEMPLO 7.1

Una red de difracción que contiene 1450 marcas/mm fue irradiada con un haz policromático a un ángulo incidente de 48° respecto a la normal de la red. Calcule las longitudes de onda de la radiación que aparecería a un ángulo de reflexión de $+20^\circ$, $+10^\circ$ y 0° (ángulo r , figura 7.21).

Solución

Para obtener d en la ecuación 7.6 se escribe

$$d = \frac{1 \text{ mm}}{1450 \text{ marcas}} \times 10^6 \frac{\text{nm}}{\text{mm}} = 689.7 \frac{\text{nm}}{\text{marca}}$$

Cuando r en la figura 7.21 es igual a $+20^\circ$,

$$\lambda = \frac{689.7 \text{ nm}}{n} (\sin 48 + \sin 20) = \frac{748.4}{n} \text{ nm}$$

y las longitudes de onda para las reflexiones de primero, segundo y tercer orden son 748, 374 y 249 nm, respectivamente.

Los cálculos posteriores de una clase similar dan los siguientes datos:

$r, ^\circ$	λ, nm		
	$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$
20	748	374	249
10	632	316	211
0	513	256	171

Redes cóncavas. Las redes se pueden formar sobre una superficie cóncava de la misma manera que en una superficie plana. Una red cóncava facilita el diseño de un monocromador sin espejos o lentes auxiliares colimadores y de enfoque porque la superficie cóncava además de dispersar la radiación la enfoca en la rendija de salida. Esta disposición ofrece ventajas respecto al costo; además, la reducción en la cantidad de superficies ópticas aumenta la energía en la totalidad del monocromador que contiene una red cóncava.

Redes holográficas.¹⁵ Estas redes están presentes cada vez más en los instrumentos ópticos modernos, incluso en los más baratos. Las redes holográficas, debido a su mayor perfección con respecto a la forma y las dimensiones de las líneas, proporcionan espectros que care-

cen relativamente de radiación parásita y fantasmas, es decir, de imágenes dobles.

En la preparación de las redes holográficas, los haces provenientes de un par de rayos láser idénticos son dirigidos con ciertos ángulos aceptables sobre una superficie de vidrio preparada con un recubrimiento fotográfico. Las franjas de interferencia resultantes provenientes de los dos rayos sensibilizan el recubrimiento fotográfico de modo que puede ser disuelto, lo que deja una estructura en bajorrelieve que se puede cubrir con aluminio u otra sustancia reflectora para producir una red de reflexión. La separación de las hendiduras se puede modificar cambiando entre sí el ángulo de los dos rayos láser.

Como se explica en la sección 7C.1 y según se ilustra en la figura 7.14, las redes holográficas se producen al generar un patrón de interferencia en la superficie de una película delgada de material fotosensible, que se revela para proporcionar la estructura hendida de la red. Luego, ésta se cubre con una sustancia reflectora como aluminio. Con este procedimiento se pueden fabricar redes grandes ($\sim 50 \text{ cm}$) casi perfectas, de hasta 6000 líneas/mm a un costo relativamente bajo. Al igual que con las redes rayadas, se pueden obtener por vaciado redes réplica a partir de una red holográfica modelo. Al parecer, no hay prueba óptica que pueda distinguir entre una red modelo y una red holográfica reproducida.¹⁶

Características de desempeño de los monocromadores de red

La calidad de un monocromador depende de la pureza de su salida radiante, su aptitud para separar longitudes de onda adyacentes, su potencia para captar luz y su ancho de banda espectral. La última característica se estudia en la sección 7C.3.

Pureza del espectro. Por lo regular, el haz de salida de un monocromador está contaminado con pequeñas cantidades de radiación difundida o de radiación parásita cuyas longitudes de onda son muy diferentes de las de los parámetros del instrumento. Esta radiación indeseable proviene de varias fuentes. Entre ellas están las reflexiones del haz desde varias partes ópticas y el receptáculo del monocromador. La reflexión desde las partes ópticas es resultado de imperfecciones mecánicas, sobre todo en la red, originadas durante la manufactura. La difusión de las partículas de polvo en la atmósfera o en las superficies de las piezas ópticas también hace que la radiación parásita llegue a la rendija de salida. En general, los efectos de la radiación no

¹⁵Véase J. Flamand, A. Grillo y G. Hayat, *Amer. Lab.*, **1975**, 7 (5), p. 47; y J. M. Lerner et al., *Proc. Photo-Opt. Instrum. Eng.*, **1980**, 240, pp. 72, 82.

¹⁶I. R. Alteltmose, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. A221.

esencial se reducen al mínimo introduciendo mam-paras en puntos convenientes del monocromador y re-vistiendo las superficies interiores con pintura negra mate. Además, el monocromador se sella y lleva ven-tanas en las rendijas para evitar la entrada de polvo y vapores. A pesar de estas precauciones, todavía surge alguna radiación no esencial. Su presencia puede cau-sar graves efectos en las mediciones de absorción en ciertas condiciones.¹⁷

Dispersión de monocromadores de red. La aptitud de un monocromador para separar longitudes de onda distintas depende de su *dispersión*. La *dispersión an-gular* es $dr/d\lambda$, donde dr es el cambio en el ángulo de reflexión o de refracción al modificarse la longitud $d\lambda$. El ángulo r se define en las figuras 7.20 y 7.21.

La dispersión angular de una red se puede determi-nar derivando la ecuación 7.6 mientras i se mantiene constante. Entonces, en cualquier ángulo de incidencia,

$$\frac{dr}{d\lambda} = \frac{n}{d \cos r} \quad (7.7)$$

La *dispersión lineal* D se refiere a la variación en la longitud de onda en función de y , la distancia a lo largo de la línea AB de los planos focales, como se muestra en la figura 7.18. Si f es la distancia focal del monocro-mador, la dispersión lineal se puede relacionar con la dispersión angular mediante la relación

$$D = \frac{dy}{d\lambda} = \frac{f dr}{d\lambda} \quad (7.8)$$

Una medida más útil de la dispersión es la *dispersión lineal recíproca* D^{-1} que se define como sigue

$$D^{-1} = \frac{d\lambda}{dy} = \frac{1}{f} \frac{d\lambda}{dr} \quad (7.9)$$

Con frecuencia, las dimensiones de D^{-1} son nm/mm o Å/mm en la región UV-visible.

Al sustituir la ecuación 7.7 en la ecuación 7.9 se tie-ne la dispersión lineal recíproca para un monocroma-dor de red:

$$D^{-1} = \frac{d\lambda}{dy} = \frac{d \cos r}{nf} \quad (7.10)$$

Observe que la dispersión angular aumenta cuando la distancia d entre las rayas disminuye, cuando la canti-dad de líneas por milímetro aumenta o cuando la dis-tancia focal se incrementa. Con ángulos pequeños de

difracción ($>20^\circ$), $\cos r \approx 1$ y la ecuación 7.10 se vuelve aproximadamente

$$D^{-1} = \frac{d}{nf} \quad (7.11)$$

Entonces, para toda cuestión práctica, si el ángulo r es pequeño, la *dispersión lineal de un monocromador de red es constante*, una propiedad que simplifica en gran medida su diseño.

Potencia de resolución de los monocromadores. La *potencia de resolución* R de un monocromador descri-be el límite de su capacidad para separar las imágenes adyacentes que tienen una ligera diferencia en la lon-gitud de onda. En este caso, por definición

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \quad (7.12)$$

donde λ es la longitud de onda promedio de las dos imágenes y $\Delta\lambda$ es su diferencia. La potencia de resolu-ción de los monocromadores típicos UV-visible varía entre 10^3 a 10^4 .

Se puede demostrar¹⁸ que la potencia de resolución de una red está dada por la expresión

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = nN \quad (7.13)$$

donde n es el orden de difracción y N es la cantidad de marcas de la red iluminadas por la radiación desde la rendija de entrada. Por tanto, una mejor resolución es una característica de las redes más grandes, de las se-paraciones más pequeñas entre marcas y de los órde-nes de difracción superiores. Esta ecuación se aplica tanto a redes de escalerilla como de escalera (véase análisis más adelante).

Potencia de captación de luz de los monocromadores.

Para incrementar la relación señal/ruido de un espec-trómetro se requiere que la energía radiante que llega al detector sea lo más grande posible. El *número f F* o *velocidad*, proporciona una medida de la aptitud de un monocromador para captar la radiación que emerge de la rendija de entrada. El número f se define mediante

$$F = f/d \quad (7.14)$$

donde f es la distancia focal del espejo colimador, o de la lente colimadora, y d es su diámetro. La potencia para captar la luz de un dispositivo óptico aumenta con el inverso al cuadrado del número f . Por tanto, una lente $f/2$ capta cuatro veces más luz que una lente $f/4$. Los números f de muchos monocromadores están en el intervalo de 1 a 10.

¹⁷Un estudio sobre la detección, las mediciones y los efectos de la ra-diación parásita se encuentra en W. Kaye, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, p. 2201; M. R. Sharpe, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, p. 339A.

¹⁸J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 71-73, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988.

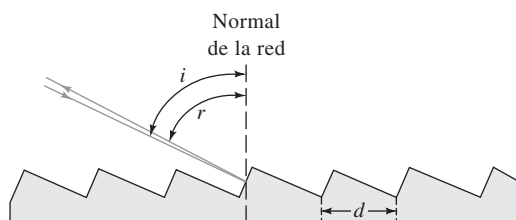


FIGURA 7.22 Red en escalera: i = ángulo de incidencia; r = ángulo de reflexión; d = separación de las hendiduras. En la práctica, $i \approx r = \beta = 63^\circ 26'$.

Monocromadores de escalera. Contienen dos elementos dispersores dispuestos en serie. El primero de ellos es un tipo especial de red de difracción llamada *red de escalera*. El segundo, que le sigue, es por lo regular un prisma de baja dispersión, o a veces una red. La red de escalera, que fue descrita por primera vez por G. R. Harrison en 1949, proporciona dispersión y resolución mayores que una red de escalerilla del mismo tamaño.¹⁹ En la figura 7.22 se muestra un corte transversal de una red de escalera típica. Difiere de la red de escalerilla de la figura 7.21 en varios aspectos. Primero, para alcanzar un elevado ángulo de incidencia, el ángulo de marca de una red de escalera es mucho más grande que el del dispositivo ordinario, y se usa el lado corto de la marca y no el largo. Además, la red es relativamente burda; tiene 300 o menos hendiduras por milímetro para la radiación UV o la visible. Tenga en cuenta que el ángulo de reflexión r es mayor en la red de escalera que en la red de escalerilla, y se aproxima al ángulo de incidencia i . Es decir,

$$r \approx i = \beta$$

En estas circunstancias, la ecuación de la red se transforma en

$$n\lambda = 2d \sin \beta \quad (7.15)$$

Con una red de escalerilla se obtiene alta dispersión o baja dispersión recíproca haciendo que el ancho de la hendidura d sea pequeña y la distancia focal f sea grande. Una distancia focal grande reduce la captación de luz y hace al monocromador grande y estorboso. En cambio, la red de escalera logra alta dispersión al hacer grandes tanto al ángulo β como al orden de difracción n . La dispersión lineal recíproca de un monocromador de escalera de distancia focal f es

TABLA 7.1 Comparación de las características de rendimiento de un monocromador ordinario y uno de escalera.

	Ordinario	De escalera
Distancia focal	0.5 m	0.5 m
Densidad de hendiduras	1200/mm	79/mm
Ángulo de difracción, β	$10^\circ 22'$	$63^\circ 26'$
Orden n (a 300 nm)	1	75
Resolución (a 300 nm), $\lambda/\Delta\lambda$	62 400	763 000
Dispersión lineal recíproca, D^{-1}	16 Å/mm	1.5 Å/mm
Potencia de captación de luz, F	$f/9.8$	$f/8.8$

Con autorización de P. E. Keliher y C. C. Wohlers, *Anal. Chem.*, **1976**, 48, p. 334A. Copyright 1976 American Chemical Society.

$$D^{-1} = \frac{d \cos \beta}{n f} \quad (7.16)$$

En la tabla 7.1 se proporcionan las características de desempeño de dos monocromadores representativos: uno con una red ordinaria de escalerilla y el otro con una red de escalera. Estos datos demuestran las ventajas de la red de escalera. Observe que para la misma distancia focal, la dispersión lineal y la resolución son un orden de magnitud mayor para la escalera; la potencia para la captación de luz de la escalera es también superior.

Uno de los problemas que surge con el uso de una red de escalera es que la dispersión lineal en órdenes altos de refracción es tan grande que para abarcar un intervalo razonablemente amplio del espectro es necesario usar muchos órdenes sucesivos. Por ejemplo, un instrumento diseñado para abarcar un intervalo de 200 a 800 nm usa órdenes de difracción de 28 a 118 (90 órdenes sucesivos). Como inevitablemente estos órdenes se traslapan, es esencial usar un sistema de dispersión transversal, como el que se muestra en la figura 7.23a, con una red de escalera. Aquí, la radiación dispersada desde la red atraviesa un prisma (en algunos sistemas se usa un segunda red) cuyo eje está a 90° respecto a la red. El efecto de este acomodo es producir un espectro bidimensional, como se muestra en el esquema de la figura 7.23b. En esta figura, las ubicaciones de 8 de los 70 órdenes se indican mediante líneas cortas verticales. Para cualquier orden dado, la dispersión de la longitud de onda es casi lineal, pero, como se puede ver, la dispersión es relativamente pequeña en los órdenes inferiores o longitudes de onda superiores. Un espectro bidimensional real proveniente de un monocromador de escalera consiste en una serie complicada de líneas cortas verticales que quedan a lo largo de 50 a 100 ejes horizontales, y cada uno de los ejes

¹⁹ Si desea consultar un estudio detallado sobre la red de escalera refiérase a P. N. Keliher y C. C. Wohlers, *Anal. Chem.*, **1976**, 48, p. 333A; D. L. Anderson, A. R. Forster y M. L. Parsons, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, p. 770; A. T. Zander y P. N. Keliher, *Appl. Spectrosc.*, **1979**, 33, p. 499.

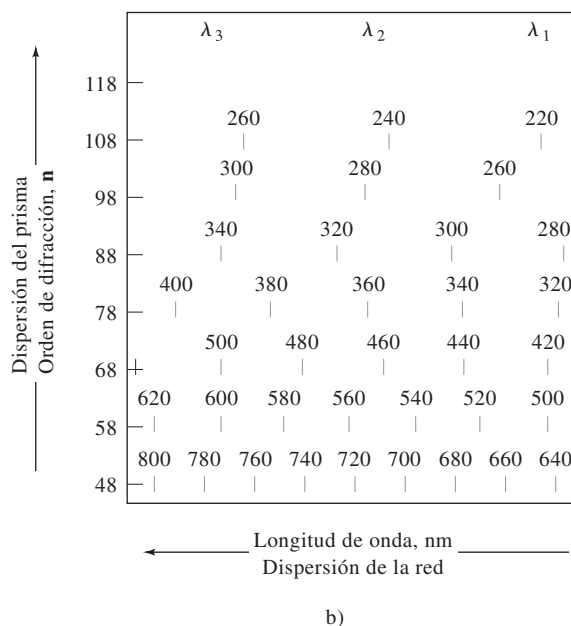
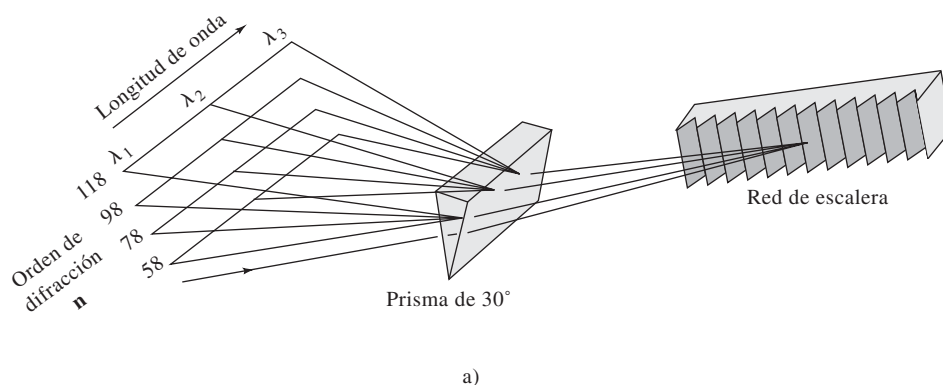


FIGURA 7.23 Monocromador de escalera: a) acomodo de los elementos dispersores y b) vista esquemática con el extremo de frente de la radiación dispersada desde el punto de vista del transductor.

corresponde a un orden de difracción. Para cambiar la longitud de onda con un monocromador de escalera se requiere modificar el ángulo tanto de la red como del prisma.

Varios fabricantes de instrumentos ofrecen espectrómetros tipo escalera para la determinación simultánea de una gran cantidad de elementos mediante espectroscopía de emisión atómica. Los diseños ópticos de dos de estos instrumentos se muestran en las figuras 10.7, 10.9 y 10.11.

7C.3 Rendijas del monocromador

Las aberturas o rendijas de un monocromador desempeñan un papel importante en la determinación de las características y la calidad del funcionamiento del monocromador. Las mordazas de la rendija están formadas

por dos piezas de metal cuidadosamente maquinadas que dan lugar a dos borde afilados. Se debe tener cuidado para que los bordes de la rendija estén exactamente paralelos entre sí y en el mismo plano. En algunos monocromadores, las aberturas de las dos rendijas están fijas, pero lo más común es que la separación entre ellas se pueda ajustar con un mecanismo micrométrico.

La rendija de entrada (véase figura 7.18) de un monocromador funciona como una fuente de radiación; su imagen se enfoca en última instancia en el plano focal que contiene la rendija de salida. Si la fuente de radiación consta de algunas longitudes de ondas discretas, aparece una serie de imágenes rectangulares en esta superficie como líneas brillantes, y cada una corresponde a cierta longitud de onda. Se puede enfocar una línea particular en la rendija de salida haciendo girar el elemento dispersor. Si las rendijas de entrada y

de salida tienen la misma anchura, como casi siempre sucede, teóricamente la imagen de la rendija de entrada llenará de manera exacta la abertura de la rendija de salida cuando los parámetros del monocromador corresponden a la longitud de onda de la radiación. El movimiento de los parámetros del monocromador en una dirección o en otra disminuye en forma continua la intensidad emitida, la cual llega a cero cuando la imagen de la rendija de entradas se ha movido una distancia igual a su anchura total.

Efecto del ancho de la rendija en la resolución

En la figura 7.24 se muestra la radiación monocromática de longitud de onda λ_2 que choca con la rendija de salida. En este caso, el monocromador está ajustado para λ_2 y las dos rendijas tienen la misma anchura. La imagen de la rendija de entrada llena justo la rendija de salida. El desplazamiento del monocromador a un ajuste de λ_1 o λ_3 da como resultado que la imagen se mueva y quede completamente fuera de la rendija. En la mitad inferior de la figura 7.24 se encuentra una gráfica de la potencia de radiación que atraviesa la rendija en función de los ajustes del monocromador. Tenga en cuenta que el *ancho de banda* se define como la separación de los parámetros del monocromador (en uni-

dades de longitud de onda o, a veces cm^{-1}) necesaria para mover la imagen de la rendija de entrada enfrente de la rendija de salida. Si se usara la radiación policromática, también representaría el espacio de las longitudes de onda desde la rendija de salida para un ajuste dado del monocromador.

El *ancho de banda efectivo*, también conocido como *paso de banda del espectro* o *ancho de la rendija espectral*, que es la mitad del ancho de banda cuando las anchuras de las dos rendijas son idénticas, se considera como el intervalo de las longitudes de onda que salen del monocromador a cierto parámetro de longitud de onda. El ancho de banda efectivo se puede relacionar con la dispersión lineal recíproca expresando la ecuación 7.9 en la forma

$$D^{-1} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta y}$$

donde $\Delta\lambda$ y Δy son ahora intervalos finitos de longitud de onda y distancia lineal a lo largo del plano focal, respectivamente. Como se muestra en la figura 7.24, cuando Δy es igual al ancho de la rendija w , $\Delta\lambda$ es el ancho de banda efectivo. Es decir,

$$\Delta\lambda_{\text{eff}} = wD^{-1} \quad (7.17)$$

En la figura 7.25 se ilustra la relación entre el ancho de banda efectivo de un instrumento y su capacidad para distinguir picos espectrales. En este caso, la rendija de salida de un monocromador de red se ilumina con un haz compuesto exactamente por tres líneas con separaciones iguales en las longitudes de onda λ_1 , λ_2 y λ_3 ; se supone que cada una de las líneas tiene la misma intensidad. En la figura superior, el ancho de banda efectivo del instrumento es exactamente igual a la diferencia en longitud de onda entre λ_1 y λ_2 o λ_2 y λ_3 . Cuando el monocromador se fija en λ_2 , la radiación de su longitud de onda llena exactamente la rendija. El movimiento del monocromador en una dirección u otra disminuye la intensidad transmitida de λ_2 , pero aumenta la intensidad de una de las otras líneas por una cantidad equivalente. Como lo muestra la línea continua en la gráfica de la derecha, no se alcanza ninguna resolución espectral de las tres longitudes de onda.

En la parte media de la figura 7.25, el ancho de banda efectivo del instrumento se ha reducido a tres cuartos de sus dimensiones originales, lo cual hace más angostas las aberturas de las rendijas de salida y de entrada. La línea continua en la gráfica de la derecha muestra que resulta una resolución parcial de las tres líneas. Cuando el ancho de banda efectivo disminuye a un medio de la diferencia en las longitudes de onda de los tres haces, se logra la resolución completa, como se puede ver en los dibujos inferiores. Entonces, la resolución completa de dos líneas es posible sólo si la an-

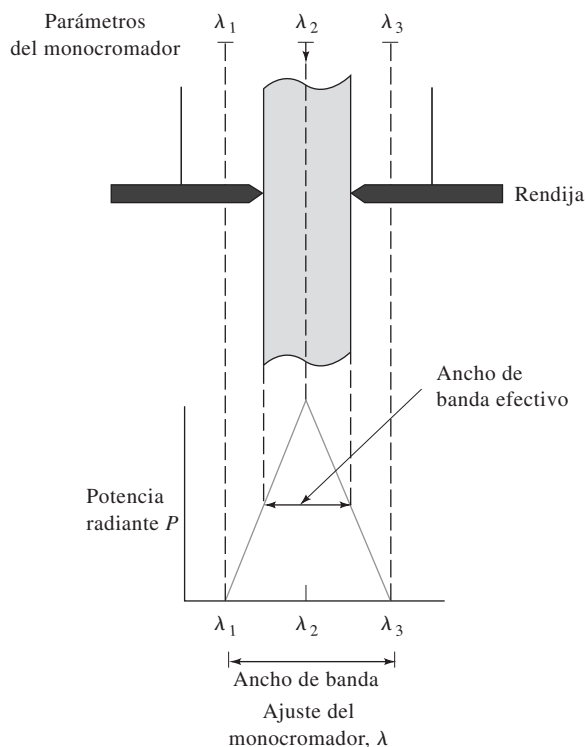


FIGURA 7.24 Iluminación de una rendija de salida mediante radiación monocromática λ_2 a distintos parámetros del monocromador. Las rendijas de salida y de entrada son idénticas.

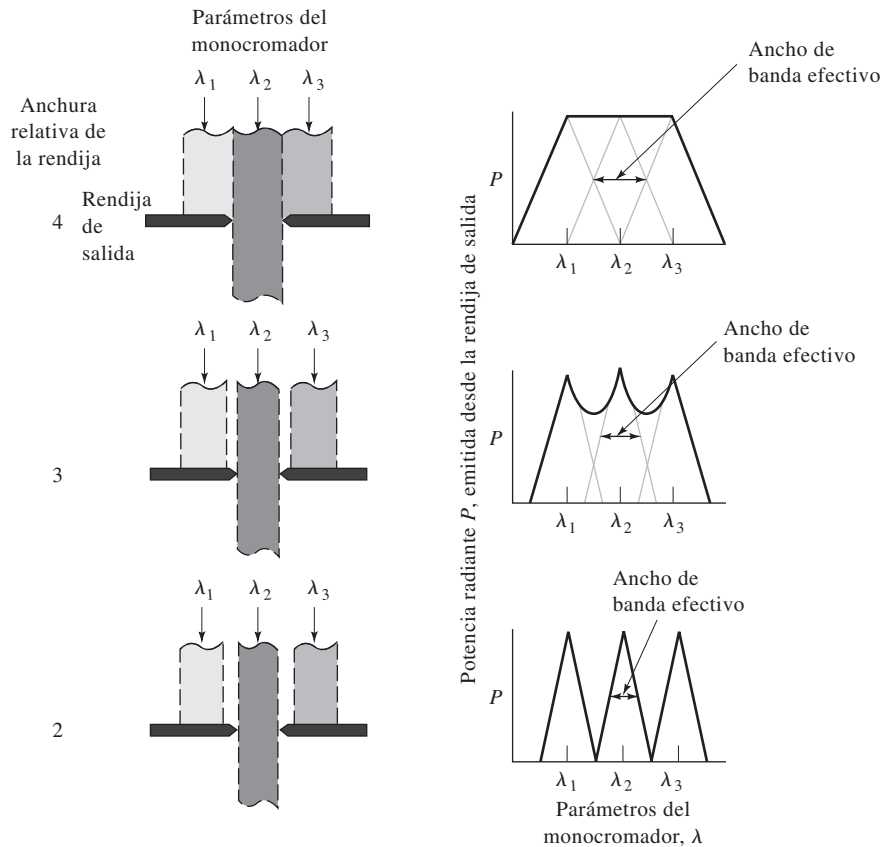


FIGURA 7.25 Efecto de la anchura de la rendija en los espectros. La rendija de entrada se ilumina sólo con λ_1 , λ_2 , y λ_3 . Las rendijas de entrada y salida son idénticas. Las gráficas de la derecha muestran los cambios en la potencia emitida cuando varía el ajuste del monocromador.

chura de la rendija se ajusta de tal modo que el ancho de banda efectivo del monocromador sea igual a la mitad de la diferencia de longitud de onda de las líneas.

EJEMPLO 7.2

Un monocromador de red con dispersión lineal recíproca de 1.2 nm/mm se usa para separar las líneas del sodio a 588.9950 nm y 589.5924 nm. En teoría, ¿qué anchura de rendija se requiere?

Solución

La resolución total de las dos líneas requiere que

$$\Delta\lambda_{\text{eff}} = \frac{1}{2}(589.5924 - 588.9950) = 0.2987 \text{ nm}$$

Al sustituir en la ecuación 7.17 y luego de reacomodar los términos se tiene

$$w = \frac{\Delta\lambda_{\text{eff}}}{D^{-1}} = \frac{0.2987}{1.2 \text{ nm/mm}} = 0.25 \text{ mm}$$

Es importante tener en cuenta que las anchuras de rendija calculadas como en el ejemplo 7.2 son teóricas. Las imperfecciones presentes en la mayor parte de los monocromadores son tales que se requieren anchuras de rendija más angostas que las teóricas para alcanzar una resolución deseada.

En la figura 7.26 se ilustra el efecto del ancho de banda en los espectros experimentales para el vapor de benceno. Observe los detalles mucho más grandes del espectro que se obtienen al reducir la apertura de la rendija y al permitir, por tanto, un ancho de banda más angosto.

Elección de las anchuras de las rendijas

El ancho de banda efectivo de un monocromador depende de la dispersión de la red o del prisma así como de la anchura de las rendijas de entrada y de salida. La mayor parte de los monocromadores contiene rendijas variables de modo que el ancho de banda efectivo se pueda modificar. Se recomienda usar la anchura mínima de rendija cuando se deben resolver bandas de absorción o de emisión angostas. Por otro lado, la

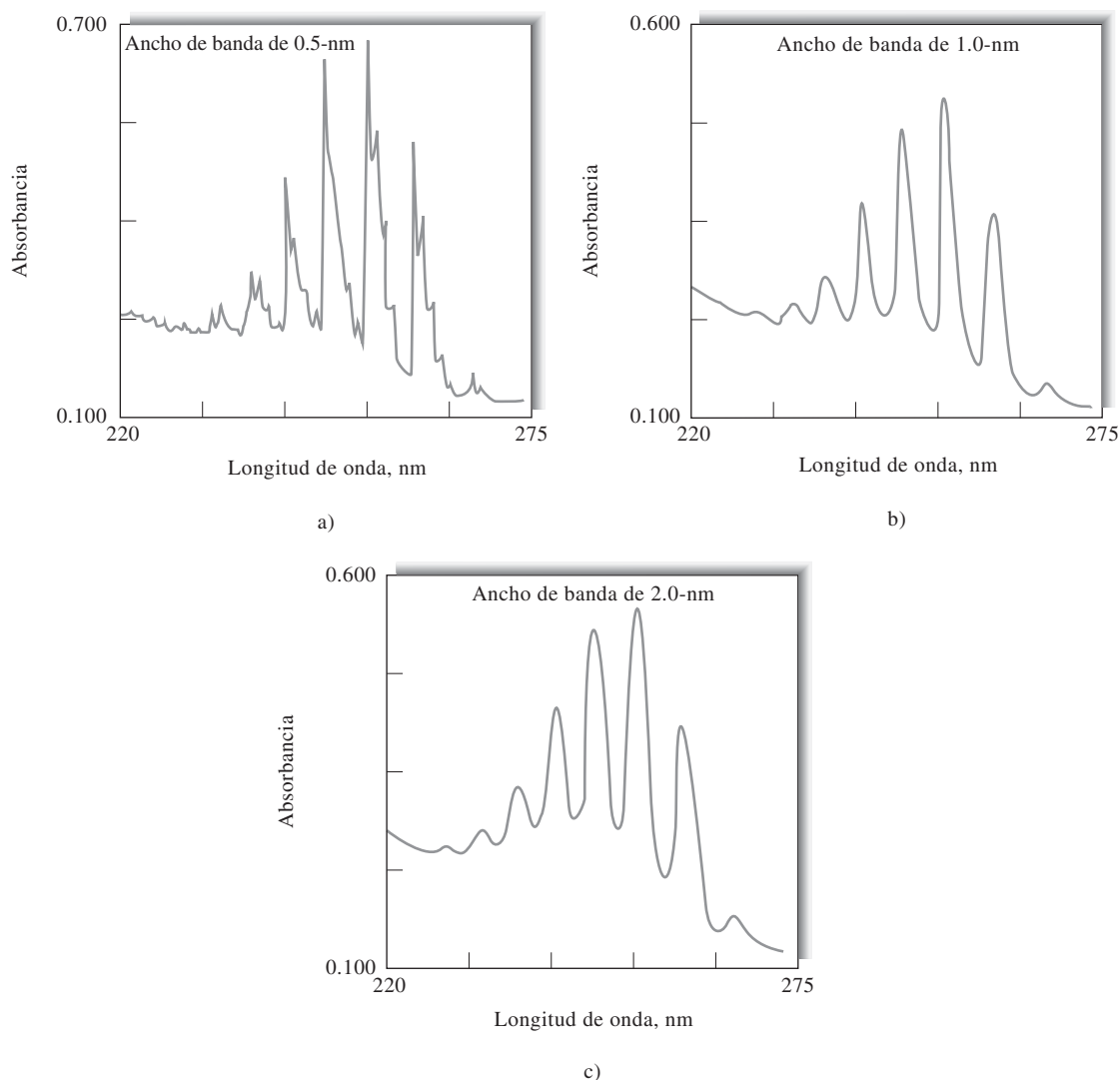


FIGURA 7.26 Efecto del ancho de banda en los detalles del espectro del vapor de benceno: a) 0.5 nm, b) 1.0 nm, c) 2.0 nm. (Tomado de V. A. Kohler, *Amer. Lab.*, **1984**, 11, p. 132. Copyright 1984 International Scientific Communications Inc. Reimpreso con autorización.)

potencia radiante disponible disminuye de manera notable cuando las rendijas son angostas, y se vuelve más difícil medir con exactitud la potencia. Por consiguiente, se pueden usar anchuras de rendijas de salida más amplias para análisis cuantitativo y no para el trabajo cualitativo, en el que son importantes los detalles del espectro.

7D RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS

Se requieren recipientes para las muestras para todos los estudios espectroscópicos, excepto para la espectroscopía de emisión. Al igual que los elementos ópticos de los monocromadores, las *celdas* o *cubas* donde

se colocan las muestras deben ser de un material transparente a la radiación en la región del espectro que interese. Por consiguiente, como se ilustra en la figura 7.2, el cuarzo o el sílice fundido se usan para trabajar en la región UV, abajo de 350 nm. Estas dos sustancias son transparentes en la región visible y también por arriba de casi 3 μm en la región infrarroja. Los vidrios de silicato se pueden usar en la región entre 350 y 2000 nm. Los contenedores de plástico también se usan en la región visible. El cloruro de sodio cristalino es la sustancia que más se usa para las ventanas de las celdas en la región infrarroja; los otros materiales transparentes al infrarrojo que se enlistan en la figura 7.2 también se podrían usar para este propósito.

7E TRANSDUCTORES DE RADIACIÓN

7E.1 Introducción

Los detectores para los primeros instrumentos espectroscópicos eran el ojo humano o una placa o película fotográficas. Los transductores que convierten la energía radiante en una señal eléctrica han reemplazado casi por completo a estos dispositivos de detección. Sólo se analizarán los transductores modernos.

Propiedades del transductor ideal

El transductor ideal debe tener una alta sensibilidad, una alta relación señal-ruido y una respuesta constante a un amplio intervalo de longitudes de onda. Además, debe tener un tiempo de respuesta rápido y una señal de salida cero si no hay iluminación. Para terminar, la señal eléctrica producida por el transductor ideal debe ser directamente proporcional a la potencia radiante P . Es decir,

$$S = kP \quad (7.18)$$

donde S es la salida de corriente o voltaje del transductor y k es la sensibilidad de calibración (sección 1E.2).

Muchos transductores reales manifiestan una respuesta pequeña constante, conocida como *corriente residual* cuando no hay radiación. En este caso, la respuesta se expresa mediante la relación

$$S = kP + k_d \quad (7.19)$$

donde k_d representa la corriente residual, la cual suele ser constante en periodos de medición cortos. Por lo regular, los instrumentos con transductores que producen una corriente residual están equipados con un circuito de compensación que reduce k_d a cero; entonces se aplica la ecuación 7.18.

Tipos de transductores de radiación

Como se puede ver en la figura 7.3b, hay dos tipos generales de transductores de radiación.²⁰ Un tipo responde a fotones y el otro al calor. Todos los transductores de fotones, también conocidos como detectores *fotofotónicos* o de cuantos, tienen una superficie activa que absorbe la radiación. En algunos tipos, la energía

absorbida causa emisiones de electrones y hace que se produzca una corriente fotoeléctrica. En otros, la radiación impulsa a los electrones a las bandas de conducción. Aquí, la detección se basa en la conductividad resultante mejorada (*fotoducción*). Los transductores de fotones se usan ampliamente en las mediciones de radiaciones UV, visible e infrarroja cercana. Cuando se utilizan en radiación con longitud de onda mucho mayor que 3 μm estos transductores deben ser enfriados con hielo seco o a temperatura de nitrógeno líquido para evitar la interferencia del ruido térmico de fondo. Los transductores fotoeléctricos producen una señal eléctrica que es resultado de una serie de fenómenos individuales (la absorción de fotones simples), cuya probabilidad se puede describir mediante estadística. En cambio, los transductores térmicos, que se utilizan ampliamente en la detección de radiación infrarroja, son sensibles a la potencia promedio de la radiación incidente.

La distinción entre transductores de fotones y transductores térmicos es importante porque el ruido de disparo limita con frecuencia el comportamiento de los transductores de fotones y el ruido térmico restringe a menudo a los transductores térmicos. Como se muestra en la sección 5B.2, los errores indeterminados asociados con los dos tipos de transductores son en esencia diferentes.

En la figura 7.27 se ilustra la respuesta espectral relativa de las varias clases de transductores que son útiles para las espectroscopías UV, visible e infrarroja. La función de las ordenadas guarda una relación inversamente proporcional con el ruido de los transductores y directamente proporcional con la raíz cuadrada de su área superficial. Observe que la sensibilidad relativa de los transductores térmicos (curvas H e I) es independiente de la longitud de onda, pero significativamente inferior a la sensibilidad de los transductores fotoeléctricos. Por otro lado, los transductores de fotones están a menudo lejanos del ideal respecto a la respuesta constante en función de la longitud de onda.

7E.2 Transductores de fotones

Hay varios tipos de transductores de fotones; entre los cuales están 1) las celdas fotovoltaicas, en las cuales la energía radiante genera una corriente en la interfase de una capa de semiconductor y un metal; 2) fototubos, en los cuales la radiación ocasiona la emisión de electrones de una superficie sólida fotosensible; 3) tubos fotomultiplicadores que cuentan con una superficie fotoemisiva así como varias superficies adicionales que emiten una cascada de electrones cuando son gol-



Clases interactivas: aprenda más acerca de los transductores de radiación.

²⁰Si desea consultar un estudio sobre los detectores de radiación óptica, refiérase a J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 106-117, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988; E. L. Dereniak y D. G. Crowe, *Optical Radiation Detectors*, Nueva York: Wiley, 1984; F. Grum y R. J. Becherer, *Optical Radiation Measurements*, vol. 1, Nueva York: Academic Press, 1979.

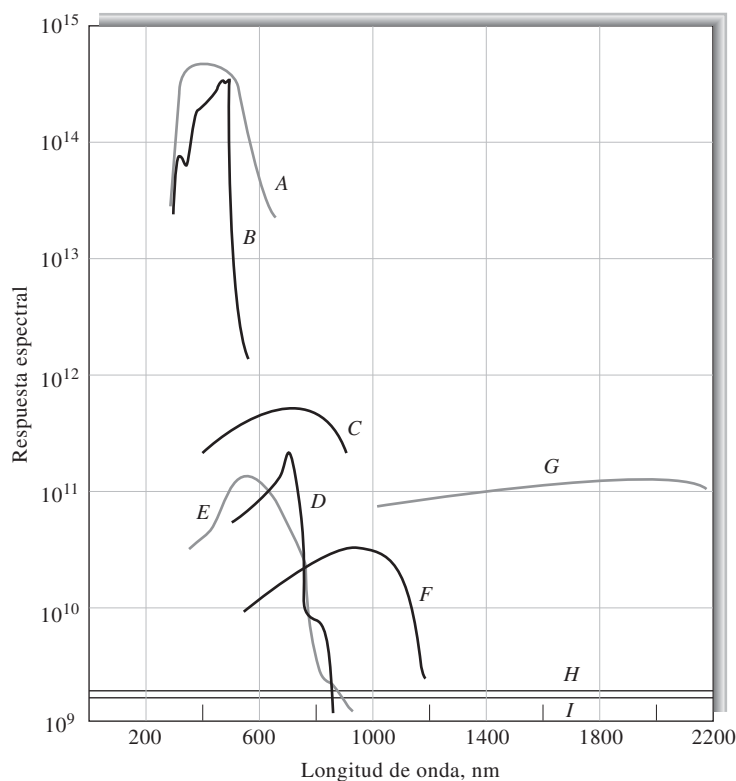


FIGURA 7.27 Respuesta relativa de varios tipos de transductores fotoeléctricos (A-G) y transductores térmicos (H, I): A, tubo fotomultiplicador; B, fotoconductividad de CdS; C, celdas fotovoltaicas de GaAs; D, celda de fotoconductividad de CdSe; E, celda fotovoltaica de Se/SeO; F, fotodiodo de silicio; G, fotoconductividad de PbS; H, termopar; I, celda de Golay. (Adaptación a partir de P. W. Druse, L. N. McGlauchlin y R. B. Quistan, *Elements of Infrared Technology*, pp. 424-425, Nueva York: Wiley, 1962. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons Inc.)

peadas por electrones provenientes del área fotosensible; 4) transductores de fotoconductividad en los que la absorción de radiación por un semiconductor produce electrones y huecos, lo cual causa una mejora de la conductividad; 5) fotodiodos de silicio, en los cuales los fotones ocasionan la formación de pares electrón-hueco y una corriente con polarización inversa en una unión *pn*; y 6) transductores de transferencia de carga, en los cuales se recolectan y se miden las cargas que se desarrollan en un cristal de silicio como resultado de la absorción de fotones.²¹

Celdas fotovoltaicas de capa-barrera

La celda fotovoltaica es un dispositivo sencillo que se usa para detectar y medir radiación en la región visible. Una celda típica tiene una sensibilidad máxima de alrededor de 550 nm; la respuesta disminuye a casi

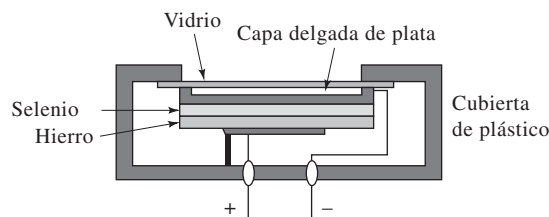


FIGURA 7.28 Esquema de una celda capa-barrera característica.

10% del máximo a 350 y 750 nm (véase curva E en la figura 7.27). El intervalo es similar al del ojo humano.

La celda fotovoltaica está constituida por un electrodo plano de cobre o hierro en el que se deposita una capa de material semiconductor, como el selenio (véase figura 7.28). La superficie externa del semiconductor se reviste con una película fina y transparente de oro o plata, la cual funciona como el segundo electrodo o colector; el sistema completo se protege mediante una cubierta transparente. Cuando llega radiación de energía suficiente al semiconductor se forman elec-

²¹ Una comparación de las características de rendimiento de los tres transductores de fotones más sensibles y más ampliamente usados: fotomultiplicadores, diodos de silicio y dispositivos de transferencia de carga, se encuentra en W. E. L. Grossman, *J. Chem. Educ.*, **1989**, 66, p. 697.

trones y huecos. Los electrones que han sido impulsados a la banda de conducción migran entonces hacia la película metálica y los huecos hacia la base, en la cual está depositado el semiconductor. Los electrones liberados están libres para migrar a través del circuito externo para interactuar con estos huecos. El resultado es una corriente eléctrica de una magnitud que es proporcional a la cantidad de fotones que golpean contra la superficie del semiconductor. Las corrientes producidas por una celda fotovoltaica son lo suficientemente grandes para ser medidas con un microamperímetro; si la resistencia del circuito externo se conserva pequeña ($<400\ \Omega$), la corriente fotoeléctrica es directamente proporcional a la potencia radiante que golpea a la celda. Las corrientes del orden de 10 a $100\ \mu\text{A}$ son comunes.

Las celdas de capa-barrera constituyen un medio rudimentario y barato para medir la potencia radiante. No se requiere ninguna fuente externa de energía eléctrica. Por otro lado, la baja resistencia interna de la celda hace que la amplificación de su salida sea poco conveniente. Por consiguiente, la celda de capa-barrera proporciona una respuesta que se puede medir con prontitud con altos niveles de iluminación, pero carece de sensibilidad a bajos niveles. Otra desventaja de este tipo de celda es que manifiesta *fatiga* es decir, su salida de corriente disminuye en forma gradual durante la iluminación continua. El diseño adecuado del circuito y la elección de mejores condiciones experimentales reducen al mínimo este efecto. Las celdas de capa-barrera se utilizan en instrumentos sencillos, portátiles en los que el bajo costo es importante. En el caso de análisis rutinarios, estos instrumentos proporcionan información analítica perfectamente confiable.

Fototubos de vacío

Un segundo tipo de dispositivo fotoeléctrico es el fototubo de vacío,²² el cual consiste en un cátodo semicilíndrico y un ánodo de alambre sellados dentro de un recipiente transparente al vacío (véase figura 7.29). La superficie cóncava del electrodo soporta una capa de material fotoemisor (sección 6C.1) que tiende a emitir electrones cuando es irradiado. Cuando se aplica un voltaje a los electrodos, los electrones emitidos fluyen hacia el ánodo de alambre generando una corriente fotoeléctrica que, por lo general, es de casi un décimo de la asociada con una celda fotovoltaica para una intensidad radiante dada. En cambio, la amplificación se logra con facilidad porque el fototubo tiene una alta resistencia eléctrica.

²²Para un estudio muy práctico aunque antiguo acerca de los fototubos de vacío, tubos fotomultiplicadores y sus circuitos consulte F. E. Lytle, *Anal. Chem.*, **1974**, *46*, p. 545A.

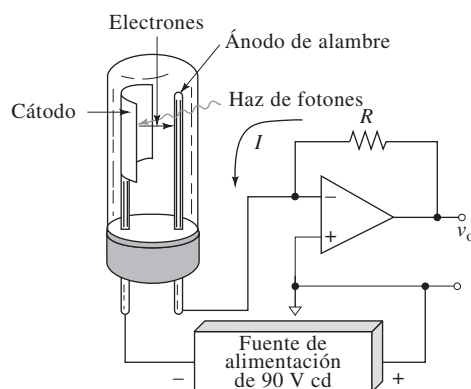


FIGURA 7.29 Fototubo y sistema de lectura de amplificador operacional. La corriente fotoeléctrica inducida por la radiación ocasiona una caída de voltaje en R , la cual aparece como v_o en la salida del convertidor corriente a voltaje. Este voltaje se despliega en un medidor o puede ser obtenido por un sistema de adquisición de datos.

La cantidad de electrones que son expulsados de una superficie fotoemisora es directamente proporcional a la potencia radiante del haz que golpea la superficie. A medida que el voltaje aplicado en los dos electrodos del tubo aumenta, la fracción de los electrones emitidos que llega al ánodo se incrementa con rapidez; cuando se consigue el voltaje de saturación, todos los electrones se reúnen en el ánodo. Entonces, la corriente se vuelve independiente del voltaje y es directamente proporcional a la potencia radiante. Los fototubos funcionan casi siempre a un voltaje de alrededor de 90 V , el cual está muy adentro de la región de saturación.

En los fototubos comerciales se usa una variedad de superficies fotoemisoras. Los ejemplos comunes se muestran en la figura 7.30. Desde el punto de vista del usuario, las superficies fotoemisoras están dentro de cuatro categorías: muy sensibles, sensibles al rojo, sensibles al ultravioleta y de respuesta plana. Los cátodos más sensibles son del tipo dialcalino como el número 117 de la figura 7.30; están hechos de potasio, cesio y antimonio. Los materiales sensibles al rojo son formulaciones del tipo multialcalino, por ejemplo, Na/K/Cs/Sb o Ag/O/Cs . El comportamiento de la superficie Ag/O/Cs se muestra como S-11 en la figura. Las composiciones de Ga/In/As extienden la región roja hasta casi 1.1 mm . La mayor parte de las formulaciones son sensibles al ultravioleta si el tubo está equipado con ventanas transparentes a los rayos UV. Se obtienen respuestas relativamente planas con composiciones Ga/As como la que se marcó con el número 128 en la figura 7.30.

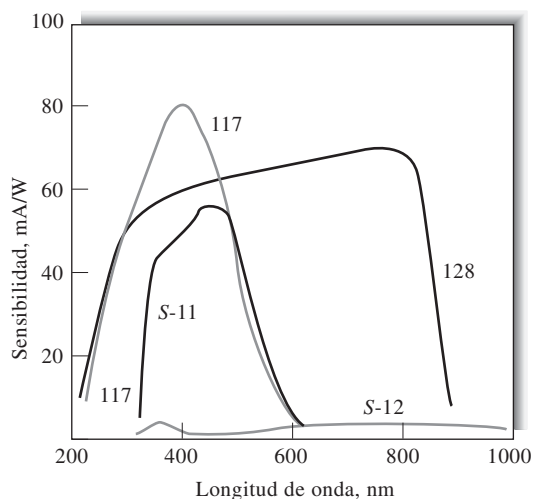


FIGURA 7.30 Respuesta espectral de algunas superficies fotoemisoras representativas. (Tomado de F. E. Lytle, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, p. 545A, figura 1, p. 546A. Copyright 1974 American Chemical Society.)

Con frecuencia, los fototubos producen una corriente residual pequeña (véase ecuación 7.19) que resulta de la emisión de electrones térmicamente inducida y de la radiactividad natural proveniente de ^{40}K presente en la cubierta de vidrio del tubo.

Tubos fotomultiplicadores

Por lo que toca a las mediciones de la potencia radiante baja, el tubo fotomultiplicador tiene ventajas en comparación con un fototubo ordinario.²³ En la figura 7.31 se presenta un esquema de dicho dispositivo. La superficie del fotocátodo es similar en composición a la de las superficies de los fototubos que se describen en la figura 7.30, y emite electrones cuando se expone a la radiación. El tubo también contiene electrodos adicionales (nueve en la figura 7.31) llamados *dinodos*. El dinodo D1 se mantiene a un voltaje aproximado de 90 V más positivo que el cátodo, en consecuencia los electrones son acelerados hacia él. Cada fotoelectrón que choca contra el dinodo ocasiona la emisión de varios electrones adicionales. A su vez, estos electrones son acelerados hacia el dinodo D2, el cual es ~ 90 V más positivo que el dinodo D1. Una vez más, se emiten varios electrones por cada electrón que choca contra la superficie. Para el tiempo en que este proceso se repitió nueve veces, se han formado de 10^6 a 10^7 electrones por cada fotón incidente. Por último, esta cascada de

electrones se reúne en el ánodo y la corriente resultante se transforma en un voltaje y se mide.

La curva A de la figura 7.27 muestra que los fotomultiplicadores son muy sensibles a las radiaciones ultravioleta y visible. Además, tienen tiempos de respuesta en extremo rápidos. Con frecuencia la sensibilidad de un instrumento con un fotomultiplicador está limitada por su corriente residual. Puesto que la emisión térmica es la principal fuente de electrones de corriente residual, el rendimiento de un fotomultiplicador puede aumentar si se le enfría. En efecto, las corrientes residuales térmicas se pueden eliminar enfriando el detector a -30°C . Se pueden conseguir en el mercado carcasas de transductores que se someten a enfriamiento mediante la circulación de un refrigerante adecuado.

Los tubos fotomultiplicadores están limitados a medir radiación de baja potencia porque la luz intensa ocasiona daños irreversibles en la superficie fotoeléctrica. Por esta razón, el dispositivo está siempre alojado en un compartimiento hermético a la luz, y se toman todas las medidas precautorias para eliminar la posibilidad de que quede expuesto aunque sea sólo un instante a la luz del día u otro tipo de luz intensa mientras está activado. Si cuentan con circuitos externos apropiados, los tubos fotomultiplicadores se pueden usar para detectar la llegada de fotones individuales al fotocátodo.

Transductores de fotodiodos de silicio

Un transductor con fotodiodos de silicio se compone de una unión *pn* de polarización inversa formada por un circuito integrado de silicio. Como se puede ver en la figura 7.32, la polarización inversa crea una capa de agotamiento que reduce la conductancia de la unión a casi cero. Si la radiación choca con el circuito integrado, se forman huecos y electrones en la capa de agotamiento que son barridos a través del dispositivo para producir una corriente que es proporcional a la potencia radiante. Requieren sólo alimentación de bajo voltaje o pueden funcionar en polarización cero, por ello se pueden usar en instrumentos portátiles que funcionen con baterías.

Los diodos de silicio son más sensibles que los fototubos al vacío, pero menos sensibles que los tubos fotomultiplicadores (véase curva F en la figura 7.27). Los fotodiodos tienen intervalos espectrales de alrededor de 190 a 1100 nm.

7E.3 Transductores de fotones multicanales

El primer detector de varios canales que se usó en la espectroscopía fue una placa fotográfica o una tira de película que se colocó a lo largo de la longitud del pla-

²³ Refiérase a R. W. Engstrom, *Photomultiplier Handbook*, Lancaster, PA: RCA Corporation, 1980, en donde encontrará un análisis detallado de la teoría y las aplicaciones de los fotomultiplicadores.

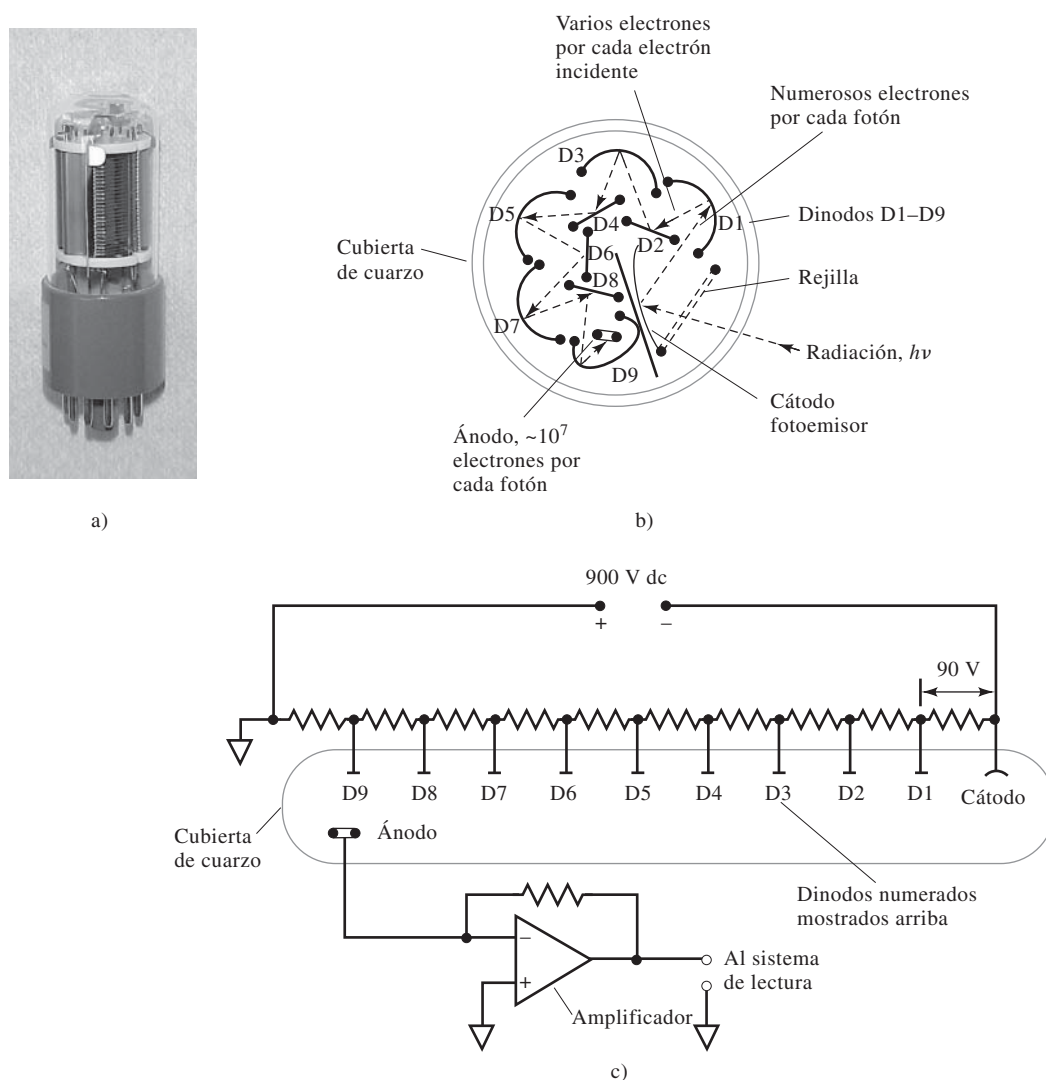


FIGURA 7.31 Tubo fotomultiplicador: a) fotografía de un tubo comercial característico; b) corte transversal; c) diagrama eléctrico en el que se ilustra la polarización del dinodo y la medición de la corriente fotoeléctrica. La radiación que golpea el cátodo fotosensible b) hace surgir los fotoelectrones por el efecto fotoeléctrico. El dinodo D1 se conserva a un voltaje positivo respecto al fotocátodo. Los electrones que emite el cátodo son atraídos por el primer dinodo y acelerados en el campo. Cada electrón que golpea al dinodo D1 origina de dos a cuatro electrones secundarios. Éstos son atraídos al dinodo D2, el cual es también positivo respecto al dinodo D1. La amplificación resultante en el ánodo puede ser 10^6 o mayor. El factor exacto de amplificación depende de la cantidad de dinodos y de la diferencia de voltaje entre ellos. Esta amplificación interna automática es una de las principales ventajas de los tubos fotomultiplicadores. Con los instrumentos modernos se puede detectar la llegada de los impulsos individuales de la corriente fotoeléctrica y contarlos en lugar de medirlos como una corriente promedio. Esta técnica, llamada conteo de fotones, tiene muchas ventajas a niveles mucho muy bajos.

no focal de un espectrómetro de tal modo que todas las líneas del espectro podían ser registradas a la vez. La detección fotográfica es relativamente sensible, algunas emulsiones responden a tan sólo 10 a 100 fotones.

La principal limitación de este tipo de detector es el tiempo que se requiere para revelar la imagen del espectro y convertir el ennegrecimiento de la emulsión en intensidades radiantes.

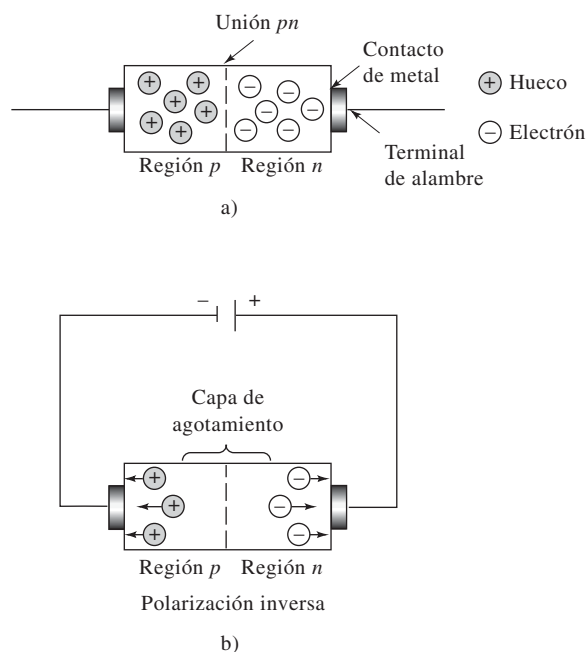


FIGURA 7.32 a) Esquema de un diodo de silicio. b) Formación de una capa de agotamiento, la cual evita el flujo de electricidad en polarización inversa.

Los modernos transductores de varios canales²⁴ están compuestos de pequeños elementos fotosensibles acomodados en forma lineal o que siguen un patrón bidimensional sobre un solo chip semiconductor. Éste, que casi siempre es de silicio y sus dimensiones son de unos cuantos milímetros por lado, contiene también circuitos electrónicos para proporcionar una señal de salida desde cada uno de los elementos en forma sucesiva o simultánea. En el caso de estudios espectroscópicos, se suele colocar un transductor de varios canales en el plano focal de un espectrómetro, de modo que varios elementos del espectro dispersado pasen por el transductor y se midan al mismo tiempo.

Se usan tres tipos de dispositivos de varios canales en los instrumentos espectroscópicos comerciales: *fordiodos en serie*, *dispositivos de inyección de carga*, y *dispositivos de acoplamiento de carga*. Los fotodiodos en serie son transductores de una dimensión en los que los elementos fotosensibles se acomodan en forma lineal en la cara del transductor. En cambio, los elementos fotosensibles individuales de los dispositivos de inyección de carga y de los de acoplamiento de car-

²⁴Si desea consultar un trabajo sobre los detectores de varios canales de fotones, refiérase a J. M. Harnly y R. E. Fields, *Appl. Spectros.*, **1997**, 51, p. 334A; M. Bonner Denton, R. Fields y Q. S. Hanley, eds., *Recent Developments in Scientific Optical Imaging*, Cambridge, UK: Royal Soc. Chem., 1996; J. V. Sweedler, K. L. Ratzlaff y M. B. Denton, eds., *Charge-Transfer Devices in Spectroscopy*, Nueva York: VCH, 1994; J. V. Sweedler, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1993**, 24, p. 59.

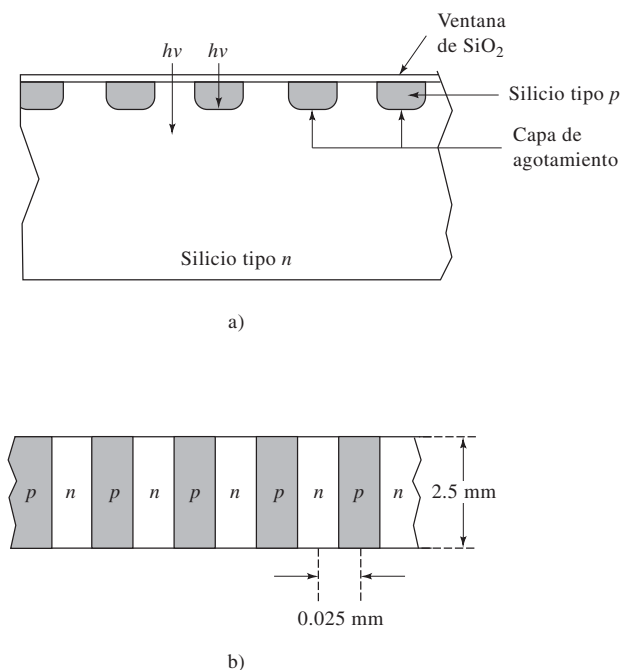


FIGURA 7.33 Detector con una serie lineal de diodos en polarización inversa: a) corte transversal y b) vista desde arriba.

ga están formados como sistemas bidimensionales. Tanto los transductores de inyección de carga como los de acoplamiento de carga funcionan recolectando cargas fotogeneradas en varias áreas de la superficie del transductor y luego midiendo la cantidad de ellas que se ha acumulado en un breve periodo. En ambos dispositivos, la medición se logra transfiriendo la carga desde un área de recolección hasta un área de detección. Por esta razón, los dos tipos de transductores a veces reciben el nombre de *dispositivos de transferencia de carga*. Estos instrumentos se utilizan ampliamente como transductores de imagen en equipos de televisión y en astronomía.

Fotodiodos en serie

En estos dispositivos, los elementos fotosensibles individuales son fotodiodos pequeños de silicio, cada uno de los cuales consta de una unión pn con polarización inversa (véase sección previa). Los fotodiodos individuales forman parte de un circuito integrado de gran escala formado sobre un solo chip de silicio. En la figura 7.33 se ilustra la forma de la región superficial de algunos de los elementos transductores. Cada uno está constituido por una barra tipo p difundida en un sustrato de silicio tipo n para dar origen a una región superficial que consta de una serie de elementos adyacentes cuyas dimensiones características son 2.5 por 0.025 mm (figura 7.33b). La radiación que incide sobre estos elementos crea cargas tanto en la región p como

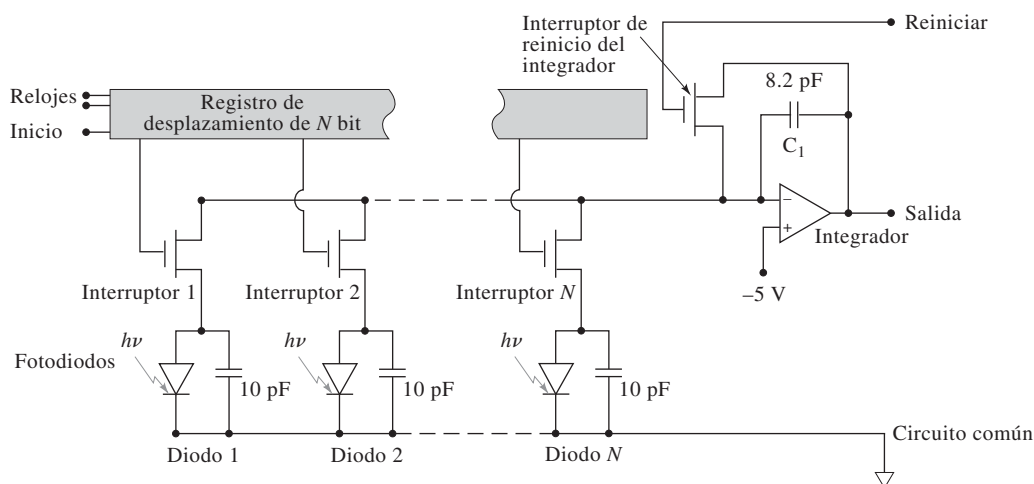


FIGURA 7.34 Diagrama del circuito integrado de un detector de fotodiodos en serie.

en la n . Las cargas positivas se recolectan y almacenan en barras tipo p para la integración posterior (las cargas formadas en las regiones n se dividen a sí mismas proporcionalmente entre las dos regiones p adyacentes). La cantidad de elementos transductores en un chip varía de 64 a 4096, pero 1024 es la más común.

El circuito integrado que conforma el sistema de diodos contiene también un capacitor de almacenamiento y un interruptor para cada diodo, así como un circuito para explorar en forma sucesiva los circuitos individuales diodo-capacitor. La figura 7.34 es un diagrama simplificado en el que se manifiesta la disposición de dichos componentes. Observe que conectado en paralelo con cada fotodiodo hay un capacitor de almacenamiento de 10-pF. Cada par diodo-capacitor está conectado en forma sucesiva a una línea de salida común mediante el registro de desplazamiento de N bits y los interruptores de cada transistor. El registro de desplazamiento cierra sucesivamente cada uno de dichos interruptores, y ocasiona que el capacitor se cargue de manera momentánea a -5 V, lo cual crea luego una polarización inversa en la unión pn del detector. La radiación que choca con la capa de agotamiento en la región p o en la n forma cargas (electrones y huecos) que crean una corriente que descarga en forma parcial el capacitor en el circuito. La carga del capacitor que se pierde de esta manera se reemplaza durante el ciclo siguiente. La corriente de carga resultante se integra mediante el circuito del preamplificador, lo cual produce un voltaje que es proporcional a la intensidad radiante. Después de la amplificación, la señal analógica proveniente del preamplificador pasa al convertidor de señal analógica en digital y a una computadora que controla al sistema de lectura.

Al utilizar un transductor de diodos en serie, la anchura de la rendija del espectrómetro se ajusta por lo

regular de tal modo que la imagen de la rendija de entrada llene de manera exacta el área superficial de uno de los diodos que constituyen el sistema. Por consiguiente, la información que se obtiene equivale a la registrada durante el barrido con un espectrofotómetro tradicional. Sin embargo, con este acomodo, la información acerca del espectro completo se acumula en forma simultánea y en elementos discretos y no de manera continua.

Algunos de los transductores con fotoconductores que se mencionan en la sección anterior se pueden fabricar también en ensambles lineales para ser usados en la región infrarroja.

Dispositivos de transferencia de carga

Los fotodiodos en serie no pueden igualar el rendimiento de los tubos fotomultiplicadores en cuanto a sensibilidad, intervalo dinámico y relación señal-ruido. Por consiguiente, se usan con más frecuencia en aplicaciones en las que la alta sensibilidad y el intervalo dinámico amplio no son necesarios, como en la espectrometría de absorción. Por otro lado, las características de desempeño de los dispositivos de transferencia de carga se aproximan y algunas veces sobrepasan a las de los tubos fotomultiplicadores, además de que tienen la ventaja de ser multicanal. Como resultado, este tipo de transductores se usan cada vez más en instrumentos modernos para espectroscopía.²⁵ Aun hay una ventaja más de los dispositivos de transferencia de carga: por lo regular son bidimensionales en el sentido

²⁵ Para detalles sobre los dispositivos de transferencia de carga, véase M. B. Denton, eds., *Charge-Transfer Devices in Spectroscopy*, Nueva York: VCH, 1994; J. V. Sweedler, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1993**, 24, p. 59; J. V. Sweedler, R. B. Bilhorn, P. M. Epperson, G. R. Sims y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, pp. 282A, 327A.

de que los elementos individuales del transductor están acomodados en hileras y columnas. Por ejemplo, un detector que se describe en la sección siguiente consta de 244 hileras de elementos transductores, y cada hilera está compuesta de 388 elementos detectores, lo cual da como resultado un acomodo bidimensional de 19 672 transductores individuales, también conocidos como *pixeles*, sobre un circuito integrado de silicio de 6.5 mm por 8.7 mm. Con este dispositivo es posible registrar de modo simultáneo un espectro completo bidimensional desde un espectrómetro de escalera (figura 7.23).

Los dispositivos de transferencia de carga funcionan como una película fotográfica en el sentido de que integran información de señal a medida que la radiación los golpea. La figura 7.35 es un corte transversal de uno de los pixeles en un acomodo de transferencia de carga. En este caso, el pixel consiste en un par de electrodos conductores que están sobre una capa aislante de sílice (tenga en cuenta que en algunos dispositivos un pixel de transferencia de carga está constituido por más de dos electrodos). Esta capa de sílice separa los electrodos de una región de silicio *n* impuro o dopado. Este ensamble constituye un capacitor, hecho de semiconductor de óxido metálico, que almacena las cargas formadas cuando la radiación choca con el silicio dopado. Como se muestra, cuando se aplica un voltaje negativo a los electrodos, se crea una región de inversión de carga bajo los electrodos, la cual es favorable desde el punto de vista energético para almacenar huecos. Los huecos móviles creados por la absorción de fotones migran entonces y se reúnen en esta región. Esta región, llamada *pozo de potencial*, es capaz de contener de 10^5 a 10^6 cargas antes de que se desborde y pasen a un pixel adyacente. En esta figura se muestra un electrodo más negativo que el otro, lo que hace que la acumulación de cargas en este electrodo sea más favorable. La cantidad de carga generada durante la exposición a la radiación se mide de dos modos. En un *dispositivo de inyección de carga* se mide el cambio de voltaje que surge por el movimiento de la carga desde la región bajo un electrodo a la región bajo el otro. En un *dispositivo de acoplamiento de carga*, ésta se desplaza a un amplificador sensible a la carga para medirla.

Dispositivos de inyección de carga. La figura 7.36 presenta un diagrama simplificado en el que se muestra los pasos para la recolección, almacenamiento y medición de la carga generada cuando el pixel de un semiconductor se expone a los fotones. Para vigilar la intensidad de la radiación que golpea al elemento sensor, los voltajes aplicados a los capacitores son cíclicos, como se ilustra en los pasos *a*) a *d*) de la figura. En el paso *a*) se aplican voltajes negativos a los dos electrodos, lo

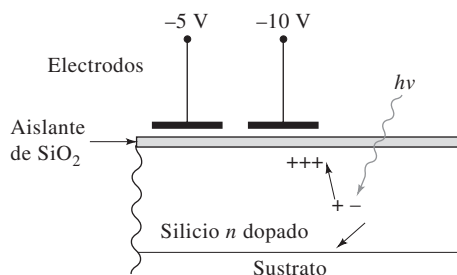


FIGURA 7.35 Corte transversal de un dispositivo de transferencia de carga en el modo de integración de carga. El hueco producido por el fotón $h\nu$ es colectado bajo el electrodo negativo.

cual hace que se formen pozos de potencial que colectan y almacenan huecos formados en la capa *n* por la absorción de fotones. Puesto que el electrodo de la derecha está a un voltaje más negativo, al principio todos los agujeros son retenidos en este electrodo. La magnitud de la carga colectada en un pequeño lapso se determina en los pasos *b*) y *c*). En *b*), el voltaje del capacitor a la izquierda (V_1) se determina después de la eliminación de su voltaje aplicado. En el paso *c*), los huecos que se han acumulado en el electrodo de la derecha son transferidos al pozo de potencial del electrodo izquierdo al conmutar el voltaje que se aplica al electrodo de la derecha de negativo a positivo. Entonces se mide el nuevo voltaje del electrodo V_2 . La magnitud de la carga acumulada se calcula a partir de la diferencia de voltaje ($V_1 - V_2$). En el paso *d*), se regresa al detector a su estado original aplicando voltajes positivos en ambos electrodos, lo cual ocasiona que los huecos migren hacia el sustrato. Sin embargo, como una alternativa al paso *d*), el detector puede volver a la condición que se observa en *a*) sin perder la carga que ya acumuló. Este proceso se llama modalidad de lectura no destructiva. Una gran ventaja de los *dispositivos de inyección de carga* respecto a los *dispositivos de acoplamiento de carga* es que las mediciones sucesivas se pueden efectuar mientras se ejecuta la integración.

Igual de válido que para el detector de diodos en serie, el chip que contiene el sistema de elementos transductores de inyección de carga también contiene circuitos integrados apropiados para ejecutar los pasos de ciclo y medición.

Dispositivo de acoplamiento de carga. Varios fabricantes comercializan estos componentes, y su presentación es variada. En la figura 7.37a se ilustra la disposición de los detectores individuales en un acomodo característico que consta de 512×320 pixeles. Observe que en este caso el semiconductor está formado con silicio tipo *p*, y el capacitor tiene polarización positiva de modo que los electrones formados por la absorción

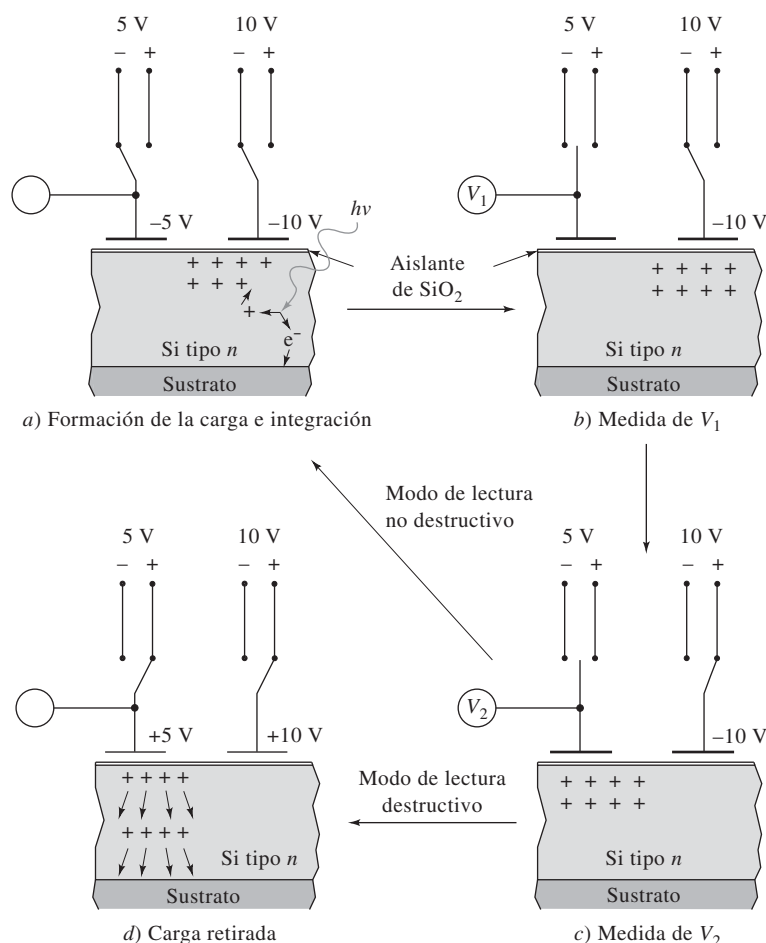


FIGURA 7.36 Ciclo de trabajo de un dispositivo de inyección de carga: a) producción y almacenamiento de carga, b) medición de la primera carga, c) segunda medición de carga después de la transferencia de carga, d) reinyección de carga hacia el semiconductor.

de radiación se reúnen en el pozo de potencial abajo del electrodo y los huecos migran de la capa tipo n hacia el sustrato. Observe también que cada pixel está conformado de tres electrodos (numerados 1, 2 y 3 en la figura 7.37b) en lugar de dos electrodos, como en el caso de los dispositivos de inyección de carga. Para medir la carga acumulada se utiliza un circuito de reloj de tres fases para desplazar por etapas la carga a la derecha del registrador de desplazamiento de alta velocidad que se muestra en la figura 7.37a. Luego, las cargas se transfieren hacia abajo hasta un preamplificador y después al sistema de lectura. Por consiguiente, se logra un barrido hilera por hilera de la superficie del detector. En contraste con un dispositivo de inyección de carga, el sistema de lectura en este caso neutraliza la carga acumulada. Un dispositivo de acoplamiento de carga ofrece la ventaja de mayor sensibilidad con bajos niveles de luz. Una desventaja en algunas aplicaciones es la naturaleza destructiva del proceso de lectura.

En la actualidad hay sistemas de dispositivos de acoplamiento de carga y cámaras con dimensiones de hasta 12 000 pixeles. Estos dispositivos son capaces de detectar con muy alta resolución datos del espectro en una gama cada vez más grande de aplicaciones analíticas. Hoy se pueden comprar cámaras con puertos USB para transferir datos a computadoras para analizarlos, almacenarlos y presentarlos.

Giles y colaboradores²⁶ presentaron una guía completa para seleccionar cámaras con dispositivos de acoplamiento de carga para aplicaciones espectroscópicas. Proporcionan un análisis de los materiales, sensibilidad, rendimiento cuántico, consideraciones respecto al ruido, intervalo dinámico, resolución, modos de despliegue de la información y las piezas físicas y

²⁶J. H. Giles, T. D. Ridder, R. H. Williams, D. A. Jones y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1998**, 70 (19), p. 663A.

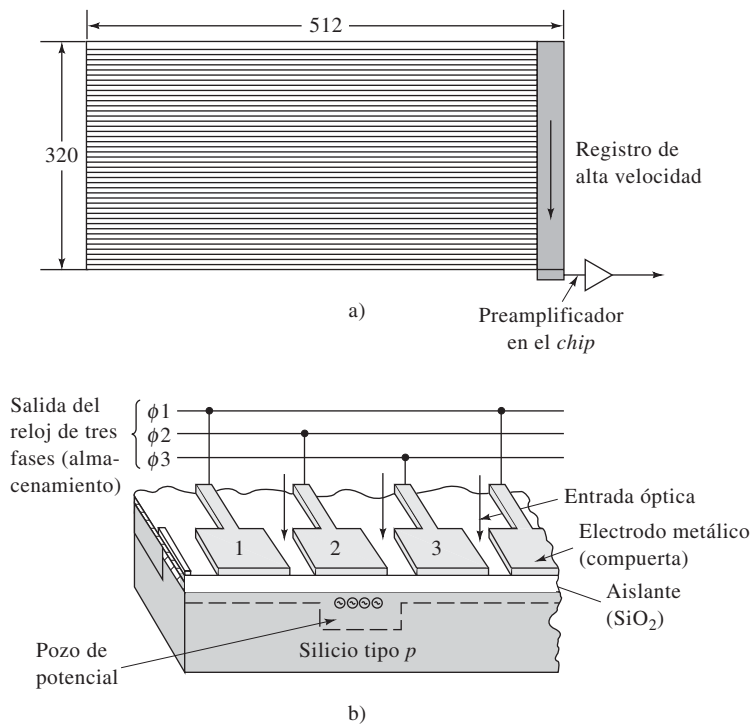


FIGURA 7.37 Un sistema con dispositivos de acoplamiento de carga: a) acomodo de 512×320 pixeles y b) esquema que muestra cuatro de los detectores individuales.

los programas asociados con la adquisición y uso de estos aparatos.

7E.4 Transductores de fotoconductividad

Los transductores más sensibles para detectar radiación en la región del infrarrojo cercano (0.75 a $3 \mu\text{m}$) son semiconductores cuyas resistencias disminuyen cuando absorben radiación dentro de este intervalo. Los valores útiles de los fotoconductores se pueden extender dentro de la región del infrarrojo lejano mediante enfriamiento; el objetivo es suprimir el ruido que surge de las transiciones inducidas térmicamente entre niveles de energía muy cercanos entre sí. Esta aplicación de los fotoconductores es importante para la instrumentación de la transformada de Fourier en el infrarrojo. Los semiconductores cristalinos se forman a partir de sulfuros, seleniuros y antimonuros de metales como plomo, cadmio, galio e indio. La absorción de la radiación por parte de estos materiales impulsa a algunos de sus electrones de enlace a un estado energético en el cual son libres de conducir electricidad. Este cambio resultante en la conductividad se puede medir con un circuito como el que se ilustra en la figura 3.10a.

El sulfuro de plomo es el material fotoconductor más ampliamente usado que se puede utilizar a temperatura ambiente. Los transductores de sulfuro de plomo

son sensibles en la región entre 0.8 y $3 \mu\text{m}$ ($12\,500$ a 3300 cm^{-1}). Una capa delgada de este compuesto se deposita sobre láminas de vidrio o cuarzo para formar la celda. Luego, el ensamble completo se coloca en un recipiente al vacío, y se sella para evitar que el semiconductor reaccione con la atmósfera. La sensibilidad de los transductores de sulfuro de cadmio, de seleniuro de cadmio y de sulfuro de plomo se muestra mediante las curvas *B*, *D* y *G* de la figura 7.27.

7E.5 Transductores térmicos

Los fototransductores apropiados que se acaban de tomar en cuenta, por lo general no se aplican en el infrarrojo porque los fotones en esta región carecen de energía para producir fotoemisión de electrones. Por consiguiente, se deben usar transductores térmicos o transductores fotoconductores (véase sección 7E.4); sin embargo, ninguno de éstos es tan satisfactorio como los transductores de fotones.

En los transductores térmicos,²⁷ la radiación choca con un pequeño cuerpo negro y es absorbida por éste. Se mide el aumento de temperatura resultante. El nivel de potencia radiante de un haz infrarrojo represen-

²⁷Un buen estudio sobre transductores de radiación óptica de todos los tipos, sin olvidar los detectores térmicos, se encuentra en E. L. Dereniak y G. D. Rowe, *Optical Radiation Detectors*, Nueva York: Wiley, 1984.

tativo es muy pequeño (10^{-7} a 10^{-9} W), de modo que la capacidad calorífica del elemento que absorbe debe ser tan pequeña como sea posible si es que se quiere detectar el cambio de temperatura. Las dimensiones y el espesor del elemento absorbente se reducen al mínimo, y el rayo infrarrojo completo se concentra en la superficie de modo que, en condiciones óptimas, los cambios de temperatura se limitan a unas milésimas de kelvin.

El problema de medir la radiación infrarroja por medios térmicos está conformado por el ruido térmico de los alrededores. Por esta razón los detectores térmicos se alojan en el vacío y se protegen con todo cuidado contra la radiación térmica emitida por los objetos cercanos. Con el fin de reducir al mínimo los efectos posteriores de fuentes caloríficas extrañas, por lo general se hace pasar el rayo proveniente de la fuente por un troceador. De esta manera, la señal del analito, después de la transducción, tiene la frecuencia del troceador y se puede separar electrónicamente del ruido extraño, el cual por lo regular varía con lentitud con el paso del tiempo.

Termopares

En su forma más sencilla los termopares constan de un par de uniones formadas cuando dos piezas de un metal como el cobre se fusionan por los extremos con un metal distinto como el constantán, según se muestra en la figura 3.13. Entre las dos uniones se desarrolla un voltaje que varía con la *diferencia* de sus temperaturas.

La unión del transductor para la radiación infrarroja está formada con alambres muy finos de bismuto y antimonio, o bien, mediante la evaporación de los metales en un soporte no conductor. En cualquier caso, la unión se ennegrece para mejorar su capacidad de absorber calor y se coloca sellada en una cámara al vacío que contiene una ventana que es transparente a la radiación infrarroja.

La unión de referencia, que por lo regular está alojada en la misma cámara que la unión activa, se diseña para que tenga una capacidad calorífica grande y se blindo con todo cuidado para protegerla contra la radiación incidente. Como la señal del analito es troceada, sólo importa la diferencia de temperatura entre las dos uniones; por tanto, la unión de referencia no necesita mantenerse a temperatura constante. Para mejorar la sensibilidad se deben conectar en serie varios termopares para tener lo que se llama una *termopila*.

Un transductor de termopar muy bien diseñado tiene la capacidad de responder a diferencias de temperatura de 10^{-6} K que corresponden a una diferencia de potencial de alrededor de 6 a 8 $\mu\text{V}/\mu\text{W}$. El termopar de un detector infrarrojo es un dispositivo de baja impedancia que casi siempre está conectado a un am-

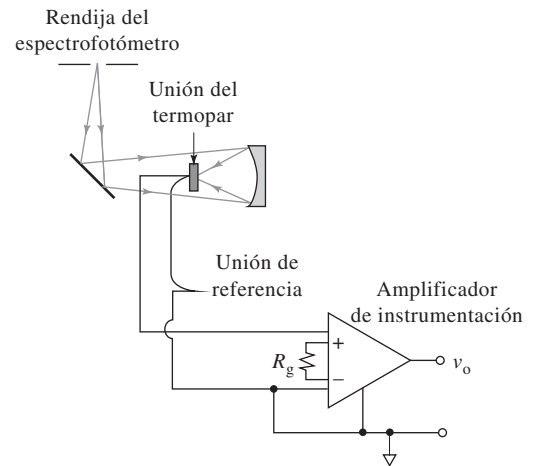


FIGURA 7.38 Termopar y amplificador de instrumentación. El voltaje de salida v_o es proporcional al voltaje del termopar. La magnitud de v_o se determina mediante el resistor de ganancia R_g , que ejecuta la misma función que R_1/a en la figura 5.4.

plicador de diferencias de alta impedancia, como el amplificador de instrumentación que se ilustra en la figura 7.38. Los amplificadores de instrumentación se analizan en la sección 5C.1. Los amplificadores de diferencias, como el de la figura 3.13, se utilizan también para acondicionar la señal en los circuitos de detección del termopar.

Bolómetros

Un bolómetro es un tipo de termómetro de resistencia construido con tiras de metales, como platino o níquel, o con un semiconductor. Los bolómetros de semiconductor se llaman a menudo *termistores*. Estos materiales manifiestan un cambio relativamente grande en la resistencia en función de la temperatura. El elemento sensible sigue siendo pequeño y se ennegrece para absorber el calor radiante. Los bolómetros no se usan tan ampliamente como otros transductores infrarrojos para la región infrarroja media. No obstante, un bolómetro de germanio, que funciona a 1.5 K, es casi el transductor ideal para radiación en el intervalo de 5 a 400 cm^{-1} (2000 a 25 μm).

Transductores piroeléctricos

Este tipo de transductores se construyen a partir de obleas cristalinas sencillas de *materiales piroeléctricos*, los cuales son aislantes, o dieléctricos, con propiedades térmicas y eléctricas muy especiales. El material piroeléctrico más importante que se usa en la fabricación de transductores infrarrojos es el sulfato de triglicina $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ por lo regular deuterado o con una fracción de las glicinas reemplazadas con alanina.

Cuando se aplica un campo eléctrico a cualquier material dieléctrico, tiene lugar la polarización eléctrica, cuya magnitud es una función de la constante dieléctrica del material. En casi todos los dieléctricos esta polarización inducida disminuye a cero con rapidez cuando se elimina el campo externo. En cambio, las sustancias piroeléctricas conservan una polarización fuerte que depende de la temperatura después de que se elimina el campo. Por consiguiente, si se coloca el cristal piroeléctrico entre dos electrodos, uno de los cuales es transparente al infrarrojo, se tiene un capacitor que depende de la temperatura. Al cambiar su temperatura irradiándolo con radiación infrarroja se modifica la distribución de carga en el cristal, lo cual crea una corriente susceptible de ser medida en un circuito eléctrico externo que conecte los dos lados del capacitor. La magnitud de esta corriente es proporcional al área superficial del cristal y a su razón de cambio de polarización respecto a la temperatura. Los cristales piroeléctricos pierden su polarización residual cuando se calientan a una temperatura llamada *punto Curie*. En el caso del sulfato de triglicina, el punto Curie es de 47°C.

Los transductores piroeléctricos manifiestan tiempos de respuesta que son lo suficientemente rápidos como para facilitar rastrear los cambios en la señal en el dominio del tiempo desde un interferómetro. Por esta razón, la mayor parte de los espectrómetros de la transformada de Fourier usan este tipo de transductor.

7F PROCESADORES DE SEÑALES Y SISTEMAS DE LECTURA

Por lo general, el procesador de señal es un dispositivo electrónico que amplifica la señal eléctrica proveniente del transductor. Además, puede cambiar la señal de cd en ca, o a la inversa, cambiar la fase de la señal y filtrarla para eliminar componentes indeseables. Además, el procesador de señales ejecuta operaciones matemáticas con la señal, como derivación, integración o conversión a un logaritmo.

Se puede encontrar diferentes tipos de dispositivos que despliegan la información en los instrumentos modernos. Entre ellos se incluyen el medidor de D'Arsonval, medidores digitales, registradores, tubos de rayos catódicos, paneles de pantallas de cristal líquido y pantallas de computadora.

7F.1 Conteo de fotones

La salida de un tubo fotomultiplicador está constituida por un pulso de electrones para cada fotón que llega a la superficie del detector. Con frecuencia, esta señal analógica se filtra para eliminar las fluctuaciones indeseables debidas a la aparición aleatoria de fotones en

el fotocátodo y se mide como un voltaje o corriente cd. No obstante, si la intensidad de la radiación es demasiado baja para proporcionar una relación señal-ruido satisfactoria, es posible —y a menudo ventajoso— procesar la señal a un tren de pulsos digitales que pueden ser contados como se estudió en la sección 4C. En este caso, la potencia radiante es proporcional a la cantidad de pulsos por unidad de tiempo y no a una corriente promedio o voltaje. Este tipo de medición se llama *conteo de fotones*.

Las técnicas de conteo se han usado durante muchos años para medir la potencia radiante de los rayos X y de la radiación producida por la desintegración de especies radiactivas. Estas técnicas se tratan con detalle en los capítulos 12 y 32. El conteo de fotones se usa también para la radiación ultravioleta y visible, pero en esta aplicación la que se cuenta es la salida de un tubo fotomultiplicador.²⁸ En la sección anterior se señaló que un solo fotón que choca contra el cátodo de un fotomultiplicador causa en última instancia una cascada de 10^6 a 10^7 electrones, los cuales producen un pulso de carga que es susceptible de ser amplificado y contado.

Por lo general, el equipo para el conteo de fotones es similar al que se ilustra en la figura 4.2, en la cual un comparador rechaza pulsos a menos que excedan de algún voltaje mínimo predeterminado. Los comparadores son útiles para esta tarea porque la corriente residual y el ruido del instrumento son con frecuencia significativamente menores que el pulso de la señal y, por tanto, no se cuentan.

El conteo de fotones tiene muchas ventajas respecto al proceso de la señal analógica, incluso una relación señal-ruido mejorada, sensibilidad a bajos niveles de radiación, mayor precisión para un tiempo de medición dado y menor sensibilidad a las fluctuaciones de voltaje y temperatura del tubo fotomultiplicador. Sin embargo, el equipo que se requiere es más complejo y caro. Como resultado, la técnica no se utiliza ampliamente en las mediciones rutinarias de absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible en las que no se requiere de alta sensibilidad. No obstante, se ha convertido en el método de detección preferido en espectrometría de fluorescencia, quimioluminiscencia y Raman en los que los niveles de potencia radiante son bajos.

7G FIBRAS ÓPTICAS

A finales de los años sesenta empezaron a aparecer en el mercado instrumentos analíticos que contenían fibra óptica para transmitir radiación e imágenes desde

²⁸ Para un repaso del conteo de fotones, refiérase a H. J. Malmstadt, M. L. Franklin y G. Horlick, *Anal. Chem.*, **1972**, 44 (8), p. 63A.

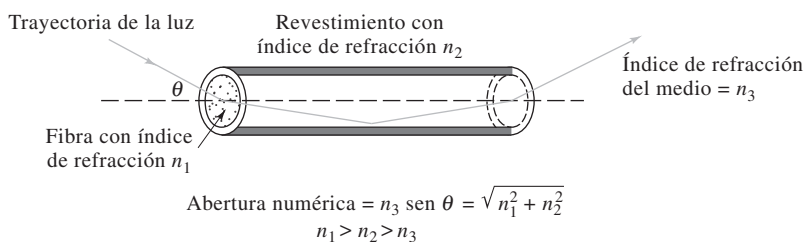


FIGURA 7.39 Esquema de la trayectoria de la luz a través de una fibra óptica.

un componente del instrumento a otro. Las fibras ópticas han añadido una nueva dimensión de utilidad al diseño de instrumentos ópticos.²⁹

7G.1 Propiedades de las fibras ópticas

Las fibras ópticas son finos hilos de vidrio o de plástico que transmiten radiación a distancias de algunos cientos de metros o más. El diámetro de las fibras ópticas varía de 0.05 μm a 0.6 cm. Si lo que se quiere transmitir son imágenes, se utilizan haces de fibras fundidas en los extremos. Una de las principales aplicaciones de estos haces de fibras es en el diagnóstico médico, porque su flexibilidad permite la transmisión de imágenes de órganos a través de tortuosos caminos hasta el médico. Las fibras ópticas se usan no sólo para observar objetos, sino también para iluminarlos. En tales aplicaciones, la aptitud de iluminar sin calentar es con frecuencia muy importante.

La transmisión de luz por medio de fibra óptica tiene lugar mediante la reflexión interna total, como se puede ver en la figura 7.39. Para que existan reflexiones internas totales, se requiere que la fibra que transmite esté cubierta con un material cuyo índice de refracción sea un poco menor que el índice de refracción de la fibra. Por consiguiente, una fibra de vidrio característica tiene un núcleo con índice de refracción de alrededor de 1.6 y una cubierta de vidrio con índice de refracción de casi 1.5. Las fibras de plástico características tienen un núcleo de polimetilmetacrilato cuyo índice de refracción es de 1.5 y una cubierta de polímero de índice de refracción de 1.4.

Una fibra (figura 7.39) transmitirá radiación contenida en un cono incidente limitado de la mitad del ángulo denominado θ en la figura. La *abertura numérica* de la fibra proporciona una medida de la magnitud del llamado *cono de apertura*.

Se pueden fabricar fibras que transmitirán radiación ultravioleta, visible o infrarroja seleccionando materiales adecuados para su construcción. Encontra-

rá varios ejemplos de su aplicación a instrumentos analíticos ordinarios en los capítulos siguientes.

7G.2 Sensores de fibra óptica

Los *sensores de fibra óptica*, que a veces reciben el nombre de *optrodos*, están constituidos por una fase reactiva inmovilizada en el extremo de una fibra óptica.³⁰ La interacción del analito con el reactivo origina un cambio en la absorbancia, la reflectancia, la fluorescencia o la luminiscencia, el cual se transmite luego a un detector por medio de la fibra óptica. Los sensores de fibra óptica por lo general son sencillos y baratos, y se han miniaturizado con facilidad. Se usan ampliamente para detectar materiales biológicos, por lo que se les conoce como *biosensores*. De hecho, estos sensores se han miniaturizado a la escala de nanómetros. Estos dispositivos se denominan *nanobiosensores*.³¹

7H TIPOS DE INSTRUMENTOS ÓPTICOS

En esta sección se define la terminología que se usa para describir varios tipos de instrumentos ópticos. Es importante entender que muchos científicos no están de acuerdo con ella y no la usan. Es simplemente una nomenclatura común y es la que se utiliza en todo el libro.

Un *espectroscopio* es un instrumento óptico que se utiliza para la identificación *visual* de líneas de emisión atómica. Consiste en un monocromador, como uno de los que se muestran en la figura 7.18, en el que la rendija de salida se reemplaza con un ocular que se puede mover a lo largo del plano focal. La longitud de onda de una línea de emisión puede ser determinada luego a partir del ángulo entre los rayos incidente y disperso cuando la línea está centrada en el ocular.

²⁹ Un repaso de las aplicaciones de la fibra óptica se encuentra en I. Chabay, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, p. 1071A y J. K. Crum, *Anal. Chem.*, **1969**, 41, p. 26A.

³⁰ M. A. Arnold, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, p. 1015A; R. E. Dessy, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 1079A; W. R. Seitz, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, p. 16A; S. Borman, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1161A; *ibid.*, **1986**, 58, p. 766A.

³¹ T. Vo-Dinh, en *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Stevenson Ranch, CA: American Scientific Publishers, **2004**, 6, p. 53-59; T. Vo-Dinh, *J. Cell. Biochem. Suppl.*, **2002**, 39, p. 154.

Con el término *colorímetro* se designa un instrumento para medir la absorción; el ojo humano funciona como el detector con ayuda de uno o más patrones de comparación de color. Un *fotómetro* consta de una fuente, un filtro y un transductor fotoeléctrico así como un procesador de señales y una pantalla donde se leen los resultados. Tenga en cuenta que algunos científicos y fabricantes de instrumentos se refieren a los fotómetros como colorímetros o colorímetros fotoeléctricos. Los fotómetros de filtro se encuentran en el comercio para efectuar mediciones de absorción en las regiones ultravioleta, visible e infrarroja, así como emisiones y fluorescencia en las primeras dos regiones de longitud de onda. Los fotómetros diseñados para medir la fluorescencia también se denominan *fluorómetros*.

Un *espectrógrafo* es similar en construcción a los dos monocromadores de la figura 7.18, excepto que la rendija está reemplazada con una abertura grande que contiene un detector o transductor que está expuesto en forma continua al espectro completo de la radiación dispersa. En el pasado, el detector tenía una película o una placa fotográfica. En la actualidad, los diodos en serie o los dispositivos de transferencia de carga se utilizan a menudo como transductores en los espectrógrafos.

Un *espectrómetro* es un instrumento que proporciona información relacionada con la intensidad de radiación en función de la longitud de onda o de la frecuencia. Los módulos dispersores en algunos espectrómetros son de varios canales, de modo que se pueden ver en forma simultánea dos o más frecuencias. A estos instrumentos se les llama a menudo *policromadores*. Un *espectrofotómetro* es un espectrómetro equipado con una o más rendijas de salida y transductores fotoeléctricos que facilitan la determinación de la relación entre la potencia radiante de dos haces en función de la longitud de onda como en la espectroscopía de absorción. Un *espectrofotómetro* para análisis de fluorescencia se denomina a veces *espectrofluorómetro*.

Todos los instrumentos mencionados en esta sección usan filtros o monocromadores para aislar una parte del espectro para medirla. En cambio, un instrumento *múltiplex* obtiene información del espectro sin que se tenga primero que filtrar o dispersar la radiación con el fin de proporcionar longitudes de onda de interés. El término *múltiplex* proviene de la teoría de la comunicación, donde se usa para describir sistemas en los cuales muchos conjuntos de información son transportados de modo simultáneo por un solo canal. Los instrumentos analíticos múltiplex son dispositivos de un solo canal en los cuales todos los componentes de una respuesta analítica se reúnen en forma simultánea. Para determinar la magnitud de cada uno de estos componentes se requiere modular la señal del

analito de modo que se pueda descodificar después en sus partes.

La mayor parte de los instrumentos analíticos múltiplex dependen de la *transformada de Fourier* (FT, por sus siglas en inglés) para descodificar la señal, y a menudo se les conoce con el nombre de espectrómetros de transformada de Fourier. Dichos instrumentos no están restringidos a la espectroscopía óptica, también se utilizan en la espectrometría de resonancia magnética nuclear, en la espectrometría de masas y en la espectroscopía de microondas. Varios de estos instrumentos se estudian con detalle en los capítulos siguientes. La sección siguiente trata sobre los principios de operación de los espectrómetros ópticos de transformada de Fourier.

71 PRINCIPIOS DE LAS MEDICIONES ÓPTICAS DE TRANSFORMADA DE FOURIER

La espectroscopía de transformada de Fourier fue perfeccionada por astrónomos a principios de los años cincuenta del siglo XX para estudiar el espectro infrarrojo de las estrellas lejanas. Sólo mediante la técnica de Fourier pudieron ser aisladas del ruido ambiental las señales muy débiles provenientes de estas fuentes. La primer aplicación en el campo de la química de la espectroscopía de transformada de Fourier, la cual fue dada a conocer alrededor de una década más tarde, fue en la región del infrarrojo lejano de muy baja energía. A finales de los años sesenta ya se encontraban en el comercio instrumentos para estudios químicos tanto en la región del infrarrojo lejano (10 a 400 cm^{-1}) como en la región del infrarrojo común. Las descripciones de los instrumentos de transformada de Fourier para las regiones ultravioleta y visible del espectro se pueden consultar en las publicaciones especializadas, pero su uso es menos amplio.³²

71.1 Ventajas inherentes de la espectrometría de transformada de Fourier

El uso de los instrumentos de transformada de Fourier tiene grandes ventajas. La primera es el *rendimiento* o *ventaja Jaquinot*, que se obtiene porque los instrumentos de transformada de Fourier tienen pocos elementos

³² Si desea un estudio completo sobre la espectroscopía de transformada de Fourier refiérase a A. G. Marshall y F. R. Verdun, *Fourier Transforms in NMR, Optical, and Mass Spectrometry*, Nueva York: Elsevier, 1990; A. G. Marshall, *Fourier, Hadamard, and Hilbert Transforms in Chemistry*, New York: Plenum Press, 1982; *Transform Techniques in Chemistry*, P. R. Griffiths, ed., Nueva York: Plenum Press, 1978. Un breve repaso está en P. R. Griffiths, *Science*, **1983**, 222, p. 297; W. D. Perkins, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. A5, A296; L. Glasser, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, pp. A228, A260, A306.

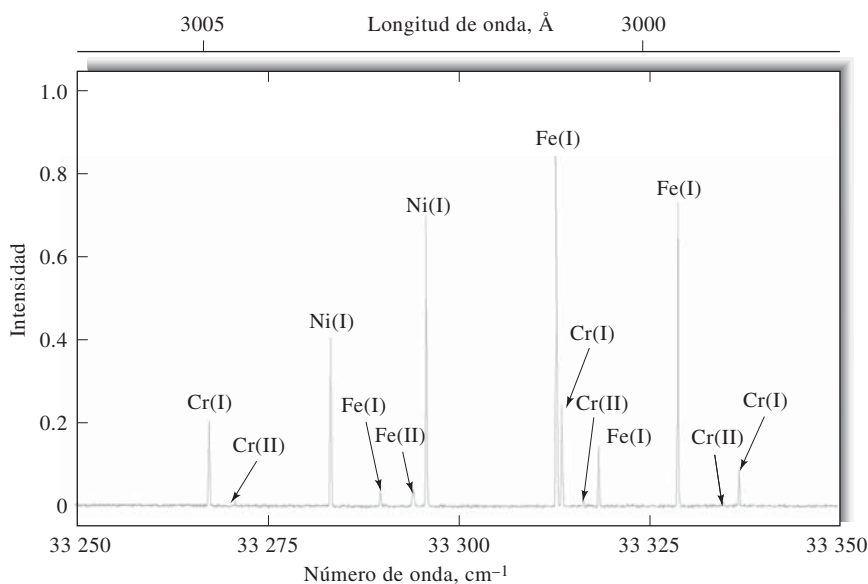


FIGURA 7.40 Un espectro de emisión del hierro en el que se ilustra la alta potencia de resolución de un espectrómetro de emisión de transformada de Fourier. (Tomada de A. P. Thorne, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, p. 57A. Figura 6, p. 63A. Copyright 1991 American Chemical Society.)

ópticos y ninguna rendija que atenúe la radiación. Como resultado, la potencia radiante que llega al detector es mucho mayor que en un instrumento dispersor, y se observan mucho mayores relaciones señal-ruido.

La segunda ventaja de los instrumentos de transformada de Fourier es su extremadamente alta potencia de resolución y la capacidad de reproducción de la longitud de onda, lo cual facilita el análisis de espectros complejos en los que el número absoluto de líneas y espectros imbricados dificultan la determinación de las características espectrales individuales. En la figura 7.40, que es parte de un espectro de emisión del hierro, se ilustra esta ventaja. El espectro, que se extiende desde sólo 299.85 a 300.75 nm, contiene 13 líneas muy bien separadas de tres elementos. La resolución de la longitud de onda ($\Delta\lambda/\lambda$) para el par de líneas más cercanas es de casi 6 ppm.

Una tercera ventaja es que todos los elementos de la fuente llegan al detector de manera simultánea. Esta característica facilita la obtención de datos de un espectro completo en un segundo o menos. Más adelante se examinan las consecuencias de esta última ventaja con más detalle.

Para los propósitos de este análisis, conviene pensar que un espectro obtenido en forma experimental está formado de m medidas de transmitancia individuales a frecuencia igualmente espaciada o intervalos de longitud de onda llamados *elementos de resolución*. La calidad del espectro, es decir, la cantidad de detalles del espectro, aumenta cuando la cantidad de elementos de resolución se vuelve más grande o cuando los interva-

los de frecuencia entre mediciones se vuelven más pequeños.³³ Por consiguiente, para aumentar la calidad del espectro, m debe ser más grande; es evidente que al incrementarse la cantidad de elementos de resolución también debe aumentar el tiempo necesario para obtener un espectro con un instrumento de barrido.

Por ejemplo, considere la medición de un espectro infrarrojo de 500 a 5000 cm^{-1} . Si se eligieran elementos de resolución de 3 cm^{-1} , m sería 1500; si fuera necesario 0.5 s para registrar la transmitancia de cada elemento de resolución, se necesitarían 750 s, es decir, 12.5 min, para obtener el espectro. Al reducir la anchura del elemento de resolución a 1.5 cm^{-1} se esperarían proporcionar una cantidad mayor de detalles del espectro; se duplicaría la cantidad de elementos de resolución, así como el tiempo requerido para medirlos.

Por lo que se refiere a la mayoría de los instrumentos ópticos, sobre todo a los diseñados para la región infrarroja, la disminución de la anchura del elemento de resolución tiene el efecto desafortunado de reducir la relación señal-ruido porque se tienen que usar rendijas más angostas, lo cual causa que señales de fuente más débiles lleguen al transductor. En el caso de los detectores infrarrojos, la reducción en la potencia de la señal no está acompañada por una disminución correspondiente en el ruido del detector. Por tanto, resulta una degradación en la relación señal-ruido.

³³ Con un espectrofotómetro de registro no se ejecutan mediciones individuales punto por punto; sin embargo, la idea de un elemento de resolución es útil, y las ideas generadas a partir de ello se aplican también a los instrumentos de registro.

En el capítulo 5 se señaló que la relación señal-ruido se mejora en gran medida promediando la señal. Ya se demostró con la ecuación 5.11 que la relación señal-ruido S/N para el promedio de n mediciones está dado por

$$\left(\frac{S}{N}\right)_n = \sqrt{n} \left(\frac{S}{N}\right)_i \quad (7.20)$$

donde $(S/N)_i$ es la S/N de una medida. Por desgracia, la aplicación del promedio de la señal a la espectroscopía común es costosa por el tiempo que requiere. Por consiguiente, en el ejemplo que se acaba de considerar, se requieren 750 s para obtener un espectro de 1500 elementos de resolución. Para mejorar la relación señal-ruido por un factor de dos se requeriría promediar cuatro espectros, lo cual representaría 4×750 s, que equivale a 50 min.

La espectroscopía de transformada de Fourier difiere de la espectroscopía ordinaria en que todos los elementos de resolución de un espectro se miden *de manera simultánea*, lo cual reduce enormemente el tiempo requerido para obtener un espectro en cualquier relación señal-ruido. Un espectro completo de 1500 elementos de resolución se puede registrar en un tiempo aproximado al que se requiere para observar sólo un elemento mediante la espectroscopía ordinaria (0.5 s en el ejemplo anterior). Esta disminución tan grande en el tiempo de observación se usa a menudo para mejorar de manera importante la relación señal-ruido de las mediciones de la transformada de Fourier. Por ejemplo, en los 750 s que se requieren para determinar el espectro por barrido, se pueden registrar y promediar 1500 espectros de transformada de Fourier. De acuerdo con la ecuación 7.20, la mejora en la relación señal-ruido sería de $\sqrt{1500}$, que es casi 39. Esta ventaja inherente de la espectroscopía de transformada de Fourier la reconoció primero P. Fellgett en 1958, por lo que se llama la *ventaja Fellgett*, o *ventaja múltiplex*. Vale la pena hacer notar aquí que, por varias razones, la mejora teórica $\sqrt{n}$ en S/N se alcanza pocas veces. Sin embargo, las mejoras más importantes en las relaciones señal-ruido se observan por lo general con la técnica de transformada de Fourier.

La ventaja de múltiplex es tan importante que casi todos los espectrómetros infrarrojos son ahora del tipo de transformada de Fourier. Los instrumentos de transformada de Fourier son mucho menos comunes para las regiones ultravioleta, visible e infrarroja cercana porque las limitaciones señal-ruido para las mediciones espectrales con estos tipos de radiación son rara vez resultado del ruido del detector, sino que se deben al ruido de disparo y al ruido fluctuante asociado con la fuente. En contraste con el ruido del detector, las magnitudes tanto del ruido de disparo como del fluctuante se incrementan cuando aumenta la potencia

radiante de la señal. Además, el ruido total de todos los elementos de resolución en una medición de transformada de Fourier tiende a ser promediado y se extiende uniformemente en el espectro completo transformado. Por consiguiente, la relación señal-ruido para picos fuertes en presencia de picos débiles mejora mediante el promedio pero degrada los picos más débiles. Por lo que toca al ruido fluctuante, como el que se encuentra en la radiación de fondo proveniente de muchas fuentes espectrales, se observa degradación de S/N para todos los picos. Este efecto se denomina a veces la *desventaja del múltiplex* y es el causante principal de que la transformada de Fourier no se use tanto en la espectroscopía UV-visible.³⁴

71.2 Espectroscopía del dominio del tiempo

La espectroscopía ordinaria se puede llamar *espectroscopía del dominio* de la frecuencia porque los datos de la potencia radiante se registran en función de la frecuencia o de la relación inversa de la longitud de onda. En cambio, la espectroscopía del *dominio del tiempo*, la cual se puede efectuar mediante la transformada de Fourier, se relaciona con los cambios en la potencia radiante respecto al *tiempo*. En la figura 7.41 se ilustra la diferencia.

Las gráficas de la figura 7.41c y d son espectros ordinarios de dos fuentes monocromáticas con frecuencias ν_1 y ν_2 Hz. La curva de la figura 7.41e es el espectro de una fuente que contiene ambas frecuencias. En cada caso, la potencia radiante $P(\nu)$ se grafica respecto a la frecuencia en hertz. El símbolo entre paréntesis se añade para recalcar que la potencia depende de la frecuencia; la potencia en el dominio del tiempo se indica mediante $P(t)$.

Las curvas de la figura 7.41a muestran los espectros del dominio del tiempo para cada una de las fuentes monocromáticas. Las dos fueron graficadas juntas para hacer más evidente la pequeña diferencia de frecuencia entre ellas. En este caso, la potencia instantánea $P(t)$ se grafica en función del tiempo. La curva de la figura 7.41b es el espectro en el dominio del tiempo de la fuente que contiene ambas frecuencias. Como lo muestra con la flecha horizontal, la gráfica manifiesta una periodicidad, u *oscilación*, a medida que las dos ondas entran y salen de fase.

La figura 7.42 es una señal en el dominio del tiempo proveniente de una fuente que contiene muchas longitudes de onda. Es mucho más compleja que la que se muestra en la figura 7.41. A causa de la gran cantidad de longitudes de onda que intervienen, no se completa

³⁴Para una mejor descripción de esta *desventaja múltiplex* en la espectroscopía atómica refiérase a A. P. Thorne, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, pp. 62A-63A; A. G. Marshall y F. R. Verdun, *Fourier Transforms in NMR, Optical, and Mass Spectrometry*, capítulo. 5, Nueva York: Elsevier, 1990.

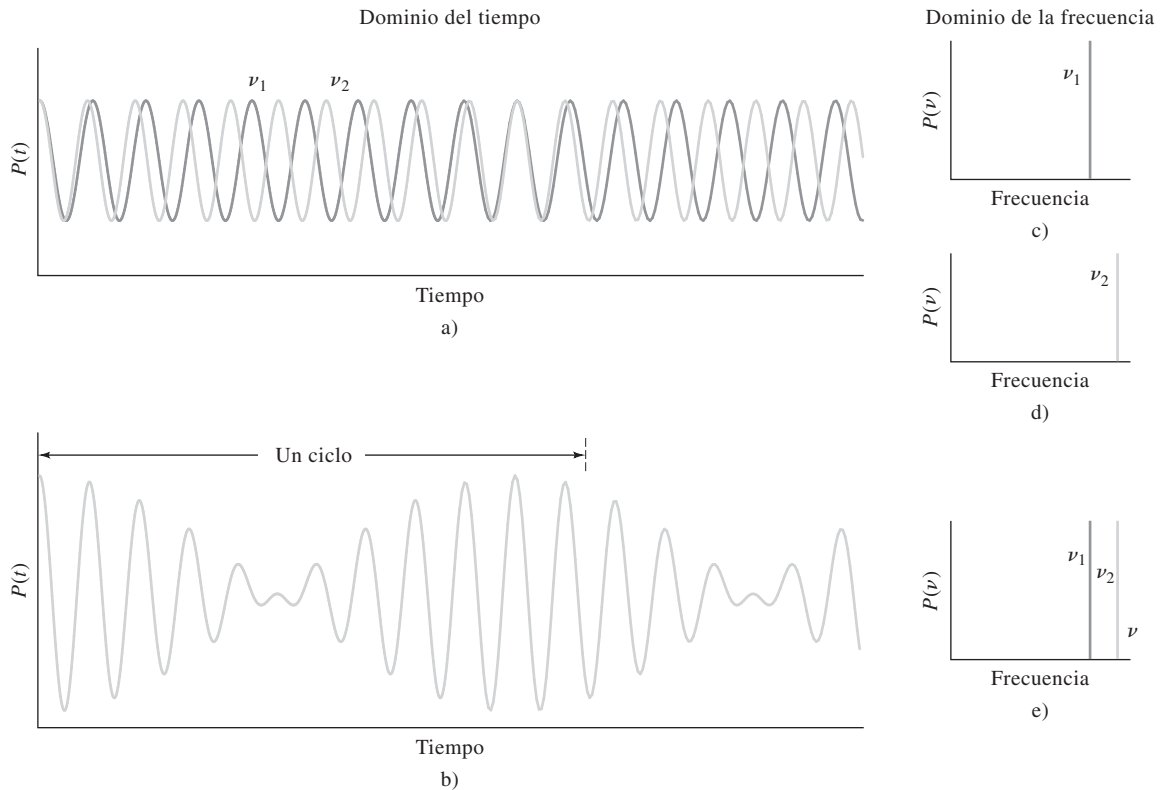


FIGURA 7.41 a) Gráfica en el dominio del tiempo de dos frecuencias ligeramente diferentes de la misma amplitud ν_1 y ν_2 . b) Gráfica en el dominio del tiempo de la suma de las dos ondas en a). c) Gráfica en el dominio de la frecuencia de ν_1 . d) Gráfica en el dominio de la frecuencia de ν_2 . e) Gráfica en el dominio de la frecuencia de la onda en b).

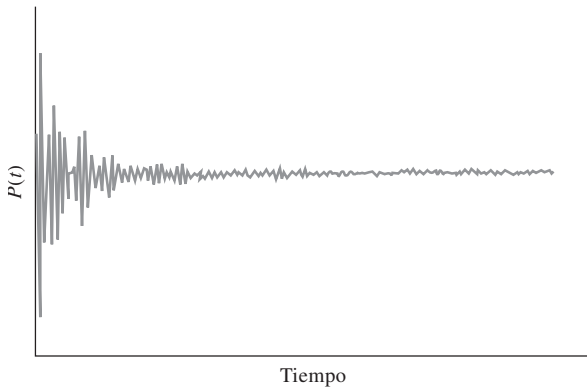


FIGURA 7.42 Señal del dominio del tiempo de una fuente constituida por muchas longitudes de onda.

un ciclo en el periodo mostrado. Aparece un patrón de oscilaciones conforme ciertas longitudes entran y salen de fase. En general, la potencia de la señal disminuye con el tiempo porque las longitudes de onda tan cercanas se vuelven más y más fuera de fase.

Es importante apreciar que una señal en el dominio del tiempo contiene la misma información que un espectro en el dominio de la frecuencia y, de hecho, uno

se puede convertir en el otro mediante cálculos numéricos. Por tanto, la figura 7.41b se determinó a partir de los datos de la figura 7.41e mediante la ecuación

$$P(t) = k \cos(2\pi\nu_1 t) + k \cos(2\pi\nu_2 t) \quad (7.21)$$

donde k es una constante y t es el tiempo. La diferencia de frecuencia entre las dos líneas fue de aproximadamente 10% de ν_2 .

La interconversión de señales en el dominio del tiempo y en el dominio de la frecuencia es compleja y tediosa desde el punto de vista matemático, y más cuando son sólo unas pocas líneas. La operación sólo es práctica con ayuda de una computadora. En la actualidad, los algoritmos rápidos de la transformada de Fourier facilitan los cálculos de los espectros en el dominio de la frecuencia a partir de espectros en el dominio del tiempo en segundos o menos.

71.3 Adquisición de espectros en el dominio del tiempo mediante el interferómetro de Michelson

Las señales en el dominio del tiempo, como las que se observan en las figuras 7.41 y 7.42, no se pueden adquirir en forma experimental con radiación en el intervalo

de frecuencias que se asocia con la espectroscopía óptica (10^{12} a 10^{15} Hz) porque no hay transductores que respondan a las variaciones de la potencia radiante de estas frecuencias altas. Entonces, un transductor típico produce una señal que corresponde a la potencia promedio de una señal de frecuencia alta y no a su variación periódica. Por tanto, para obtener señales en el dominio del tiempo se requiere un método de conversión o *modulador* para transformar una señal de alta frecuencia en una de frecuencia que se pueda medir sin distorsionar las relaciones de tiempo incluidas en la señal; es decir, las frecuencias en la señal modulada deben ser directamente proporcionales a las de la señal original. Se usan diferentes procedimientos en la modulación de señales para las diversas regiones de longitudes de onda del espectro. El *interferómetro de Michelson* se usa ampliamente para modular la radiación en la región óptica.

El instrumento que se usa para modular la radiación óptica es un interferómetro similar en diseño al que describió por primera vez Michelson a finales del siglo XIX. El interferómetro de Michelson es un dispositivo que parte un haz de radiación en dos rayos de potencia casi igual y luego los recombina de tal manera que las variaciones de intensidad del haz recombinado se pueden medir en función de las diferencias en las longitudes de las trayectorias de los dos rayos. En la figura 7.43 se ilustra un esquema de un interferómetro como el que se usa para la espectroscopía óptica de transformada de Fourier.

Como se puede ver en la figura 7.43, un haz de radiación proveniente de una fuente es colimado y choca luego en un divisor de rayos, el cual transmite alrededor de la mitad de la radiación y refleja la otra mitad. Los rayos gemelos resultantes se reflejan luego desde los espejos, uno fijo y el otro móvil. Los rayos se vuelven a reunir en el divisor de haces, la mitad de cada uno se dirige hacia la muestra y el detector, y las otras dos mitades se regresan a la fuente. Sólo las dos mitades que atraviesan la muestra del detector se usan para fines analíticos.

El movimiento horizontal del espejo móvil hace que la potencia radiante que llega al detector fluctúe de una manera que se pueda reproducir. Cuando los dos espejos equidistan del divisor (posición 0 en la figura 7.43), las dos partes del haz recombinado están precisamente en fase, y la potencia de la señal está en su máximo. En el caso de una fuente monocromática, el desplazamiento del espejo móvil en cualquier dirección una distancia igual a exactamente un cuarto de la longitud de onda (posición B o C en la figura) cambia la longitud de la trayectoria del rayo reflejado correspondiente por una mitad de la longitud de onda (un cuarto de la longitud de onda para cada dirección). En esta posición del espejo, la interferencia destructiva reduce la potencia radiante de los rayos recombinados a cero. Cuando el espejo se mueve a A o D las dos mitades de los rayos están de nuevo en fase de modo que otra vez se presenta la interferencia constructiva.



Simulación: aprenda más acerca del **interferómetro de Michelson y los espectrómetros de transformada de Fourier**.

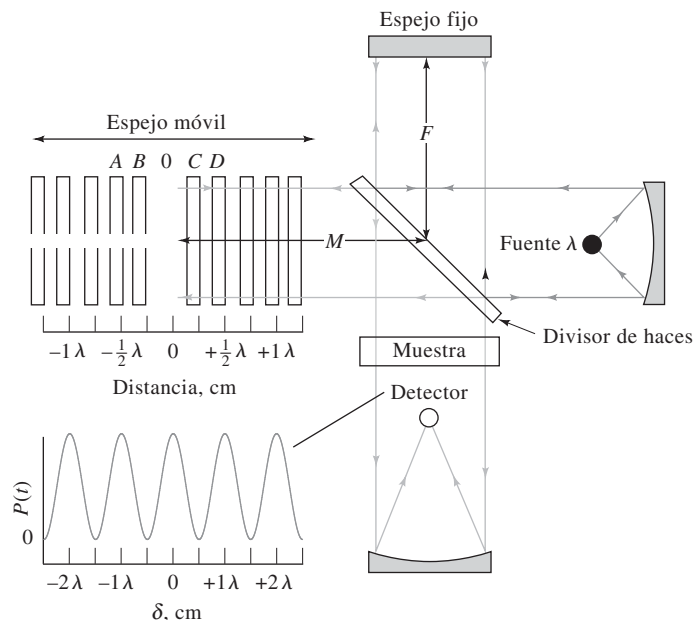


FIGURA 7.43 Esquema de un interferómetro de Michelson iluminado por una fuente monocromática.

La diferencia en las longitudes de las trayectorias de los dos rayos, $2(M - F)$ en la figura, se llama *retardo* δ . Una gráfica de la potencia de salida desde el detector contra δ se llama *interferograma*. En el caso de la radiación monocromática, el interferograma tiene la forma de una curva coseno como la que se muestra en la parte inferior izquierda de la figura 7.43 (coseno y no seno porque la potencia está siempre en un máximo cuando δ es cero y las dos trayectorias son idénticas).

La señal que varía con el tiempo producida por la radiación que choca contra el detector en un interferómetro de Michelson tiene una frecuencia mucho menor que la de la fuente. La relación entre las dos frecuencias se deduce con referencia a la gráfica de $P(t)$ contra δ en la figura 7.43. Un ciclo de esta señal ocurre cuando el espejo se mueve una distancia que corresponde a la mitad de la longitud de onda ($\lambda/2$). Si el espejo se mueve a una velocidad constante v_M , y se define τ como el tiempo que requiere el espejo para moverse $\lambda/2$ cm, es posible plantear

$$v_M \tau = \frac{\lambda}{2} \quad (7.22)$$

La frecuencia f de la señal en el detector es simplemente el recíproco de τ , o bien,

$$f = \frac{1}{\tau} = \frac{v_M}{\lambda/2} = \frac{2v_M}{\lambda} \quad (7.23)$$

Se podría relacionar también esta frecuencia con el número de onda $\bar{\nu}$ de la radiación. Por consiguiente,

$$f = 2v_M \bar{\nu} \quad (7.24)$$

La relación entre la *frecuencia óptica* de la radiación y la frecuencia del interferograma se obtiene al sustituir $\lambda = c/\nu$ en la ecuación 7.23. Entonces,

$$f = \frac{2v_M}{c} \nu \quad (7.25)$$

donde ν es la frecuencia de la radiación c es la velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s). Cuando v_M es constante, la *frecuencia del interferograma* f es directamente proporcional a la *frecuencia óptica* ν . Además, la constante de proporcionalidad es una cantidad muy pequeña. Por ejemplo, si el espejo se mueve a una velocidad de 1.5 cm/s,

$$\frac{2v_M}{c} = \frac{2 \times 1.5 \text{ cm/s}}{3 \times 10^{10} \text{ cm/s}} = 10^{-10}$$

y

$$f = 10^{-10} \nu$$

Como se demuestra con el siguiente ejemplo, la frecuencia de la radiación visible y la infrarroja se modula

con facilidad en el intervalo de audio mediante un interferómetro de Michelson.

EJEMPLO 7.3

Calcule el intervalo de frecuencia de una señal modulada a partir de un interferómetro de Michelson cuya velocidad del espejo es de 0.20 cm/s, para radiación visible de 700 nm y radiación infrarroja de 16 μm (4.3×10^{14} a 1.9×10^{13} Hz).

Solución

Con la ecuación 7.23, se tiene

$$f_1 = \frac{2 \times 0.20 \text{ cm/s}}{700 \text{ nm} \times 10^{-7} \text{ cm/nm}} = 5700 \text{ Hz}$$

$$f_1 = \frac{2 \times 0.20 \text{ cm/s}}{16 \mu\text{m} \times 10^{-4} \text{ cm}/\mu\text{m}} = 250 \text{ Hz}$$

Ciertos tipos de transductores de radiación visible e infrarroja tienen la aptitud de seguir fluctuaciones en la potencia de la señal que caen en el intervalo de frecuencia del audio. Por consiguiente, es posible registrar una señal modulada en el dominio del tiempo en el intervalo de la frecuencia de audio, que es una traducción exacta de la apariencia de la señal de muy alta frecuencia en el dominio del tiempo proveniente de una fuente visible o infrarroja. En la figura 7.44 se ilustran tres ejemplos de dichos interferogramas en el dominio del tiempo. En la parte superior de cada una de las columnas está la imagen del patrón de interferencia que aparece en la salida del interferómetro de Michelson. En la parte media están las señales del interferograma que resultan de los patrones en la parte superior, y los espectros correspondientes en el dominio de la frecuencia están en la parte inferior.

Transformación de Fourier de interferogramas

La onda coseno del interferograma de la figura 7.4a (y también en la figura 7.43) se puede describir mediante la ecuación

$$P(\delta) = \frac{1}{2} P(\bar{\nu}) \cos 2\pi f t \quad (7.26)$$

donde $P(\bar{\nu})$ es la potencia radiante del rayo incidente sobre el interferómetro y $P(\delta)$ es la amplitud, o potencia, de la señal del interferograma. Los símbolos entre paréntesis recalcan que una potencia está en el dominio de la frecuencia y la otra en el dominio del tiempo. En la práctica se modifica la ecuación 7.26 para tomar en cuenta el hecho de que el interferómetro no parte la fuente exactamente a la mitad y que la respuesta del detector y el comportamiento del amplificador

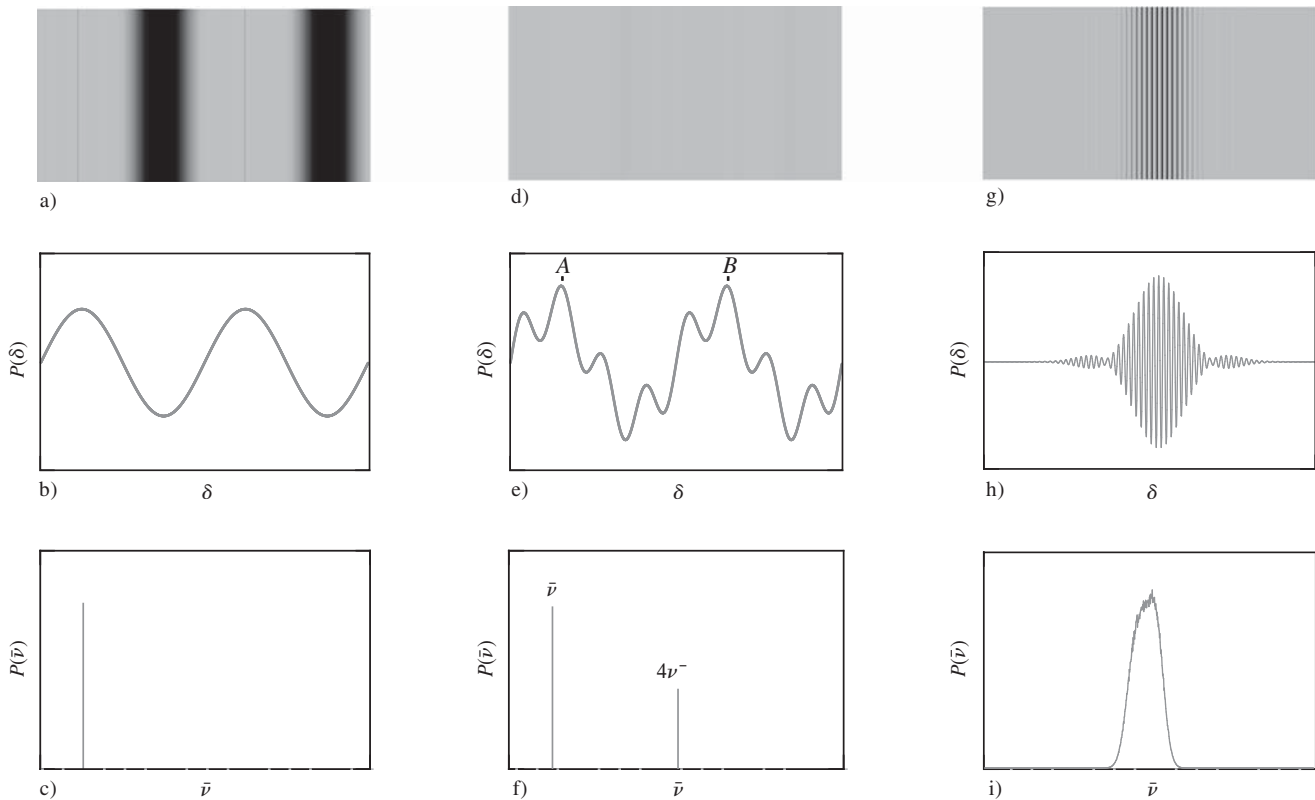


FIGURA 7.44 Formación de interferogramas en la salida del interferómetro de Michelson. a) Patrón de interferencia en la salida del interferómetro resultante de una fuente monocromática. b) Señal con variación sinusoidal (interferograma) producida en el detector a medida que el patrón en a) barre a través del detector. c) Espectro de frecuencia de la fuente de luz monocromática que es resultado de la transformación de Fourier de la señal en b). d) Patrón de interferencia en la salida del interferómetro resultante de una fuente de dos frecuencias. e) Señal compleja producida por el patrón de interferencia de d) conforme cae en el detector. El retardo cero se indica mediante el punto A. f) Espectro de frecuencia de la fuente de dos frecuencias. g) Patrón de interferencia resultante de una banda ancha de emisión. h) Interferograma de la fuente en f). i) Espectro de frecuencia de la banda de emisión.

dependen de la frecuencia. Entonces, es útil introducir una nueva variable, $B(\bar{\nu})$, la cual depende de $P(\bar{\nu})$ pero toma en cuenta estos factores. Se puede volver a escribir la ecuación en la forma

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 2\pi f t \quad (7.27)$$

Al sustituir la ecuación 7.24 en la 7.27 se llega a

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 4\pi \nu_M \bar{\nu} t \quad (7.28)$$

Pero la velocidad del espejo se puede expresar en función del retardo

$$\nu_M = \frac{\delta}{2t}$$

La sustitución de esta relación en la ecuación 7.28 da

$$P(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}$$

la cual expresa la magnitud de la señal del interferograma en función del factor de retardo y el número de onda de la fuente.

Los interferogramas de las figuras 7.44b, e y h se pueden describir mediante dos términos, uno para cada número de onda. Por tanto,

$$P(\delta) = B_1(\bar{\nu}_1) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}_1 + B_2(\bar{\nu}_2) \cos 2\pi \delta \bar{\nu}_2 \quad (7.29)$$

En el caso de una fuente continua, como en la figura 7.44*i*, el interferograma se puede representar como la suma de una cantidad infinita de términos coseno. Es decir,

$$P(\delta) = \int_{-\infty}^{\infty} B(\bar{\nu}) \cos 2\pi\bar{\nu}\delta \, d\bar{\nu} \quad (7.30)$$

La transformada de Fourier de esta integral es

$$B(\bar{\nu}) = \int_{-\infty}^{\infty} P(\delta) \cos 2\pi\bar{\nu}\delta \, d\delta \quad (7.31)$$

Una transformación completa de Fourier requiere tanto componentes reales (coseno) como imaginarios (seno). Sólo se ha presentado la parte del coseno, lo cual es suficiente para manipular funciones reales y pares.

La espectroscopía óptica de transformada de Fourier consiste en registrar $P(\delta)$ como una función de δ (ecuación 7.30) y luego transformar matemáticamente esta relación en una que dé $B(\bar{\nu})$ como una función de $\bar{\nu}$ (el espectro de frecuencia) como lo muestra la ecuación 7.31.

Las ecuaciones 7.30 y 7.31 no se pueden usar como están escritas porque en ellas se supone que el rayo contiene radiación con números de onda desde cero hasta infinito y una distancia del espejo de longitud infinita. Además, las transformaciones de Fourier con ayuda de una computadora requieren que la salida del detector sea digitalizada, es decir, la salida debe ser muestreada en forma periódica y almacenada en forma digital. La ecuación 7.31 demanda que el intervalo de muestreo $d\delta$ sea infinitamente pequeño, es decir, $d\delta \rightarrow 0$. Desde un punto de vista práctico, sólo un intervalo de muestreo de tamaño finito se puede sumar a un intervalo de retardo finito de unos cuantos centímetros. Estas restricciones tienen el efecto de limitar la resolución de un instrumento de transformada de Fourier y restringen sus valores de frecuencia.

Resolución

La resolución de un espectrómetro de transformada de Fourier se puede describir en términos de la diferencia en números de onda entre dos líneas que pueden ser separadas de manera justa por el instrumento. Es decir,

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_1 - \bar{\nu}_2 \quad (7.32)$$

donde $\bar{\nu}_1$ y $\bar{\nu}_2$ son números de onda para un par de líneas escasamente distinguibles.

Es posible demostrar que para resolver dos líneas, la señal en el dominio del tiempo debe ser barrida lo suficiente de modo que se complete un ciclo o pulsación completa de las dos líneas; sólo entonces se registra toda la información contenida en el espectro. Por ejemplo, la resolución de las dos líneas $\bar{\nu}_1$ y $\bar{\nu}_2$ de la figura 7.44*f* requiere registrar el interferograma desde A máxima en retardo cero hasta B máxima donde las dos ondas están de nuevo en fase. El máximo se presenta en B cuando $\delta\bar{\nu}_1$ es mayor que $\delta\bar{\nu}_2$ por 1 en la ecuación 7.29. Es decir, cuando

$$\delta\bar{\nu}_2 - \delta\bar{\nu}_1 = 1$$

o bien,

$$\bar{\nu}_2 - \bar{\nu}_1 = \frac{1}{\delta}$$

La sustitución en la ecuación 7.32 da la resolución

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_2 - \bar{\nu}_1 = \frac{1}{\delta} \quad (7.33)$$

Esta ecuación significa que la resolución en números de onda mejorará en proporción con el recíproco de la distancia que se desplaza el espejo.

EJEMPLO 7.4

¿Qué longitud de desplazamiento del espejo proporciona una resolución de 0.1 cm^{-1} ?

Solución

Al sustituir en la ecuación 7.33 se tiene

$$\begin{aligned} 0.1 \text{ cm}^{-1} &= \frac{1}{\delta} \\ \delta &= 10 \text{ cm} \end{aligned}$$

El movimiento requerido del espejo es de una mitad del retardo, es decir, 5 cm.

Instrumentos

Los detalles relacionados con los espectrómetros ópticos de transformada de Fourier se proporcionan en la sección 16B.1. Una parte integral de estos instrumentos es una computadora moderna para controlar la adquisición de datos, almacenarlos, promediar señales y calcular las transformadas de Fourier.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

7.1 ¿Por qué la anchura de la rendija de un monocromador de prisma tiene que variar para proporcionar anchos de banda constantes, pero una anchura de rendija casi constante proporciona anchos de banda constantes con un monocromador de red?

7.2 ¿Por qué los análisis cuantitativo y cualitativo requieren a menudo diferentes anchuras de rendija de los monocromadores?

***7.3** La ley de Wien del desplazamiento establece que la longitud de onda máxima en micrómetros para la radiación de cuerpo negro está dada por la relación

$$\lambda_{\text{máx}} T = 2.90 \times 10^3$$

donde T es la temperatura en kelvin. Calcule la longitud de onda máxima para un cuerpo negro que se ha calentado a a) 5000 K, b) 3000 K y c) 1500 K.

***7.4** La ley de Stefan establece que la energía total E_t emitida por un cuerpo negro por unidad de tiempo y por área unitaria está dada por $E_t = \alpha T^4$, donde α tiene un valor de $5.69 \times 10^{-8} \text{ Wm}^{-2} \text{ K}^{-4}$. Calcule la salida de energía total en W/m^2 para cada uno de los cuerpos negros descritos en el problema 7.3.

***7.5** Las relaciones descritas en los problemas 7.3 y 7.4 le podrían ayudar a resolver lo siguiente.

- Calcule la longitud de onda de la emisión máxima de un bulbo con filamento de tungsteno que funciona a la temperatura usual de 2870 K y a una temperatura de 3500 K.
- Calcule la salida de energía total del bulbo en W/cm^2 .

7.6 Compare la emisión espontánea con la emisión estimulada.

7.7 Describa las ventajas de un sistema láser de cuatro niveles respecto al de tres niveles.

7.8 Defina el término *ancho de banda efectivo* de un filtro.

***7.9** Se desea construir un filtro de interferencia para aislar la banda de absorción del nitrobenzono a 1537 cm^{-1} .

- Si se basa en la interferencia de primer orden, ¿cuál debe ser el espesor de la capa de dieléctrico (índice de refracción de 1.34)?
- ¿Qué otra longitud de onda se transmitirá?

7.10 Una cuña de interferencia de 10.0 cm se va a construir de tal manera que tenga una dispersión lineal desde 400 hasta 700 nm. Proporcione los detalles de su construcción. Suponga que se usa un dieléctrico con un índice de refracción de 1.32.

7.11 ¿Por qué es mejor el vidrio que el sílice fundido como material de construcción de un prisma para un monocromador que se usará en la región de 400 a 800 nm?

***7.12** En el caso de una red, ¿cuántas líneas por milímetro se requerirán para que la línea de difracción de primer orden para $\lambda = 400 \text{ nm}$ se observe en un ángulo de reflexión de 5° cuando el ángulo de incidencia es de 45° ?

- *7.13** Considere una red de infrarrojo con 84.0 líneas por milímetro y 15.0 mm de área iluminada. Calcule la resolución de primer orden ($\lambda/\Delta\lambda$) de esta red. ¿Qué tan separadas (en cm^{-1}) tienen que estar dos líneas centradas a 1200 cm^{-1} si se tienen que distinguir?
- 7.14** Para la red del problema 7.13, determine las longitudes de onda de la difracción de primero y segundo orden a ángulos de reflexión de *a*) 25° y *b*) 0° . Suponga que el ángulo incidente es de 45° .
- 7.15** Con la ayuda de las figura 7.2 y 7.3, sugiera componentes de instrumentos y materiales para construir un instrumento que
- sirva para investigar la estructura fina de las bandas de absorción en la región de 450 a 750 nm;
 - pueda obtener espectros de absorción en el infrarrojo lejano (20 a 50 μm);
 - sea un dispositivo portátil para determinar el contenido de hierro del agua natural con base en la absorción de radiación del complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ rojo;
 - sirva para la determinación rutinaria del nitrobenzono en muestras de aire con base en su absorción máxima a 11.8 μm ;
 - determine las longitudes de onda de las líneas de emisión de llama para elementos metálicos en la región de 200 a 780 nm;
 - realice estudios espectroscópicos en la región del ultravioleta en el vacío;
 - realice estudios espectroscópicos en el infrarrojo cercano.
- *7.16** ¿Cuál es la velocidad (número *f*) de una lente cuyo diámetro es de 5.4 cm y su distancia focal es de 17.6 cm?
- 7.17** Compare la potencia de captación de luz de las lentes descritas en el problema 7.16 con una que tiene de diámetro 37.6 cm y una distancia focal de 16.8 cm.
- *7.18** La distancia focal de un monocromador es de 1.6 m y tiene un espejo colimador con diámetro de 3.5 cm. El dispositivo dispersor era una red de 1500 líneas/mm. En el caso de difracción de primer orden,
- ¿cuál es el poder de resolución del monocromador si un rayo colimado iluminaba 3.0 cm de la red?
 - ¿cuáles son las dispersiones lineales recíprocas de primero y segundo orden del monocromador?
- 7.19** Un monocromador cuya distancia focal es de 0.78 m está equipado con un red de escalerilla de 2500 marcas por milímetro.
- Calcule la dispersión lineal recíproca del instrumento para espectros de primer orden.
 - Si 2.0 cm de la red estuvieran iluminados, ¿cuál es el poder de resolución de primer orden del monocromador?
 - A aproximadamente 430 nm, ¿qué diferencia de longitud de onda mínima podría en teoría ser distinguida del todo por el instrumento?
- 7.20** Describa la base para detectar radiación mediante un transductor de diodo de silicio.
- 7.21** Distinga entre *a*) espectroscopio, *b*) espectrógrafo y *c*) espectrofotómetro.
- *7.22** Un interferómetro de Michelson tenía una velocidad de espejo de 2.75 cm/s. ¿Cuál sería la frecuencia del interferograma para *a*) radiación UV de 350 nm, *b*) radiación visible de 575 nm, *c*) radiación infrarroja de 5.5 μm , y *d*) radiación infrarroja de 25 μm ?

- *7.23** ¿Qué desplazamiento del espejo se requiere en un interferómetro de Michelson para producir una resolución suficiente para separar
- a) picos infrarrojos a 500.6 y 500.4 cm^{-1} ?
 - b) picos infrarrojos a 4002.1 y 4008.8 cm^{-1} ?



Problema de reto

- 7.24** El comportamiento de los filtros holográficos y las redes explica la teoría de los pares de ondas.³⁵ La longitud de onda de Bragg λ_b para un elemento óptico holográfico se determina mediante

$$\lambda_b = 2nd \cos \theta$$

donde n es el índice de refracción del material de la red; d es el periodo de la red o separación de las marcas y θ es el ángulo de incidencia del haz de radiación.

- a) Elabore una hoja de cálculo para determinar la longitud de onda de Bragg para una red holográfica con una separación entre marcas de 17.1 μm y un índice de refracción de 1.53 a ángulos de incidencia de 0 a 90°.
- b) ¿A qué ángulo la longitud de onda de Bragg es de 462 nm?
- c) A veces, la longitud de onda de Bragg recibe el nombre de “longitud de onda de registro”. ¿Por qué?
- d) ¿Cuál es el significado histórico del término “longitud de onda de Bragg”?
- e) Un filtro holográfico de volumen sintonizable se ha perfeccionado para aplicarse en las comunicaciones.³⁶ Se dice que el filtro se puede sintonizar en un intervalo de longitudes de onda de $2nd$ a $2d\sqrt{n^2 - 1}$. Si el filtro tiene una longitud de onda de Bragg de 1550 nm y una separación en la red de 535 nm, calcule el intervalo de sintonía angular del filtro.
- f) Determine la longitud de onda de Bragg para una red con separación de 211.5 nm, si se supone que la red está hecha del mismo material. Calcule el intervalo de longitud de onda en el cual esta red se puede sintonizar.
- g) Analice las posibles aplicaciones espectroscópicas de los filtros holográficos sintonizables.
- h) Cuando una red de volumen se crea en una película holográfica, el índice de refracción del material de la película varía una cantidad Δn , que se llama *modulación del índice de refracción*. En el caso ideal, esta cantidad se determina mediante

$$\Delta n \approx \frac{\lambda}{2t}$$

donde λ es la longitud de onda del rayo láser que forma el patrón de interferencia, y t es el espesor de la película. Calcule la modulación del índice de refracción en una película de 38 μm de espesor con una longitud de onda del láser de 633 nm.

- i) En las redes reales, la modulación del índice de refracción es

$$\Delta n = \frac{\lambda \sin^{-1} \sqrt{D_e}}{\pi t}$$

donde D_e es la eficiencia de la red. Deduzca una expresión para la eficiencia ideal de la red y determine su valor.

- j) Calcule la eficiencia de una red de 7.5 μm de grueso si su modulación del índice de refracción es de 0.030 a una longitud de onda de 633 nm.
- k) Las películas holográficas para fabricar filtros y redes se pueden comprar en los comercios especializados, pero se pueden manufacturar en el laboratorio usando productos químicos comunes. Mediante un buscador informático investigue una receta para preparar gelatina dicromada para películas holográficas. Describa la fabricación de las películas, el proceso químico y cómo se graban.

³⁵H. Kogelnik, *Bell Syst. Tech. J.* **1969**, 84, pp. 2909-2947.

³⁶F. Havermeier et al., *Optical Engineering*, **2004**, 43, p. 2017.

Introducción a la espectrometría óptica atómica

En este capítulo se presenta primero una discusión teórica de las fuentes y propiedades de los espectros atómicos ópticos. Después se enlistan los métodos que se usan para producir átomos a partir de muestras para análisis elemental. Por último, se describen con cierto detalle las distintas técnicas que se utilizan para introducir muestras en los dispositivos de espectrometría de absorción óptica, emisión y fluorescencia, así como la espectrometría atómica de masas. El capítulo 9 está dedicado a los métodos de absorción atómica, la técnica espectrométrica atómica más ampliamente usada. El capítulo 10 trata sobre varios tipos de técnicas de emisión atómica. A esta discusión le siguen breves capítulos sobre espectrometría atómica de masas y métodos atómicos de rayos X.



En todo el capítulo, este símbolo señala una oportunidad para estudiar en línea en <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, que lo enlaza con clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

Tres tipos principales de métodos espectrométricos se usan para identificar los elementos presentes en muestras de materia y determinar sus concentraciones: 1) espectrometría óptica, 2) espectrometría de masas y 3) espectrometría de rayos X. En la primera, que se analiza en este capítulo, los elementos presentes en una muestra se convierten en átomos gaseosos o iones elementales mediante un proceso llamado *atomización*. Se mide entonces la absorción del ultravioleta-visible, la emisión o la fluorescencia de las especies atómicas presentes en el vapor. En la espectrometría atómica de masas (capítulo 11), las muestras se atomizan también, pero en este caso, los átomos gaseosos se convierten en iones positivos (por lo común con una sola carga) y se separan de acuerdo con sus relaciones masa-carga. Los datos cuantitativos se obtienen entonces contando los iones separados. En la espectrometría de rayos X (capítulo 12), no se requiere atomización porque los espectros de rayos X para la mayor parte de los elementos son independientes en gran medida de su composición química en una muestra. Por tanto, los resultados cuantitativos se pueden basar en la medición directa de los espectros de fluorescencia, absorción o emisión de la muestra.

8A ESPECTROS ÓPTICOS ATÓMICOS

En esta sección se considera brevemente la base teórica de la espectrometría óptica atómica básica y algunas de las características importantes de los espectros ópticos.

8A.1 Diagramas de niveles de energía

El diagrama del nivel de energía para los electrones externos de un elemento es un método conveniente para describir los procesos que sustentan los distintos métodos de espectroscopia atómica. El diagrama para el sodio que se observa en la figura 8.1a es característico. Observe que la escala de energía es lineal en unidades de electronvolts (eV), con un valor cero asignado al orbital 3s. La escala se extiende a casi 5.14 eV, la energía que se requiere para quitar el único electrón 3s para producir un ion sodio, la *energía de ionización*.

Las líneas horizontales sobre el diagrama indican las energías de varios orbitales atómicos. Observe que los orbitales *p* se dividen en dos niveles que difieren sólo un poco en energía. El punto de vista clásico racionaliza esta diferencia apelando a la idea de que un electrón gira sobre un eje y que la dirección del giro puede ser en la misma dirección que su movimiento orbital o en la dirección opuesta. Tanto el giro (espín) como el movimiento orbital crean campos magné-

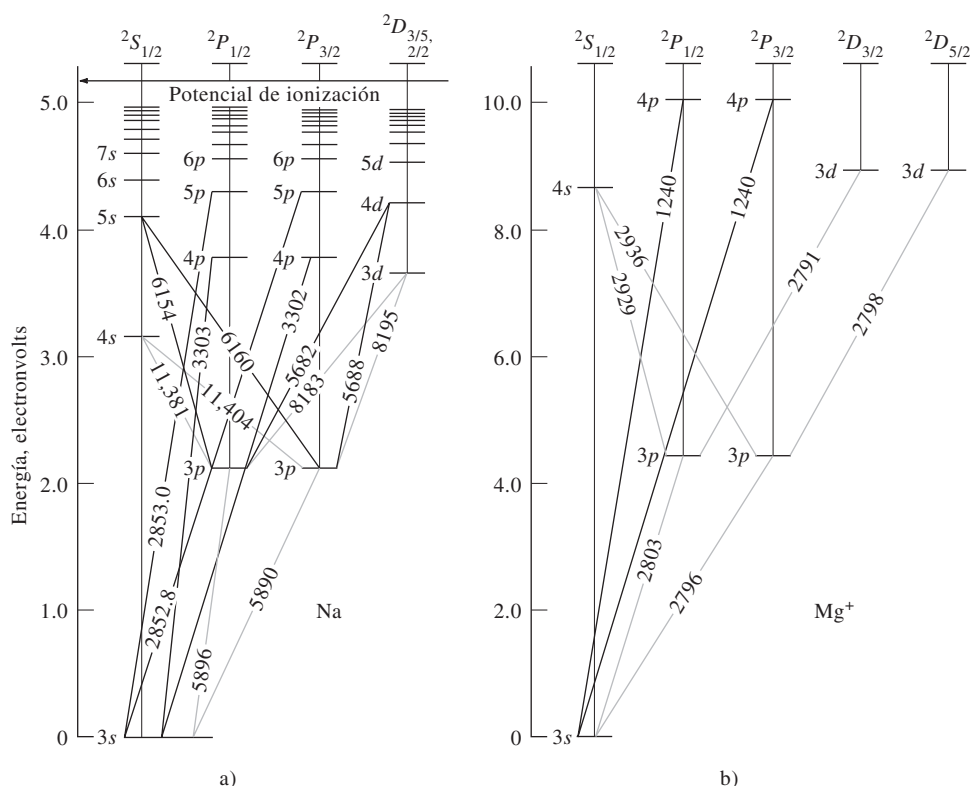


FIGURA 8.1 Diagramas de nivel de energía para a) sodio atómico y b) ion magnesio(I). Note la similitud en el patrón de líneas azules pero no en longitudes de onda reales (Å).

ticos como resultado de la rotación de la carga sobre el electrón. Ambos campos interactúan en un sentido atractivo si los dos movimientos están en la dirección opuesta. Los campos se repelen entre sí cuando los movimientos son paralelos. Como resultado, la energía de un electrón cuyo giro se opone a su movimiento orbital es un poco más pequeña que la de un electrón con giro paralelo a su movimiento orbital. Hay diferencias similares en los orbitales d y f pero sus magnitudes son por lo común tan pequeñas que son indetectables; así, en la figura 8.1a sólo se muestra un nivel de energía para los orbitales d .

La división de los orbitales p , d y f de mayor energía en dos estados es característica de todas las especies que contienen un *solo* electrón de capa externa. Así, el diagrama de nivel de energía para Mg^+ , que se ilustra en la figura 8.1b, se parece mucho al del átomo de sodio sin carga. Lo mismo es cierto para los diagramas de Al^{2+} y el resto de los átomos de metales alcalinos. Aunque todas las especies son isoelectrónicas, las diferencias de energía entre los estados $3p$ y $3s$ son diferentes en cada caso como resultado de las cargas nucleares diferentes. Por ejemplo, para el Mg^+ esta diferencia casi es el doble que la del Na.

Al comparar la figura 8.1b con la figura 8.2, se ve que los niveles de energía de un ion, y por tanto su espectro, son significativamente distintos de los del átomo que le dio origen. Para el magnesio atómico, con dos electrones $1s$, hay estados sencillos y triples con diferentes energías. En el estado sencillo excitado, los espines de los dos electrones son opuestos y se dice que están emparejados o apareados; en los estados triples, los espines no están emparejados o paralelos (sección 15A.1). Si se usan flechas para indicar la dirección del espín, el estado basal o fundamental y los dos estados excitados se pueden representar como en la figura 8.3. Así como con las moléculas, el estado triple excitado tiene menor energía que el estado sencillo correspondiente.

Los orbitales p , d y f del estado triple se dividen en tres niveles que difieren un poco en energía. Estas divisiones se racionalizan tomando en cuenta la interacción entre los campos relacionados con los espines de los dos electrones externos y el campo neto que resulta de los movimientos orbitales de todos los electrones.



Simulación: aprenda más acerca de los **espectros atómicos**.

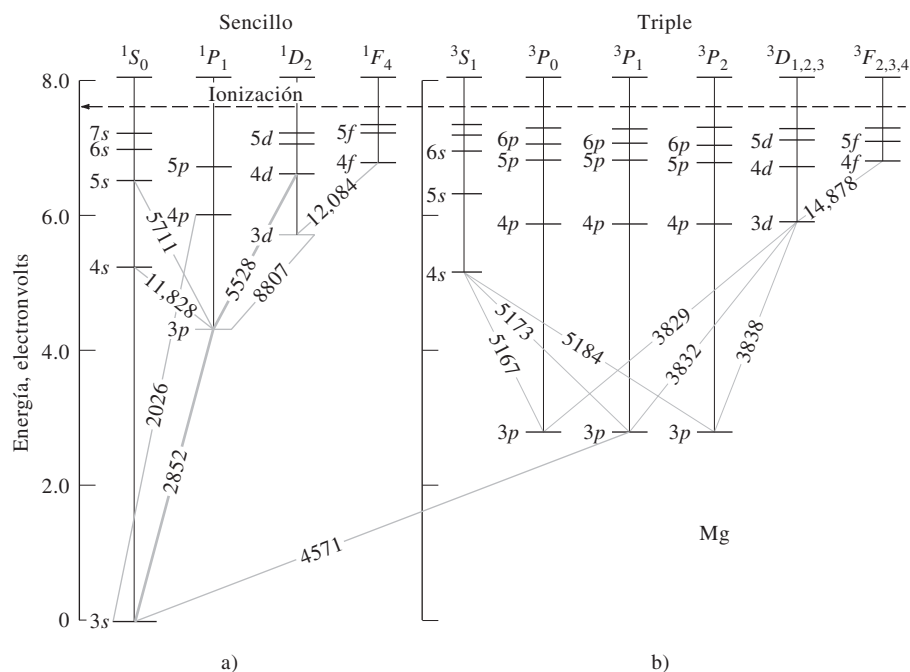


FIGURA 8.2 Diagrama de los niveles de energía para el magnesio atómico. La anchura de las líneas entre los estados indica las intensidades relativas de las líneas. Observe que la transición de sencillo a triple es mucho menos probable que una transición sencillo a sencillo. Las longitudes de onda se presentan en angstroms.

En el estado sencillo, los dos espines forman una pareja y cancelan sus efectos magnéticos respectivos; así, no se observa ninguna separación de energía. Sin embargo, en el estado triple los dos espines no están apareados (es decir, sus momentos de espín están en la misma dirección). El efecto del momento magnético orbital de los espines combinados produce una división del nivel p en uno triple. Este comportamiento es característico de los átomos alcalinotérreos, así como del B^+ , Si^{2+} y otros.

A medida que aumenta el número de electrones fuera de la capa cerrada, los diagramas de nivel de energía se vuelven cada vez más complejos. Así, con tres electrones externos, ocurre una división de niveles de energía en dos y cuatro estados; con cuatro electrones externos, hay estados sencillos, triples y quintuplos.

Aunque los espectros atómicos de correlación con diagramas de nivel de energía para elementos como el sodio y el magnesio son relativamente directos y ase- quibles para la interpretación teórica, esto no se cumple para elementos más pesados, en particular los metales de transición. Estas especies tienen un número más grande de niveles de energía muy cercanos entre sí y, como resultado, el número de líneas de emisión o absorción puede ser enorme. Por ejemplo, un estudio¹ de las líneas observadas en los espectros de átomos neutros e ionizados por separado para diversos ele-

¹ Y. Ralchenko, A. E. Kramida y J. Reader, Developers, *NIST Atomic Spectra Database*, Versión 3.0, 2005, <http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/index.html>.

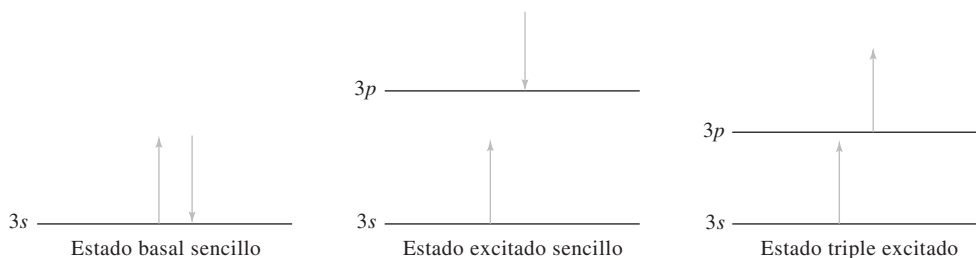
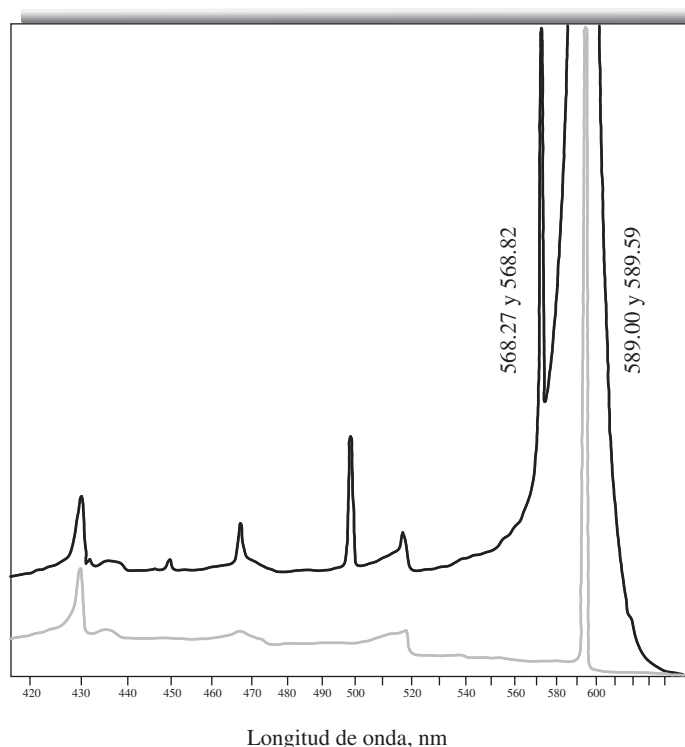


FIGURA 8.3 Orientaciones de espines en los estados sencillos basal y excitado y el estado triple excitado.

FIGURA 8.4 Una porción del espectro de emisión de llama para el sodio, 800 ppm en naftaisopropanol; flama de oxihidrógeno; rendija de 0.02 nm. Observe que la escala se expande en el trazo superior y que las condiciones de llama se cambiaron para revelar mayor detalle para las líneas de Na, pero no para bandas moleculares. Note también que las líneas a 589.00 y 589.59 nm están fuera de escala en el trazo superior. (Adaptado de C. T. J. Alkemade y R. Herrmann, *Fundamentals of Analytical Flame Spectroscopy*, p. 229, Nueva York: Wiley, 1979, con autorización.)



mentos en el intervalo de 300–700 nm (3000–7000 Å) revela los siguientes números de líneas. Para los metales alcalinos, este número es 106 para el litio, 170 para el sodio, para el potasio y 249 para el rubidio; para los alcalinotérreos, el magnesio tiene 147, el calcio 182 y el bario 201. El cromo, el hierro y el escandio con 792, 2340 y 1472 líneas, respectivamente, son representativos de los metales de transición. Aunque pocas líneas son excitadas en atomizadores de baja temperatura, como los de llama, los espectros de llama de los metales de transición son todavía considerablemente más complejos que los espectros de especies con números atómicos bajos.

Tenga en cuenta que las transiciones que producen radiación mostradas en las figuras 8.1 y 8.2 se observan sólo entre algunos de los estados de energía. Por ejemplo, no ocurren las transiciones de los estados $5s$ o $4s$ a $3s$ ni tampoco las transiciones entre estados p o d . Se dice que tales transiciones están “prohibidas”, y las reglas de la selección mecánica cuántica permiten predecir cuáles transiciones tienen más probabilidad de ocurrir y cuáles no. Estas reglas están fuera del alcance de este libro.²

Espectros de emisión atómica

A temperatura ambiente, todos los átomos de una muestra de materia están esencialmente en el estado basal. Por ejemplo, el electrón externo simple de un átomo de sodio ocupa el orbital $3s$ en estas circunstancias. El paso de este electrón a orbitales superiores se logra mediante el calor de una llama, un plasma o un arco o chispa eléctricos. Sin embargo, el tiempo de vida del átomo excitado es breve y su retorno al estado basal produce emisión de fotones. Las líneas verticales de la figura 8.1a indican algunas de las transiciones electrónicas comunes que siguen a la excitación de los átomos de sodio; también se muestra la longitud de onda de la radiación resultante. Las dos líneas a 589.0 y 589.6 nm (5890 y 5896 Å) son las más intensas y a ellas se debe el color amarillo que aparece cuando se introducen sales de sodio en una llama.

En la figura 8.4 se muestra una parte de un espectro de emisión registrado para el sodio. La excitación en este caso resultó de atomizar una solución de cloruro de sodio en una flama de oxihidrógeno. Observe en la figura 8.1a el pico muy pronunciado en el extremo derecho, el cual está fuera de escala y corresponde a las transiciones $3p$ a $3s$ a 589.0 y 589.6 nm (5890 y 5896 Å) mostrado. La potencia de resolución del monocromador utilizado fue insuficiente para separar los picos. Estas dos son *líneas de resonancia* que resultan de las transiciones entre un estado electrónico excitado y el

²J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 205-207. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.

estado basal. Como se muestra en la figura 8.1, otras líneas de resonancia ocurren en 330.2 y 330.3 nm (3302 y 3303 Å) así como también en 285.30 y 285.28 (2853.0 y 2852.8 Å). El pico mucho más pequeño en aproximadamente 570 nm (5700 Å) en la figura 8.4 es de hecho dos líneas de no resonancia sin resolver que surgen de las dos transiciones $4d$ a $3p$ mostradas también en el diagrama de nivel de energía.

Espectros de absorción atómica

En un medio gaseoso caliente, los átomos de sodio son capaces de *absorber* radiación de longitudes de onda características de transiciones electrónicas del estado $3s$ hacia estados excitados superiores. Por ejemplo, las líneas de absorción bien definidas en 589.0, 589.6, 330.2 y 330.3 nm (5890, 5896, 3302 y 3303 Å) aparecen en el espectro experimental. En la figura 8.1a se ve que cada par adyacente de estos picos corresponde a transiciones del nivel $3s$ hacia los niveles $3p$ y $4p$ respectivamente. Nótese que la absorción que no es de resonancia debida a la transición $3p$ a $5s$ es tan débil que pasa sin ser detectada porque el número de átomos de sodio en el estado $3p$ es por lo general pequeño a la temperatura de una llama. Así, por lo común, un espectro de absorción atómica consta sobre todo de líneas de resonancia, las cuales son resultado de transiciones del estado basal a niveles superiores.

Espectros de fluorescencia atómica

Los átomos o iones en una llama manifiestan fluorescencia cuando son irradiados con una fuente intensa que contiene longitudes de onda que absorbe el elemento. El espectro de fluorescencia se mide de modo más conveniente a 90° respecto a la trayectoria de la luz. La radiación observada es con mucha frecuencia el resultado de la fluorescencia de resonancia que involucra transiciones de estados excitados que vuelven al estado basal. Por ejemplo, cuando los átomos de magnesio se exponen a una fuente ultravioleta, la radiación de 285.2 nm (2852 Å) es absorbida cuando los electrones son promovidos del nivel $3s$ al nivel $3p$ (véase la figura 8.2); la fluorescencia de resonancia emitida a esta misma longitud de onda se puede usar entonces para el análisis. En contraste, cuando los átomos de sodio absorben radiación con longitud de onda de 330.3 nm (3303 Å), los electrones son promovidos al estado $4p$ (véase figura 8.1a). Una transición sin radiación a los dos estados $3p$ se lleva a cabo con más rapidez que la transición al estado basal que produce fluorescencia. Como resultado, la fluorescencia observada ocurre entre 589.0 y 589.6 nm (5890 y 5896 Å).

En la figura 8.5 se ilustra un tercer mecanismo para la fluorescencia atómica que ocurre cuando los átomos de talio son excitados en una llama. Algunos de los átomos vuelven al estado basal en dos etapas: una

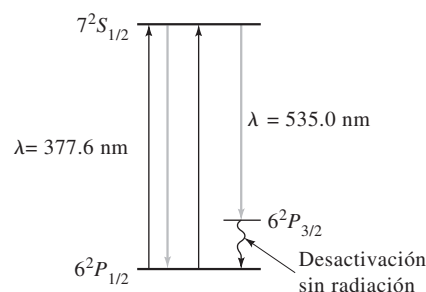


FIGURA 8.5 Diagrama de nivel de energía para el talio que muestra la fuente de las dos líneas de fluorescencia.

etapa de emisión de fluorescencia que produce una línea a 535.0 nm (5350 Å) y una desactivación sin radiación hacia el estado basal que sigue rápidamente. Ocurre también fluorescencia de resonancia a 377.6 nm (3776 Å).

8A.2 Amplitudes de las líneas atómicas

Éstas son bastante importantes en la espectroscopia atómica. Por ejemplo, las líneas estrechas son muy deseables para los espectros de absorción y emisión porque reducen la posibilidad de interferencia debido a líneas que se traslapan. Además, como se verá después, las amplitudes de línea son muy importantes en el diseño de instrumentos para espectroscopia de emisión atómica. Por estas razones, se tratan ahora algunas de las variables que influyen en la anchura de las líneas espectrales atómicas.

Como se muestra en la figura 8.6, se encuentra que por lo general las líneas de absorción y emisión atómica están constituidas por una distribución simétrica de longitudes de onda que se centra en una longitud de onda promedio λ_0 , que es la longitud de onda de absorción máxima o intensidad máxima para la radiación emitida. La energía asociada con λ_0 es igual a la

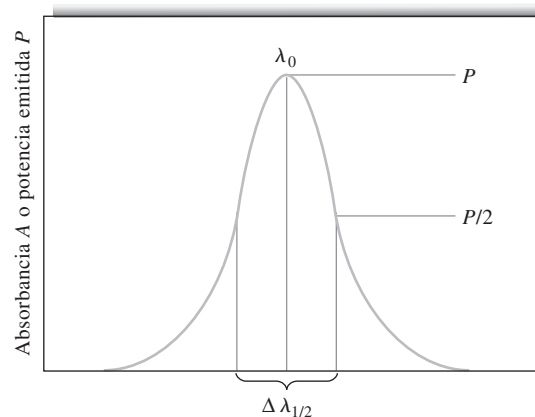


FIGURA 8.6 Perfil de una línea atómica que muestra la definición del ancho de la línea efectivo $\Delta \lambda_{1/2}$.

diferencia de energía exacta entre los dos estados cuánticos causantes de la absorción o emisión.

Los diagramas de nivel de energía como el que se muestra en la figura 8.1a hacen pensar que una línea atómica contiene una sola longitud de onda λ_0 es decir, debido a que una línea resulta de la transición de un electrón entre dos estados de energía discretos de un solo valor, la amplitud de la línea será cero. Sin embargo, varios fenómenos ensanchan las líneas, de modo que todas las líneas atómicas tienen anchos finitos, como se muestra en la figura 8.6. Note que el *ancho o ancho efectivo* $\Delta\lambda_{1/2}$ de una línea de absorción o emisión atómica se define como su amplitud en unidades de longitud de onda cuando se mide a la mitad del máximo de la señal. Este punto se elige porque la medición se puede hacer con más exactitud a la mitad de la intensidad pico que en la base.

Hay cuatro factores que dan origen al ensanchamiento de línea: 1) el efecto de incertidumbre, 2) el efecto Doppler, 3) los efectos de presión debidos a las colisiones entre átomos de la misma clase y con átomos extraños y 4) efectos de campos eléctricos y magnéticos. Aquí se consideran sólo los tres primeros fenómenos. El efecto de campo magnético se analizará en la sección 9C.1 en relación con el efecto Zeeman.

Ensanchamiento de línea por el efecto de incertidumbre

Las líneas espectrales siempre tienen amplitudes definidas porque los tiempos de vida de uno o ambos estados de transición son finitos, lo que origina incertidumbres en los tiempos de transición y ensanchamientos de línea como consecuencia del principio de incertidumbre (véase la sección 6C.7). En otras palabras, la anchura de la línea atómica que resulta de una transición entre dos estados se aproximaría a cero sólo si los tiempos de vida de los dos estados se acercan al infinito. Aunque el tiempo de vida de un electrón en estado basal es largo, los tiempos de vida de estados excitados son por lo general cortos, de ordinario 10^{-7} a 10^{-8} s. En el ejemplo 8.1 se ilustra cómo se puede estimar el ancho de una línea de emisión atómica a partir de su tiempo de vida promedio y el principio de incertidumbre.

EJEMPLO 8.1

El tiempo de vida promedio del estado excitado producido al irradiar vapor de mercurio con un pulso de radiación de 2×10^{-8} s. Calcule el valor aproximado del ancho de la línea de fluorescencia producida de esta manera.

Solución

De acuerdo con el principio de incertidumbre (ecuación 6.25),

$$\Delta\nu\Delta t \geq 1$$

Al sustituir 2×10^{-8} s para Δt y reordenar los términos se obtiene la incertidumbre $\Delta\nu$ en la frecuencia de la radiación emitida.

$$\Delta\nu = 1/(2 \times 10^{-8}) = 5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$$

Para evaluar la relación entre esta incertidumbre en la frecuencia y la incertidumbre en unidades de longitud de onda, la ecuación 6.2 se escribe en la forma

$$\nu = c\lambda^{-1}$$

Al derivar la ecuación respecto a la frecuencia, se obtiene

$$d\nu = -c\lambda^{-2} d\lambda$$

Al reordenar y aproximar $\Delta\nu$ a $d\nu$ y $\Delta\lambda_{1/2}$ se encuentra $d\lambda$,

$$\begin{aligned} |\Delta\lambda_{1/2}| &= \frac{\lambda^2 \Delta\nu}{c} \\ &= \frac{(253.7 \times 10^{-9} \text{ m})^2 (5 \times 10^7 \text{ s}^{-1})}{3 \times 10^8 \text{ m/s}} \\ &= 1.1 \times 10^{-14} \text{ m} \\ &= 1.1 \times 10^{-14} \text{ m} \times 10^{10} \text{ Å/m} = 1 \times 10^{-4} \text{ Å} \end{aligned}$$

Las amplitudes de línea debidas al ensanchamiento de incertidumbre se llaman a veces *anchuras de línea naturales* y son por lo general de alrededor de 10^{-5} nm (10^{-4} Å), como se muestra en el ejemplo 8.1.

Ensanchamiento Doppler

La longitud de onda de radiación emitida o absorbida por un átomo que se mueve con rapidez disminuye si el movimiento es hacia un transductor y se incrementa si el átomo se aleja del transductor (véase la figura 8.7). Este fenómeno se conoce como corrimiento o *desplazamiento Doppler* y se observa no sólo con la radiación electromagnética, sino también con las ondas sonoras. Por ejemplo, el desplazamiento Doppler ocurre cuando un automovilista toca el claxon mientras pasa junto a una persona a pie. Cuando el automóvil se aproxima al observador, el claxon emite cada vibración sonora sucesiva desde una distancia que se aproxima cada vez más al observador. Así, cada onda sonora llega a la persona a pie un poco más rápido de lo que se esperaría si el automóvil estuviera detenido. El resultado es una frecuencia más alta, o tono, para el claxon. Cuando el automóvil está junto al observador, las ondas llegan directamente al oído del observador a lo largo



Simulación: aprenda más acerca del ensanchamiento de las líneas.

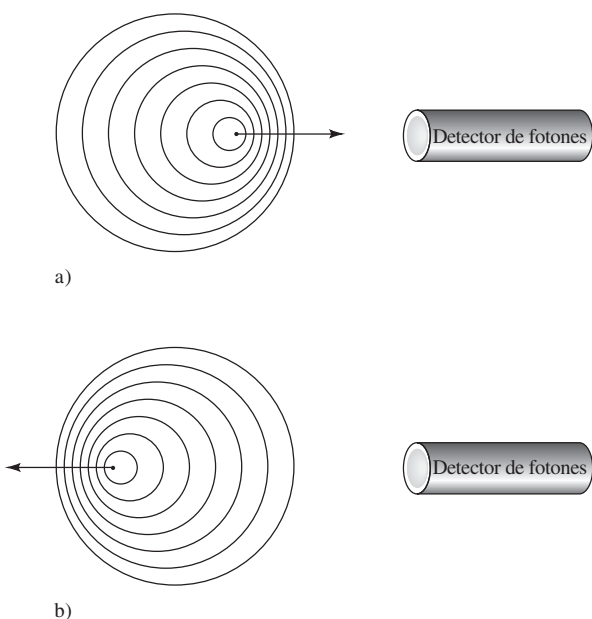


FIGURA 8.7 Causa del ensanchamiento Doppler. a) Cuando el átomo se mueve hacia un detector de fotones y emite radiación, el detector ve crestas de ondas con más frecuencia y detecta radiación de mayor frecuencia. b) Cuando el átomo se aleja de un detector de fotones y emite radiación, el detector ve crestas con menos frecuencia y detecta radiación de menor frecuencia. El resultado en un medio energético es una distribución estadística de frecuencias y, por tanto, un ensanchamiento de las líneas espectrales.

de una línea perpendicular a la trayectoria del automóvil, así que no hay cambio en la frecuencia. Cuando el automóvil se aleja del peatón, cada onda sale de la fuente a una distancia que es mayor que la de la onda previa; como resultado, la frecuencia es más pequeña, y esto produce un tono más bajo.

La magnitud del corrimiento Doppler se incrementa con la velocidad a la cual la especie que emite o absorbe se aproxima o se aleja del observador. Para velocidades relativamente bajas, la relación entre el corrimiento Doppler $\Delta\lambda$ y la velocidad v de un átomo que se aproxima o aleja es

$$\frac{\Delta\lambda}{\lambda_0} = \frac{v}{c}$$

donde λ_0 es la longitud de onda de una línea sin corrimiento que corresponde a la muestra de un elemento en reposo respecto al transductor y c es la velocidad de la luz.

En una colección de átomos en un ambiente caliente, como una llama, el movimiento atómico ocurre

en todas direcciones. Los átomos individuales manifiestan una distribución de velocidad de Maxwell-Boltzmann, en la cual la velocidad promedio de una especie atómica particular se incrementa en función de la raíz cuadrada de la temperatura absoluta. Los cambios o desplazamientos Doppler de tal ensamble producen el ensanchamiento de las líneas espectrales.³ Los corrimientos Doppler máximos ocurren para átomos que se mueven con las velocidades más altas ya sea directamente hacia el transductor o alejándose de él. Ningún corrimiento se relaciona con átomos que se mueven en forma perpendicular a la trayectoria del transductor. Los corrimientos intermedios ocurren para el resto de los átomos y son una función de su velocidad y dirección. Así, el transductor encuentra una distribución casi simétrica de longitudes de onda. En las llamas, el ensanchamiento Doppler produce líneas que son casi dos órdenes de magnitud más amplias que el ancho de línea natural.

Ensanchamiento de presión

El ensanchamiento de presión es causado por choques de las especies emisoras o absorbentes con otros átomos o iones en el medio caliente. Estas colisiones producen cambios pequeños en los niveles de energía y, por tanto, una serie de longitudes de onda absorbidas o emitidas. En una llama, las colisiones son en gran medida entre los átomos del analito y los distintos productos de la ignición del combustible. Estas colisiones producen ensanchamiento que es dos o tres órdenes de magnitud mayor que las amplitudes de las líneas naturales. El ensanchamiento en las lámparas de cátodo hueco y las de descarga que se usan como fuentes en la espectroscopia de absorción atómica resulta principalmente de colisiones entre los átomos emisores y otros de la misma clase. En las lámparas de mercurio y xenón de alta presión, el ensanchamiento de este tipo es tan extenso que se produce radiación continua en la región ultravioleta y visible.

8A.3 Efecto de la temperatura en los espectros atómicos

La temperatura tiene un efecto profundo en la relación entre el número de partículas atómicas excitadas y no excitadas en un atomizador. La magnitud de este efecto se calcula a partir de la ecuación de Boltzmann, que toma la forma

$$\frac{N_j}{N_0} = \frac{g_j}{g_0} \exp\left(\frac{-E_j}{kT}\right) \quad (8.1)$$

³ Para un tratamiento cuantitativo del ensanchamiento Doppler y el ensanchamiento de presión, véase J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 210-212, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.



Simulación: aprenda más acerca del efecto Doppler.

Aquí, N_j y N_0 son el número de átomos en el estado excitado y el estado basal, respectivamente, k es la constante de Boltzmann (1.38×10^{-23} J/K), T es la temperatura absoluta y E_j es la diferencia de energía entre el estado basal y el estado excitado. Las cantidades g_j y g_0 son factores estadísticos llamados *pesos estadísticos* determinados por la cantidad de estados que tienen la misma energía en cada nivel cuántico. En el ejemplo 8.2 se ilustra un cálculo de N_j/N_0 .

EJEMPLO 8.2

Calcule la relación entre los átomos de sodio en los estados excitados $3p$ y el número de los que se hallan en el estado basal a 2500 y 2510 K.

Solución

Se calcula E_j en la ecuación 8.1 mediante una longitud de onda promedio de 589.3 nm (5893 Å) para las dos líneas de emisión del sodio que corresponden a las transiciones $3p \rightarrow 3s$. Se determina la energía en joules por medio de las constantes que se localizan en la segunda de forros.

$$\begin{aligned}\bar{\nu} &= \frac{1}{589.3 \text{ nm} \times 10^{-7} \text{ cm/nm}} \\ &= 1.697 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \\ E_j &= 1.697 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \times 1.986 \times 10^{-23} \text{ J cm} \\ &= 3.37 \times 10^{-19} \text{ J}\end{aligned}$$

Los pesos estadísticos para los estados cuánticos $3s$ y $3p$ son 2 y 6, respectivamente, así que

$$\frac{g_j}{g_0} = \frac{6}{2} = 3$$

Al sustituir en la ecuación 8.1, se obtiene

$$\begin{aligned}\frac{N_j}{N_0} &= 3 \exp\left(\frac{-3.37 \times 10^{-19} \text{ J}}{1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1} \times 2500 \text{ K}}\right) \\ &= 3 \times 5.725 \times 10^{-5} = 1.72 \times 10^{-4}\end{aligned}$$

Si se sustituye 2500 por 2510 en las ecuaciones anteriores, se obtiene

$$\frac{N_j}{N_0} = 1.79 \times 10^{-4}$$

El ejemplo 8.2 demuestra que una fluctuación de temperatura de sólo 10 K produce un incremento de 4% en el número de átomos de sodio excitados. El resultado es un incremento correspondiente en la potencia emitida por las dos líneas. Así, un método

analítico que se basa en medir la emisión requiere un riguroso control de la temperatura de atomización.

Los métodos de absorción y fluorescencia son en teoría menos dependientes de la temperatura porque ambas mediciones se hacen en átomos en un principio *no excitados* en vez de átomos excitados térmicamente. En el ejemplo que se acaba de considerar, sólo alrededor de 0.017% de los átomos de sodio fueron excitados térmicamente a 2500 K. Las mediciones de emisión se hacen en esta pequeña fracción del analito. Por otro lado, las mediciones de absorción y fluorescencia usan 99.98% del analito presente como átomos de sodio no excitados para producir señales analíticas. Tenga en cuenta también que aunque un cambio de temperatura de 10 K causa un incremento de 4% en los átomos excitados, el cambio *relativo* correspondiente en la fracción de átomos no excitados es insignificante.

Las fluctuaciones de temperatura en realidad ejercen una influencia indirecta en las mediciones de absorción atómica y fluorescencia de varias maneras. Por lo general, un incremento en la temperatura aumenta la eficiencia del proceso de atomización y, por consiguiente, incrementa la cantidad total de átomos en el vapor. Además, se produce un ensanchamiento de las líneas y una disminución en la altura del pico porque las partículas atómicas viajan a velocidades mayores, lo que incrementa el efecto Doppler. Por último, las variaciones de temperatura influyen en el grado de ionización del analito y, por tanto, en la concentración del analito no ionizado en el que por lo general se basa el análisis (véase la sección 9C.2). Debido a estos efectos, se requiere también un control razonable de la temperatura de la llama para las mediciones cuantitativas de absorción y fluorescencia.

La cuantiosa relación entre los átomos no excitados y los excitados en medios de atomización conduce a otra comparación interesante de los tres métodos atómicos. Debido a que las mediciones de absorción atómica y fluorescencia atómica se hacen en una población mucho más grande de átomos, se podría esperar que fueran más sensibles que el procedimiento de emisión. No obstante, esta ventaja aparente se compensa en el método de absorción mediante una medición de la absorbancia que involucra la evaluación de una relación ($A = \log P_0/P$). Cuando P y P_0 son casi iguales, se esperan errores relativos más grandes en la relación. Por tanto, los procedimientos de emisión y radiación tienden a ser complementarios en sensibilidad, una técnica es ventajosa para un grupo de elementos y la otra para un grupo diferente. Con base en la población activa de átomos, los métodos de fluo-

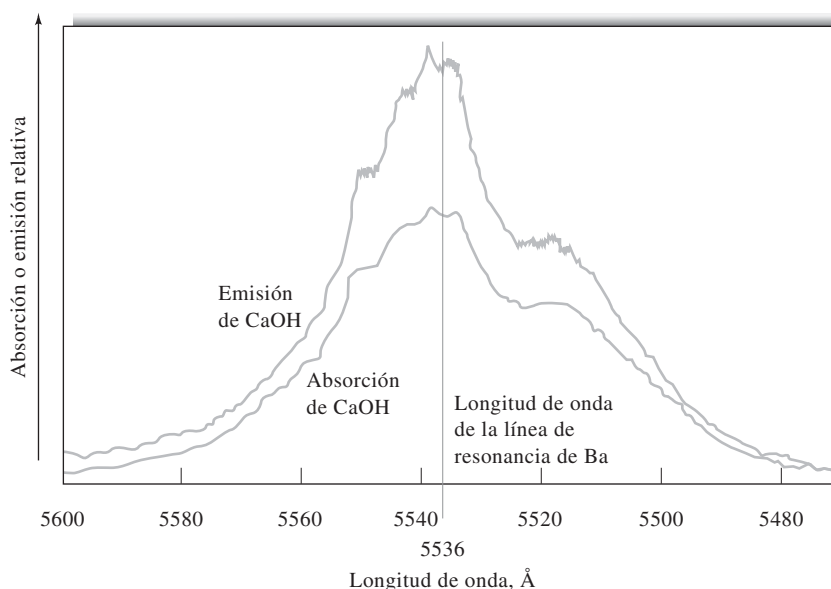


FIGURA 8.8 Emisión de flama molecular y espectros de absorción de llama para CaOH. Se indica también la longitud de onda de emisión atómica del bario. (Adaptado de L. Capacho-Delgado y S. Sprague, *Atomic Absorption Newsletter*, **1965**, 4, p. 363. Cortesía de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT.)

rescencia atómica deben ser los más sensibles de los tres, por lo menos en principio.

8A.4 Espectros de banda y continuos relacionados con espectros atómicos

Por lo general, cuando se generan los espectros de líneas atómicas, se producen también bandas y radiación continua. Por ejemplo, en la figura 6.19 se muestra la presencia de bandas moleculares y un continuo, este último resultante de la radiación térmica de materia caliente en partículas presente en el medio de atomización. Como se muestra después, los plasmas, arcos y chispas producen también bandas y radiación continua.

Los espectros de bandas aparecen a menudo mientras se determinan elementos mediante absorción atómica y espectrometría de emisión. Por ejemplo, cuando se atomizan soluciones de ion calcio en una llama de baja temperatura, la absorción molecular y las bandas de emisión para CaOH aparecen en la región de 554 nm (véase figura 8.8). En este caso, la banda se usa para la determinación de calcio. Sin embargo, con mucha frecuencia, las bandas moleculares y la radiación continua son una fuente potencial de interferencia que se debe reducir mediante la elección apropiada de la longitud de onda, la corrección de fondo o un cambio en las condiciones de atomización.

8B MÉTODOS DE ATOMIZACIÓN

Para obtener espectros ópticos atómicos y espectros de masa atómicos, los constituyentes de una muestra se deben convertir en átomos o iones gaseosos que puedan ser determinados por mediciones espectrales de emisión, absorción, fluorescencia o masa. La precisión y la exactitud de los métodos atómicos dependen en gran medida del proceso de atomización y del método para introducir la muestra en la región de atomización. Los tipos comunes de atomizadores se enumeran en la tabla 8.1. En los capítulos 9, 10 y 11 se describen con detalle varios de estos dispositivos.

8C MÉTODOS DE INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

La introducción de la muestra ha sido llamada el talón de Aquiles de la espectroscopia atómica porque en muchos casos este paso limita la exactitud, precisión y los límites de detección de las mediciones espectrométricas atómicas.⁴ El objetivo principal del sistema de introducción de la muestra en la espectroscopia atómica es transferir una porción representativa y reproducible de una muestra a uno de los atomizadores

⁴R. F. Browner y A. W. Boorn, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, pp. 786A, 875A; *Sample Introduction in Atomic Spectroscopy*, J. Sneddon, ed., Nueva York: Elsevier, 1990.

TABLA 8.1 Tipos de atomizadores usados para espectroscopia..

Tipo de atomizador	Temperatura de atomización típica, °C
Llama	1700-3150
Evaporación electrotérmica	1200-3000
Plasma de argón acoplado en forma inductiva	4000-6000
Plasma de argón de corriente directa	4000-6000
Plasma de argón inducido por microondas	2000-3000
Plasma de descarga luminiscente	No térmico
Arco eléctrico	4000-5000
Chispa eléctrica	40 000 (?)

que se enlistan en la tabla 8.1 con alta eficiencia y sin ningún efecto de interferencia adverso. El que sea posible llevar a cabo este objetivo con facilidad depende mucho del estado físico y químico del analito y de la matriz de la muestra. En el caso de muestras sólidas de materiales refractarios, la introducción de la muestra es por lo común un problema fundamental; para soluciones y muestras gaseosas, el paso de introducción es con frecuencia trivial. Por esta razón, la mayor parte de los estudios espectroscópicos atómicos se llevan a cabo en soluciones.

En el caso de las primeras cinco fuentes de atomización que se enlistan en la tabla 8.1, las muestras son introducidas por lo general en forma de soluciones acuosas (en ocasiones se usan soluciones no acuosas) o, con menos frecuencia, como lechadas (una *lechada* es una suspensión de un polvo finamente dividido en un líquido). Sin embargo, para muestras que son difíciles de disolver, se han usado varios métodos para introducir las en el atomizador en la forma de sólidos o polvos finamente dispersos. Por lo general, las técnicas de introducción de muestras son menos reproducibles y están más sujetas a varios errores, como resultado, no se usan tanto como las técnicas de solución acuosa. En la tabla 8.2 se enlistan los métodos comunes de introducción de muestra para espectroscopia atómica y el tipo de muestras al cual es aplicable cada método.

8C.1 Introducción de muestras en solución

Los dispositivos de atomización se clasifican en dos clases: *atomizadores continuos* y *atomizadores discretos*. Con los primeros, como plasmas y llamas, las muestras

se introducen de manera constante. Con los atomizadores discretos, las muestras se introducen de manera discontinua con un dispositivo como una jeringa o un tomador de muestras automático. El atomizador discreto más común es el *electrotérmico*.

Los métodos generales para introducir muestras en solución en plasmas y flamas⁵ se ilustran en la figura 8.9. La *nebulización* directa es la que se usa con más frecuencia. En este caso, el *nebulizador* introduce en forma constante la muestra en la forma de una fina dispersión de pequeñas gotas, llamada *aerosol*. La introducción continua de muestra en una flama o plasma produce una población de átomos, moléculas y iones en estado estable. Cuando se usa la cromatografía de inyección de flujo o líquida, se nebuliza un tapón de muestra que varía con el tiempo y se produce una población de vapor que depende del tiempo. Los procesos complejos que deben ocurrir para producir átomos libres o iones elementales se ilustran en la figura 8.10.

Las muestras de solución discretas se introducen transfiriendo una alícuota de la muestra al atomizador. La nube de vapor que producen los atomizadores electrotérmicos es transitoria debido a la cantidad limitada de muestra disponible. Las muestras sólidas pueden ser introducidas en plasmas vaporizándolas con una chispa eléctrica o con un haz láser. Las soluciones se introducen por lo general en el atomizador mediante uno de los tres métodos que se enlistan en la tabla 8.2

Nebulizadores neumáticos

La clase más común de nebulizador es el tipo neumático de tubo concéntrico, que se observa en la figura 8.11a, en el que la muestra líquida se extrae por un tubo

⁵Una descripción excelente de métodos de introducción de líquidos está en *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2a. ed, A. Montaser y D. W. Golightly, eds., capítulo 15. Nueva York: VCH Publishers, Inc., 1992.

TABLA 8.2 Métodos de introducción de muestra en espectroscopia atómica.

Método	Tipo de muestra
Nebulización neumática	Solución o lechada
Nebulización ultrasónica	Solución
Vaporización electrotérmica	Sólido, líquido o solución
Generación de hidruros	Solución de ciertos elementos
Insertión directa	Sólido, polvo
Ablación láser	Sólido, metal
Ablación por chispa o arco	Sólido conductor
Chisporroteo de descarga luminiscente	Sólido conductor



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **introducción de la muestra**.

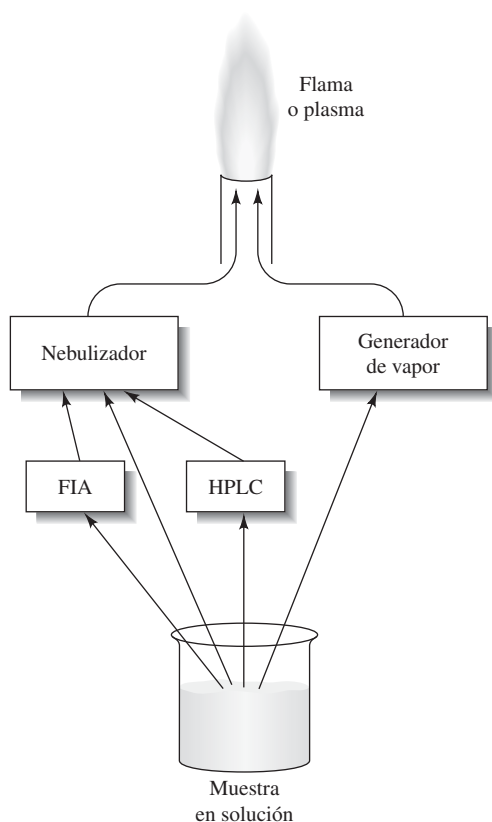


FIGURA 8.9 Métodos continuos de introducción de muestra. Las muestras se introducen con frecuencia en plasmas o flamas por medio de un nebulizador, el cual produce una niebla o dispersión. Las muestras se pueden introducir directamente al nebulizador o por medio de análisis de inyección de flujo (FIA, capítulo 33) o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, capítulo 28). En algunos casos, las muestras son convertidas en vapor por separado mediante un generador de vapor, como un generador híbrido o un vaporizador electrotérmico.

capilar mediante una corriente de gas de alta presión que fluye alrededor de la punta del tubo (el efecto Bernoulli). Este proceso de transporte de líquido se llama *aspiración*. El gas de alta velocidad descompone al líquido en gotitas de varios tamaños, que son llevadas después al atomizador. Los nebulizadores de flujo cruzado, en los que el gas de alta presión fluye por una punta capilar en ángulo recto, se ilustran en la figura 8.11b. La figura 8.11c es un esquema de un nebulizador de disco sinterizado en el que la solución de muestra se bombea sobre una superficie sinterizada por la que fluye un gas portador. Este tipo de nebulizador produce un aerosol mucho más fino que los dos primeros. En la figura 8.11d se muestra un nebulizador Babington, que consta de una esfera hueca en la que se bombea un gas de alta presión que sale a través de un pequeño orificio en la superficie de la esfera. El chorro de gas en expansión nebuliza la muestra líquida que fluye en una delgada película sobre la superficie de la esfera. Este tipo de nebulizador está menos sujeto a taponamiento que otros dispositivos y, por tanto, es útil para muestras que tienen un alto contenido de sales o para lechadas con un contenido importante de partículas.

Nebulizadores ultrasónicos

Varios fabricantes de instrumentos ofrecen también nebulizadores ultrasónicos en los que la muestra se bombea sobre la superficie de un cristal piezoeléctrico que vibra a una frecuencia que varía de 20 kHz a varios megahertz. Los nebulizadores ultrasónicos producen aerosoles más densos y más homogéneos que los nebulizadores neumáticos. Sin embargo, estos dispositivos tienen bajas eficiencias con soluciones viscosas y con las que contienen partículas.

Vaporizadores electrotérmicos

Es un evaporador colocado en una cámara por la que fluye un gas inerte como el argón para llevar la muestra

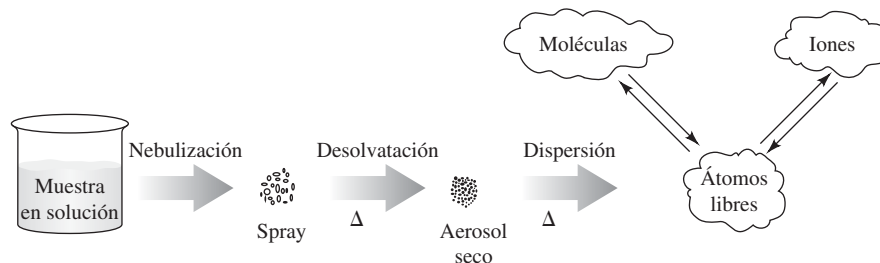


FIGURA 8.10 Procesos que proporcionan átomos, moléculas y iones con introducción continua de muestra en un plasma o flama. La muestra en solución se convierte en una dispersión mediante el nebulizador. La alta temperatura de la llama o el plasma ocasiona que el disolvente se evapore, quedando partículas de aerosol secas. El calentamiento adicional volatiliza las partículas, y se producen especies atómicas, moleculares e iónicas. Estas partículas con frecuencia están en equilibrio, por lo menos en regiones localizadas.

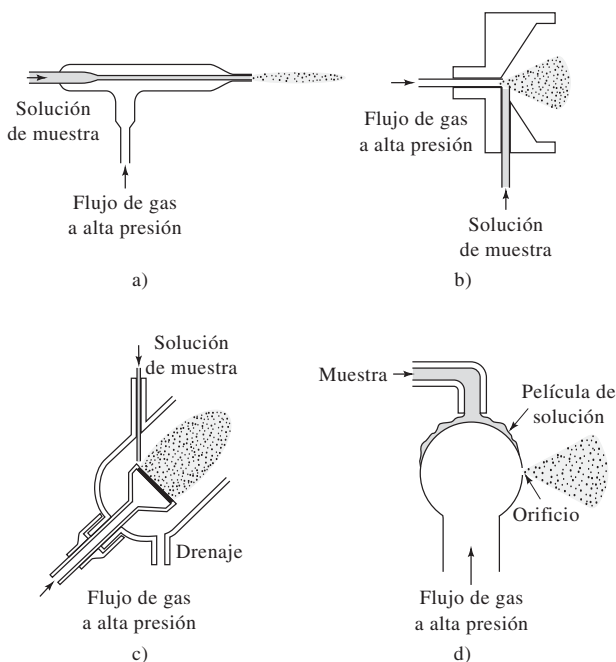


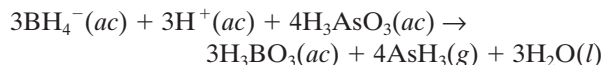
FIGURA 8.11 Tipos de nebulizadores neumáticos: a) tubo concéntrico, b) flujo cruzado, c) disco sinterizado, d) Babington.

evaporada hacia el atomizador. Una pequeña muestra de líquido o sólido se coloca en un conductor, como un tubo de carbono o un filamento de tántalo. Una corriente eléctrica evapora con rapidez y por completo la muestra en el flujo de argón. En contraste con los sistemas de nebulizador recién considerados, un sistema electrotérmico produce una señal discreta en vez de una continua. Es decir, la señal de la muestra atomizada se incrementa al máximo y luego disminuye a cero a medida que la muestra es barrida por la región de observación. Las alturas o las áreas del pico proporcionan entonces la información cuantitativa deseada.

Técnicas de generación de hidruros

Las técnicas de generación de hidruros⁶ representan un método para introducir como un gas muestras que contienen arsénico, antimonio, estaño, selenio, bismuto y plomo en un atomizador. Tal procedimiento incrementa los límites de detección para estos elementos por un factor de 10 a 100. Debido a que varias de estas especies son muy tóxicas, es muy importante determinarlas en niveles de concentración bajos. Esta toxicidad dicta también que los gases de la atomización deben ser eliminados de modo seguro y eficiente.

Los hidruros volátiles se generan al añadir una solución acuosa acidificada de la muestra a un pequeño volumen de una disolución acuosa al 1% de borohidruro de sodio contenida en un recipiente de vidrio. Una reacción característica es



El hidruro volátil — en este caso, arsina (AsH_3) — se barre hacia la cámara de atomización mediante un gas inerte. La cámara es por lo regular un tubo de sílice calentado a varios cientos de grados en un horno de tubo o en una flama donde tiene lugar la descomposición del hidruro, lo que da lugar a la formación de átomos del analito. La concentración del analito se mide entonces por absorción o emisión. La señal tiene una forma de pico similar a la que se obtiene con la atomización electrotérmica.

8C.2 Introducción de muestras sólidas

La introducción de sólidos⁷ en la forma de polvos, metales o partículas en atomizadores de plasma o llama tiene la ventaja de evitar el paso con frecuencia tedioso y tardado de descomponer y disolver la muestra. Sin embargo, dichos procedimientos sufren casi siempre dificultades graves con la calibración, el acondicionamiento de la muestra, la precisión y la exactitud.

Durante las dos últimas décadas se han propuesto varias técnicas para la introducción directa de sólidos en atomizadores, evitando así la necesidad de disolver o descomponer la muestra. Estas técnicas incluyen 1) inserción manual directa del sólido en el dispositivo de atomización, 2) vaporización electrotérmica de la muestra y transferencia del vapor hacia la región de atomización, 3) ablación del sólido por arco, chispa o láser para producir un vapor que después se barre hacia el atomizador, 4) nebulización de lechada en que la muestra sólida finamente dividida es llevada hacia el atomizador como un aerosol que consta de una suspensión del sólido en un medio líquido y 5) chisporroteo en un dispositivo de descarga luminiscente. Ninguno de estos procedimientos produce resultados tan satisfactorios como los que se obtienen al introducir las soluciones de muestra mediante nebulización. La mayor parte de estas técnicas dan lugar a una señal analítica discreta en vez de una continua.

⁶Para una descripción detallada de estos métodos, refiérase a T. Nakahara, en *Sample Introduction in Atomic Spectroscopy*, J. Sneddon, ed., cap. 10, Nueva York: Elsevier, 1990; J. Didina y D. L. Tsalev, *Hydride Generation Atomic Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1995.

⁷Para una descripción de técnicas de introducción de sólidos, véase C. M. McLeod, M. W. Routh y M. W. Tikkanen, en *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2a ed., A. Montaser y D. W. Golightly, eds., cap. 16, Nueva York: VCH, 1992.

Inserción directa de la muestra

En la técnica de inserción directa de la muestra, ésta se coloca físicamente en el atomizador. Para sólidos, la muestra puede ser convertida en polvo, que luego se coloca en una sonda o sobre ella, la cual se inserta directamente en el atomizador. Con los atomizadores de arco o chispa eléctrica las muestras de metal desempeñan con frecuencia el papel de uno o de los dos electrodos que se usan para formar el arco o chispa.

Vaporizadores electrotérmicos

Los vaporizadores electrotérmicos, que se describieron en forma breve en la sección anterior, se usan también para varios tipos de muestras sólidas. La muestra se calienta conductivamente en una varilla o en un recipiente de grafito o tántalo. La muestra vaporizada se lleva al atomizador mediante un gas inerte portador.

Ablación por arco o chispa

Descargas eléctricas de varios tipos se usan con frecuencia para introducir muestras sólidas en los atomizadores. La descarga interactúa con la superficie de una muestra sólida y crea una nube de una muestra de partículas, vaporizada, que es transportada al atomizador mediante el flujo de un gas inerte. Este proceso de introducción de muestra se llama *ablación*.

Para que la ablación por arco o chispa sea exitosa, la muestra debe ser eléctricamente conductora o debe mezclarse con un conductor. La ablación se lleva a cabo por lo regular en una atmósfera inerte como, por ejemplo, una corriente de gas argón. La señal analítica resultante podría ser discreta o continua, lo cual depende de la naturaleza de la muestra. Varios fabricantes de instrumentos comercializan accesorios para la ablación eléctrica por arco o chispa.

Hay que destacar que los arcos y chispas también atomizan muestras y excitan a los átomos resultantes para generar espectros de emisión que son útiles para el análisis. Una chispa produce también un número significativo de iones que pueden ser separados y analizados mediante espectroscopia de masas (véase la sección 11D).

Ablación mediante rayos láser

La ablación con láser es un método versátil para introducir muestras sólidas en los atomizadores. Este método es similar a la ablación por arco o chispa; un haz láser enfocado con suficiente energía, por lo común un rayo láser de Nd-YAG o excímero, incide en la superficie de la muestra sólida donde tiene lugar la ablación para convertirla en una pluma de vapor y materia en forma de partículas que son barridas después hacia el atomizador.

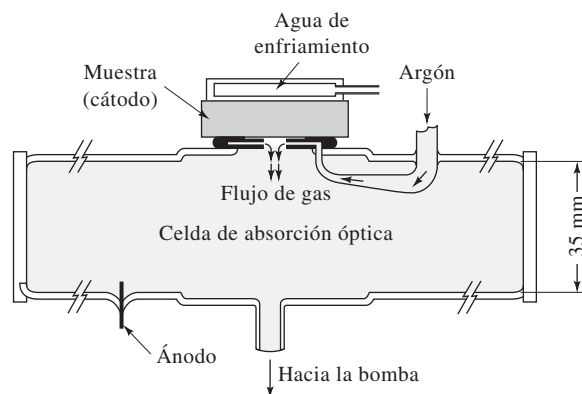


FIGURA 8.12 Un atomizador de descarga luminiscente. (Tomado de D. S. Gough, P. Hannaford y R. M. Lowe, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 1652. Figura 1(a), p. 1653. Copyright 1989 American Chemical Society.)

La ablación por láser es aplicable a sólidos conductores y no conductores, muestras inorgánicas y orgánicas y materiales metálicos y en polvo. Además del análisis en masa, un láser enfocado permite analizar áreas pequeñas en la superficie de sólidos. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen tomadores de muestras con láser.

La técnica de descarga luminiscente

Un dispositivo de descarga luminiscente⁸ es una fuente versátil que efectúa la introducción y la atomización de la muestra en forma simultánea (véase figura 8.12). Una descarga luminiscente tiene lugar en una atmósfera de gas argón de baja presión (1 a 10 torr) entre un par de electrodos mantenidos a un voltaje de cd de 250 a 1000 V. El voltaje aplicado ocasiona que el gas argón se descomponga en iones de argón con carga positiva y electrones. El campo eléctrico acelera los iones argón hacia la superficie del cátodo que contiene la muestra. Los átomos neutros de la muestra son expulsados entonces por un proceso llamado *chisporroteo*. La tasa de chisporroteo puede ser tan alta como 100 µg/min.

El vapor atómico producido en una descarga luminiscente consta de una mezcla de átomos e iones que puede ser determinada mediante absorción atómica o fluorescencia o mediante espectrometría de masas. Además, una fracción de las especies atomizadas presentes en el vapor está en un estado excitado. Cuando

⁸Véase R. K. Marcus, T. R. Harville, Y. Mei y C. R. Shick, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 902A; W. W. Harrison, C. M. Barshick, J. A. Kingler, P. H. Ratliff y Y. Mei, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 943A; R. K. Marcus, *Spectroscopy*, **1992**, 7 (5), p. 12; *Glow Discharge Spectroscopies*, R. K. Marcus, ed., Nueva York: Plenum Press, 1993.

las especies excitadas regresan a sus estados base, producen una luminiscencia de baja intensidad (de ahí el nombre) que se puede usar para mediciones de emisión óptica.

Las aplicaciones más importantes del atomizador de descarga luminiscente han sido en el análisis de

metales y otras muestras conductoras; aunque con modificaciones, el dispositivo se usa también con muestras líquidas y materiales no conductores mezclándolos con un conductor como grafito o polvos de cobre puro.

Fuentes de descarga luminiscente de varias clases son producidas por varios fabricantes de instrumentos.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 8.1 ¿Por qué el espectro del CaOH de la figura 8.8 es mucho más amplio que la línea de emisión del bario?
- 8.2 ¿Qué es fluorescencia de resonancia?
- 8.3 ¿En qué condiciones puede ocurrir un desplazamiento de Stokes (véase la sección 6C.6) en la espectroscopia atómica?
- 8.4 ¿Qué determina las amplitudes de línea naturales para las líneas de emisión y absorción atómicas? ¿Aproximadamente qué tan anchas son estas amplitudes?
- 8.5 En una llama caliente, las intensidades de emisión de las líneas del sodio a 589.0 y 589.6 nm son mayores en una solución de muestra que contiene KCl que cuando este compuesto está ausente. Sugiera una explicación.
- 8.6 La intensidad de una línea para Cs atómico es mucho más baja en una flama de gas natural, que opera a 1800°C, que en una flama de hidrógeno-oxígeno, cuya temperatura es 2700°C. Explique.
- 8.7 Nombre un tipo continuo y un tipo discreto de atomizador que se empleen en espectrometría atómica. ¿Qué tan diferentes son las señales de salida de un espectrómetro?
- *8.8 El efecto Doppler es una de las fuentes del ensanchamiento de las líneas en la espectroscopia de absorción atómica. Los átomos que se mueven hacia la fuente de luz encuentran radiación de frecuencia más alta que los átomos que se alejan de la fuente. La diferencia en la longitud de onda $\Delta\lambda$ que experimenta un átomo que se mueve a velocidad v (comparado con uno en reposo) es $\Delta\lambda/\lambda = v/c$, donde c es la velocidad de la luz. Estime la amplitud de línea (en nanómetros) de la línea del litio a 670.776 (6707.76 Å) cuando los átomos que absorben están a una temperatura de a) 2100 K y b) 3150 K. La velocidad promedio de un átomo está dada por $v = \sqrt{8kT/\pi m}$, donde k es la constante Boltzmann, T es la temperatura absoluta y m es su masa.
- *8.9 Para iones de Na^+ y Mg^+ compare las relaciones entre el número de iones en el estado excitado $3p$ y el número en el estado basal en
 - a) una flama de gas natural-aire (1800 K).
 - b) una de hidrógeno-oxígeno (2950 K).
 - c) una fuente de plasma acoplada inductivamente (7250 K).
-  8.10 En las fuentes de alta temperatura, los átomos de sodio emiten un doble con una longitud de onda promedio de 1139 nm. La transición causante es del estado $4s$ al $3p$. Elabore una hoja de cálculo para determinar la relación entre el número de átomos excitados en el estado $4s$ y el número en el estado basal $3s$ para el inter-

valo de temperatura que va desde una flama de acetileno-oxígeno (3000°C) hasta la parte más caliente de una fuente de plasma acoplada inductivamente (8750°C).

- 8.11 En el intervalo de concentración de 500 a 2000 ppm de U, hay una relación lineal entre la absorbancia a 351.5 nm y la concentración. A bajas concentraciones la relación es no lineal a menos que se introduzcan en la muestra alrededor de 2000 ppm de una sal de metal alcalino. Explique.



Problema de reto

- 8.12 En un estudio de mecanismos de ensanchamiento de líneas en plasmas de baja presión inducidos por láser, Gornushkina *et al.*,⁹ presentan la siguiente expresión para la amplitud media del ensanchamiento Doppler $\Delta\lambda_D$ de una línea atómica.

$$\Delta\lambda_D(T) = \lambda_0 \sqrt{\frac{8kT \ln 2}{Mc^2}}$$

donde λ_0 es la longitud de onda en el centro de la línea de emisión, k es la constante de Boltzman, T es la temperatura absoluta, M es la masa atómica y c es la velocidad de la luz. Ingle y Crouch¹⁰ presentan una ecuación similar en términos de frecuencias.

$$\Delta\nu_D = 2 \left[\frac{2(\ln 2)kT}{M} \right]^{1/2} \frac{\nu_m}{c}$$

donde $\Delta\nu_D$ es la semiamplitud Doppler y ν_m es la frecuencia en el máximo de la línea.

- Demuestre que las dos expresiones son equivalentes.
- Calcule la semiamplitud en nanómetros para el ensanchamiento Doppler de la transición $4s \rightarrow 4p$ para níquel atómico a 361.939 nm (3619.39 Å) a una temperatura de 20 000 K en unidades de longitud de onda y frecuencia.
- Estime la amplitud de la línea natural para la transición en b), suponga que el tiempo de vida del estado excitado es 5×10^{-8} s.
- La expresión para el corrimiento Doppler que se da en el capítulo y en el problema 8.8 es una aproximación que funciona a velocidades relativamente bajas. La expresión relativista para el desplazamiento Doppler es

$$\frac{\Delta\lambda}{\lambda} = \frac{1}{\sqrt{\frac{c - \nu}{c + \nu}}} - 1$$

Demuestre que la expresión relativista es congruente con la ecuación que se da en el capítulo para velocidades atómicas bajas.

- Calcule la velocidad que tendría un átomo de hierro que experimenta la transición $4s \rightarrow 4p$ a 385.9911 nm (3859.911 Å) si la línea resultante apareciera a la longitud de onda de reposo para la misma transición en el níquel.
- Calcule la fracción de una muestra de átomos de hierro a 10 000 K que tendría la velocidad que calculó en e).
- Elabore una hoja de cálculo para determinar la semiamplitud Doppler $\Delta\lambda_D$ en nanómetros para las líneas del níquel y el hierro citadas en b) y e) de 3000 a 10 000 K.
- Consulte el artículo de Gornushkina *et al.* (nota 9) y enliste las cuatro fuentes de ensanchamiento de presión que ellos describen. Explique en detalle cómo dos de estas fuentes se originan en átomos de muestra.

⁹I. B. Gornushkin, L. A. King, B. W. Smith, N. Omenetto y J. D. Winefordner, *Spectrochim. Acta B*, **1999**, 54, p. 1207.

¹⁰J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 212, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988.

Espectrometría de absorción atómica y de fluorescencia atómica

En este capítulo se consideran dos tipos de métodos espectrométricos atómicos ópticos que usan técnicas similares para la introducción de la muestra y la atomización. El primero es la espectrometría de absorción atómica, que durante casi medio siglo ha sido el método que más se usa para identificar elementos simples en muestras analíticas. El segundo es la espectrometría de fluorescencia atómica, que desde la mitad de la década de 1960 se ha estudiado en forma extensa. En contraste con el método de absorción, la fluorescencia atómica no ha tenido aceptación general para el análisis elemental de rutina. Así, aunque varios fabricantes de instrumentos han empezado a ofrecer en años recientes espectrómetros de fluorescencia atómica para fines especiales, la mayoría de los instrumentos son todavía del tipo de absorción atómica. Debido a esta diferencia de uso, se dedica la mayor parte de este capítulo a la espectrometría de absorción atómica y la descripción de la espectrometría de fluorescencia atómica se analiza en una breve sección al final.

Antes del análisis detallado de la espectrometría de absorción atómica¹ se presenta primero un repaso de los tipos de atomizadores que se usan en la espectrometría de absorción atómica y la espectrometría de fluorescencia atómica.

9A TÉCNICAS DE ATOMIZACIÓN DE MUESTRAS

En primer lugar se describen los dos métodos más comunes de atomización de muestra que se utilizan en espectrometría de absorción atómica y espectrometría de fluorescencia atómica: la atomización de llama y la atomización electrotérmica. Después, se vuelve a tres procedimientos de atomización especializados que se practican en ambos tipos de espectrometría.

9A.1 Atomización de llama

En un atomizador de llama, una solución de la muestra se *nebuliza* mediante un flujo de oxidante gaseoso mezclado con un combustible también gaseoso y se lleva hacia una llama donde ocurre la atomización. Como se ilustra en la figura 9.1, en la llama ocurre un conjunto complejo de procesos interconectados. El primero es la *desolvatación*, en la que el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular finamente dividido. Luego, éste se *volatiliza* para formar moléculas de gas. La *disociación* de la mayor parte de dichas moléculas produce un gas atómico. Algunos de los átomos del gas se ionizan para formar cationes y electrones. Otras moléculas y átomos se producen en la llama como resultado de las interacciones del combustible con el oxidante y con las distintas especies de la muestra. Como se indica en la figura 9.1, una fracción de las moléculas, átomos y iones se excita también por el calor de la llama para producir espectros de emisión atómicos, iónicos y moleculares. Con tantos procesos complejos que ocurren, no es sorprendente que la atomización sea el paso más decisivo en la espectroscopía de llama y el único que limita la precisión de tales métodos. Como resultado de la naturaleza determinante del paso de atomización, es importante entender las características de las llamas y las variables que las afectan.

¹ Las referencias generales de la espectrometría de absorción atómica incluyen L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004; J. A. C. Broekaert, *Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2002; B. Magyar, *Guide-Lines to Planning Atomic Spectrometric Analysis*, Nueva York: Elsevier, 1982; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, cap. 10, Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988; M. Sperling y B. Welz, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3a. ed., Nueva York: VCH Publishers, 1999; N. H. Bings, A. Bogaerts y J. A. C. Broekaert, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3313.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

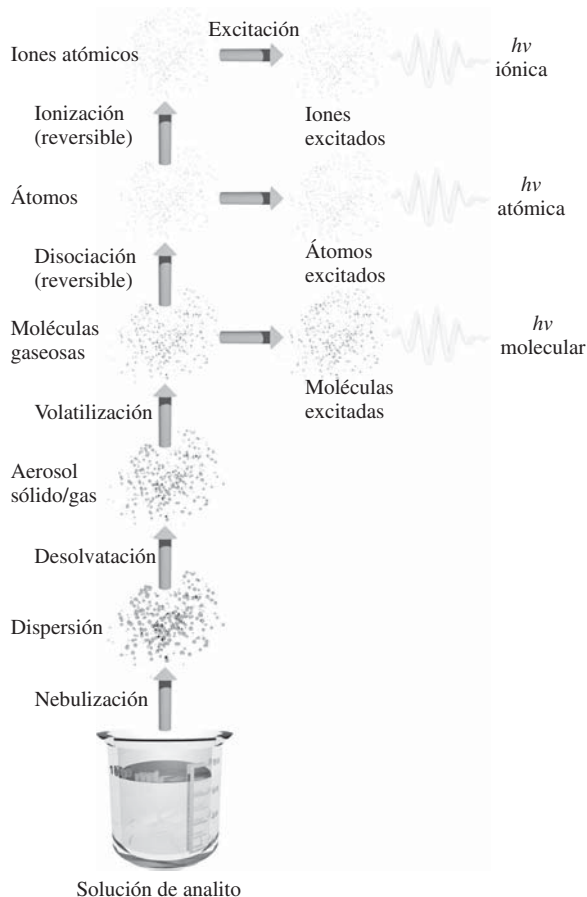


FIGURA 9.1 Procesos que ocurren durante la atomización.

Tipos de llamas

En la tabla 9.1 se enlistan los combustibles y oxidantes comunes en la espectroscopía de llama y el intervalo aproximado de temperaturas que se logran con estas mezclas. Observe que cuando el aire es el oxidante, se logran temperaturas de 1700°C a 2400°C con varios combustibles. A estas temperaturas sólo se atomizan

TABLA 9.1 Propiedades de las llamas.

Combustible	Oxidante	Temperatura, °C	Velocidad de combustión máxima, cm s ⁻¹
Gas natural	Aire	1700–1900	39–43
Gas natural	Oxígeno	2700–2800	370–390
Hidrógeno	Aire	2000–2100	300–440
Hidrógeno	Oxígeno	2550–2700	900–1400
Acetileno	Aire	2100–2400	158–266
Acetileno	Oxígeno	3050–3150	1100–2480
Acetileno	Óxido nítrico	2600–2800	285

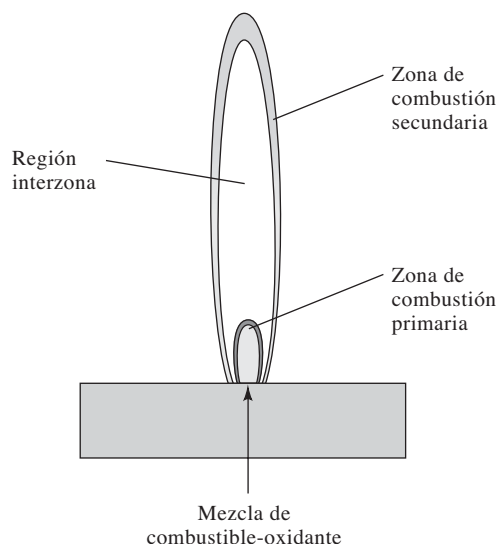


FIGURA 9.2 Regiones en una llama.

las muestras que se descomponen con facilidad, así que se debe usar oxígeno u óxido nítrico como oxidante para muestras más refractarias. Estos oxidantes producen temperaturas de 2500°C a 3100°C con los combustibles comunes.

Las velocidades de combustión que se enlistan en la cuarta columna de la tabla 9.1 son importantes porque las llamas son estables sólo en ciertos intervalos de flujos de gas. Si el flujo de gas no excede la velocidad de combustión, la llama se propaga de regreso hacia el quemador y produce un *retroceso de la llama*. Cuando se incrementa el flujo, la llama sube hasta que alcanza un punto arriba del quemador donde la velocidad del flujo y la velocidad de combustión son iguales; es en esta región donde la llama es estable. A velocidades más altas, la llama sube y alcanza con el tiempo un punto en el que se desprende del quemador y lo apaga. Con estos hechos en mente, es fácil ver por qué es tan importante controlar el flujo de la mezcla combustible-oxidante, el cual depende mucho de los tipos de combustible y oxidante que se utilicen.

Estructura de la llama

Como se ilustra en la figura 9.2, las regiones importantes de una llama incluyen la zona de combustión primaria, la región interzona y la zona de combustión secundaria. La apariencia y tamaño relativo de estas regiones varía en forma considerable con la relación entre combustible y oxidante, así como con la naturaleza de cada uno de ellos. La zona de combustión primaria en una llama de hidrocarburo es reconocible por la luminiscencia azul que surge de la emisión de banda de C₂, CH y otros radicales. El equilibrio térmico no se alcanza por lo general en esta región y, por tanto, rara vez se usa en la espectroscopía de llama.

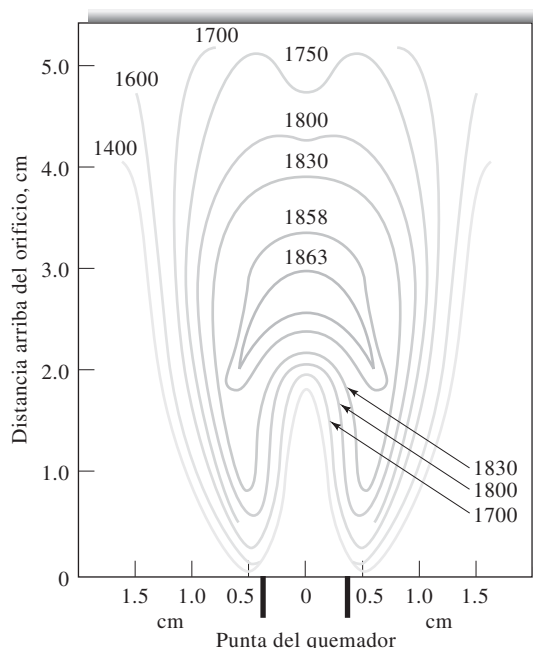


FIGURA 9.3 Perfiles de temperatura en grados Celsius para una llama de gas natural-aire. (Tomado de B. Lewis y G. van Elbe, *J. Chem. Phys.*, **1943**, 11, 94. Con autorización.)

El área interzona, que es relativamente estrecha en las llamas de hidrocarburo estequiométricas, puede alcanzar varios centímetros de altura en fuentes de acetileno-oxígeno o de acetileno-óxido nítrico ricas en combustible. Debido a que en la región interzona predominan átomos libres, es la parte de la llama que más se usa para la espectroscopía. En la zona de reacción secundaria los productos de núcleo interno se convierten en óxidos moleculares estables que son dispersados después hacia los alrededores.

Un perfil de llama proporciona información útil acerca de los procesos que suceden en diferentes partes de una llama; es una gráfica de contorno que revela regiones que tienen valores similares para una variable de interés. Algunas de las variables son: temperatura, composición química, absorbancia e intensidad radiante o fluorescencia.

Perfiles de temperatura. En la figura 9.3 se muestra un perfil de temperatura de una llama típica para espectroscopía atómica. La temperatura máxima se localiza aproximadamente a 2.5 cm por arriba de la zona de combustión primaria. Es importante —en particular para los métodos de emisión (sección 10C.1)— enfocar la misma parte de la llama en la rendija de entrada para todas las calibraciones y mediciones analíticas.

Perfiles de absorción de llama. En la figura 9.4 se muestran los perfiles de absorción característicos para tres elementos. El magnesio manifiesta un máximo de ab-

sorbancia en casi la mitad de la llama como resultado de dos efectos que se oponen. El incremento inicial de absorbancia a medida que aumenta la distancia desde la base resulta de un mayor número de átomos de magnesio producidos por la exposición más prolongada al calor de la llama. No obstante, cuando se aproxima a la zona de combustión secundaria, comienza la oxidación apreciable del magnesio. Este proceso conduce al final a una disminución de la absorbancia porque las partículas de óxido que se forman no absorben en la longitud de onda de interés. Para alcanzar la máxima sensibilidad analítica, la llama debe ajustarse arriba y abajo respecto al haz hasta que se localice la región de absorbancia máxima.

El comportamiento de la plata, que no se oxida con facilidad, es bastante diferente; como se muestra en la figura 9.4, se observa un incremento continuo en el número de átomos y, por tanto, en la absorbancia, desde la base hasta la periferia de la llama. En contraste, el cromo, que forma óxidos muy estables, muestra una disminución continua de absorbancia que comienza cerca de la punta del mechero. Lo anterior hace pensar que la formación de óxido predomina desde el principio. Estas observaciones sugieren que para identificar cada uno de estos elementos debe usarse una parte de la llama. Los instrumentos más complejos para la espectroscopía de llama están equipados con monocromadores que toman muestras de la radiación desde una región relativamente pequeña de la llama y, por tanto, un paso crítico en el mejoramiento de la señal de salida es el ajuste de la oposición de la llama respecto a la rendija de entrada.

Atomizadores de llama

Los atomizadores de llama se usan para las espectroscopías atómicas de absorción, de fluorescencia y de emisión. La figura 9.5 es el diagrama de un quemador

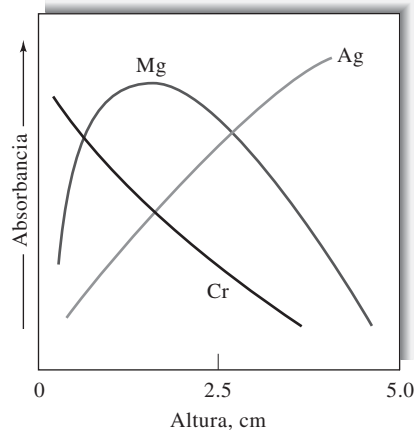


FIGURA 9.4 Perfiles de absorción de llama para tres elementos.

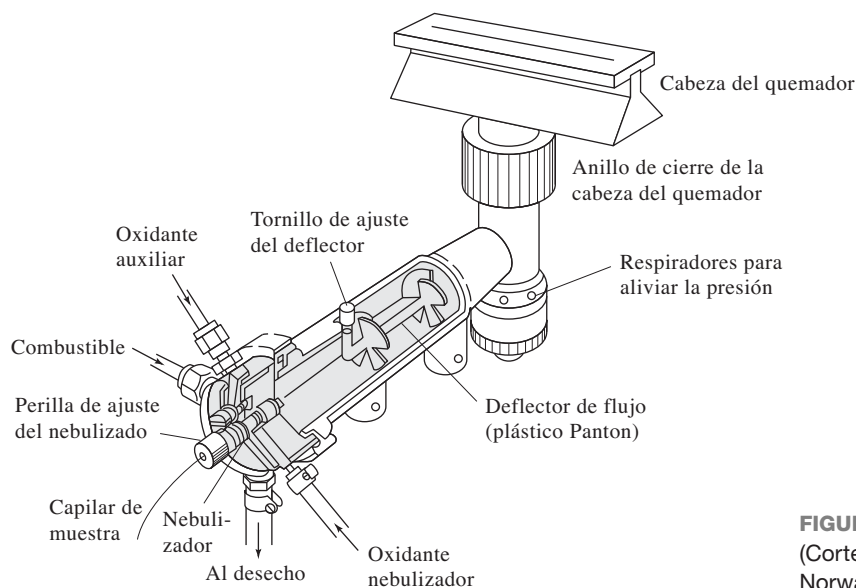


FIGURA 9.5 Quemador de flujo laminar. (Cortesía de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT.)

de flujo laminar comercial típico que utiliza un nebulizador de tubo concéntrico, como el que se muestra en la figura 8.11a. El aerosol, formado por el flujo de oxidante, se mezcla con combustible y pasa por una serie de deflectores que eliminan todo excepto las gotas de solución más finas. Los deflectores ocasionan que la mayor parte de la muestra se reúna en el fondo de la cámara de mezcla donde se drena hacia un recipiente de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible arden entonces en un quemador ranurado que proporciona una llama de 5 a 10 cm de alto.

Los quemadores de flujo laminar producen una llama relativamente estática y una longitud de trayecto larga para llevar al máximo la absorción. Estas propiedades tienden a incrementar la sensibilidad y reproducibilidad en la espectrometría de absorción atómica. La cámara de mezcla en este tipo de quemador contiene una mezcla potencialmente explosiva que puede producir un retroceso de la llama si el flujo es demasiado bajo. Note que el quemador de flujo laminar de la figura 9.5 está equipado con respiradores de alivio de presión por esta causa. Otros tipos de quemadores de flujo laminar y quemadores de flujo turbulento están disponibles para la espectrometría de emisión atómica y la espectrometría de fluorescencia atómica.

Reguladores de combustible y oxidante. Una variable importante que requiere un control riguroso en la espectroscopía de llama es el flujo de oxidante y combustible. Es deseable variar cada uno en un amplio intervalo de modo que se puedan determinar de manera experimental las condiciones de atomización óptimas. El combustible y el oxidante se suelen combinar

en cantidades estequiométricas. Sin embargo, para la identificación de metales que forman óxidos estables es deseable una llama que contenga un exceso de combustible. De ordinario, los flujos son controlados por medio de reguladores de presión de doble diafragma seguidos de válvulas de aguja en la carcasa del instrumento. Un dispositivo muy usado para medir flujos es el rotámetro, que consta de un tubo transparente, graduado, ahusado, que se monta de modo vertical con el extremo más pequeño hacia abajo. Un flotador de poco peso, cónico o esférico, es elevado por el flujo de gas; su posición vertical está determinada por el flujo.

Características de desempeño de atomizadores de llama. Hasta la fecha, la atomización de llama es el más reproducible de todos los métodos de introducción de muestra líquida que han sido perfeccionados para la espectrometría de absorción y fluorescencia. Sin embargo, la eficiencia de toma de muestras de otros métodos de atomización y, por tanto, su sensibilidad son notablemente mejores. Hay dos razones principales de la menor eficiencia de muestreo de la llama. Primero, una gran porción de la muestra fluye hacia el drenaje. Segundo, el tiempo de residencia de cada uno de los átomos en la trayectoria óptica es breve ($\sim 10^{-4}$ s).

9A.2 Atomización electrotérmica

Los atomizadores electrotérmicos, que aparecieron por primera vez en el mercado a principios de la década de 1970, son por lo general más sensibles debido a que la muestra completa se atomiza en un corto periodo, y el tiempo de residencia promedio de los áto-

mos en la trayectoria óptica es de un segundo o más.² Los atomizadores electrotérmicos se usan para medir la absorción y la fluorescencia atómicas, pero en general no se aplican en la producción directa de espectros de emisión. No obstante, se usan para evaporar muestras en la espectroscopía de emisión de plasma acoplado de manera inductiva.

En los atomizadores electrotérmicos, unos cuantos mililitros de la muestra se evaporan primero a una temperatura baja y luego se convierten en cenizas a una temperatura un poco más alta en un tubo de grafito que se calienta eléctricamente, similar al de la figura 9.6, o en un crisol de grafito. Después de convertirlos en ceniza, la corriente se incrementa con rapidez a varios cientos de amperes, que hacen que la temperatura se eleve de 2000 a 3000°C; la atomización de la muestra ocurre en un periodo que va de unos cuantos milisegundos hasta algunos segundos. La absorción o fluorescencia del vapor atómico se mide entonces en la región inmediatamente por arriba de la superficie calentada.

Atomizadores electrotérmicos

La figura 9.6a es una vista transversal de un atomizador electrotérmico comercial. En este dispositivo la atomización ocurre en un tubo de grafito cilíndrico que está abierto en ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la muestra por medio de una micropipeta. El tubo es de unos 5 cm de largo y tiene un diámetro interno de poco menos de 1 cm. El tubo de grafito intercambiable se ajusta cómodamente en un par de contactos eléctricos de forma cilíndrica, hechos también de grafito, que se ubican en los dos extremos del tubo y se mantienen en una carcasa de metal enfriada por agua. Se suministran dos corrientes de gas inerte. La corriente externa evita que entre aire del exterior e incinere el tubo. La corriente interna fluye hacia los dos extremos del tubo y sale del puerto de muestra central. Esta corriente excluye no sólo el aire, sino que también sirve para arrastrar vapores generados en la matriz de muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento.

En la figura 9.6a se ilustra la llamada plataforma de L'vov, que se emplea con frecuencia en hornos de grafito como el que se muestra en la figura. La plataforma también está hecha de grafito y se localiza debajo del puerto de entrada de la muestra. En dicha plataforma la muestra se evapora y se convierte en cenizas. Sin embargo, cuando la temperatura del tubo se incre-

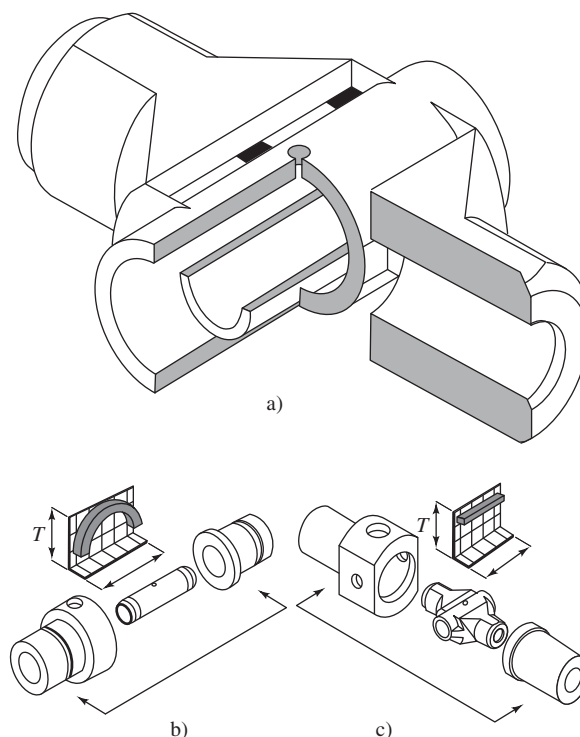


FIGURA 9.6 a) Vista transversal de un horno de grafito con plataforma de L'vov integrada. b) Configuración longitudinal del horno de grafito. Observe el perfil de temperatura en color azul a lo largo de la trayectoria del horno. En la configuración longitudinal, la temperatura varía de modo continuo a lo largo de la trayectoria y alcanza un máximo en el centro. c) Configuración transversal del horno. El perfil de temperatura es relativamente constante a lo largo de la trayectoria. (Cortesía de Perkin-Elmer Life y Analytical Sciences, Shelton, CT.)

menta con rapidez, la atomización se retrasa porque la muestra ya no está directamente sobre la pared del horno. Como resultado, la atomización ocurre en un ambiente en el que la temperatura ya no cambia con rapidez, lo cual mejora la reproducibilidad de las señales analíticas.

Las figuras 9.6b y c muestran las dos formas de calentar el horno de grafito mientras se mantiene en la trayectoria óptica. Por tradición, el horno se calentaba en el modo longitudinal que se ilustra en la figura 9.6b, que provee un perfil de temperatura que varía de manera continua, como se muestra en la figura. El modo transversal, que se muestra en la figura 9.6c, da un perfil de temperatura uniforme a lo largo de todo el tubo. Esta configuración provee condiciones óptimas para la formación de átomos libres a lo largo del tubo. La recombinación de átomos en moléculas, la pérdida de átomos y la condensación en los extremos más fríos del tubo que se producen en el modo longitudinal se reducen en el modo de calentamiento transversal.

²Para descripciones detalladas de los atomizadores electrotérmicos, véase K. W. Jackson, *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1999; A. Varma, *CRC Handbook of Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1989; D. J. Butcher y J. Sneddon, *A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1998; K. W. Jackson, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 159, y revisiones previas en la serie.

Los experimentos muestran que la reducción de la porosidad natural del tubo de grafito disminuye algunos efectos de la matriz de la muestra y la mala reproducibilidad relacionada con la atomización en el horno de grafito. Durante la atomización, parte del analito y la matriz parecen difundirse hacia la superficie del tubo, lo cual hace más lento el proceso y produce señales de analito más pequeñas. Para vencer este efecto, la mayoría de los hornos de grafito se recubren con una capa delgada de carbono pirolítico para sellar los poros del tubo de grafito. El grafito pirolítico se deposita capa por capa desde un ambiente muy homogéneo. Se forma al hacer pasar una mezcla de un gas inerte y un hidrocarburo como el metano por el tubo mientras se le mantiene a una temperatura elevada.

Señal de salida

A una longitud de onda a la que ocurre absorbancia o fluorescencia, la salida del transductor se eleva a un máximo después de algunos segundos de ignición seguida de un rápido descenso a cero cuando los productos de la atomización escapan hacia los alrededores. El cambio es lo bastante rápido (con frecuencia <1 s) como para requerir un sistema de adquisición de datos moderadamente rápido. Por lo general las determinaciones cuantitativas se basan en la altura del pico, aunque también se usa el área de éste.

En la figura 9.7 se muestran las señales de salida características de un espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador electrotérmico. La serie de cuatro picos a la derecha muestran la absorbancia en la longitud de onda de un pico de plomo en función del tiempo cuando se atomiza una muestra de 2 μL de jugo de naranja enlatado. Durante el secado y la calcinación, aparecen tres picos que tal vez se deben a productos de la evaporación molecular y a productos de la ignición de partículas. Los tres picos a la izquierda son para estándares de plomo que se usan para la calibración. El pico de muestra en el extremo derecho indica una concentración de plomo de acaso 0.05 $\mu\text{g/mL}$ de jugo.

Características de desempeño de los atomizadores electrotérmicos

Los atomizadores electrotérmicos ofrecen la ventaja de ser inusualmente sensibles para volúmenes pequeños de muestra. Por lo común, se emplean volúmenes de muestra entre 0.5 y 10 μL en estas circunstancias, los límites de detección absolutos están en el intervalo de 10^{-10} a 10^{-13} g de analito.³

La precisión relativa de los métodos electrotérmicos está por lo general en el intervalo de 5% a 10%

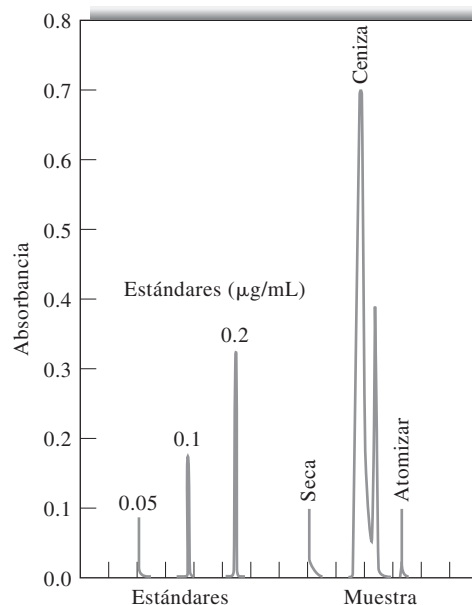


FIGURA 9.7 Resultado característico para la determinación de plomo en un espectrofotómetro equipado con un atomizador electrotérmico. La muestra fueron dos micro-litros de jugo de naranja enlatado. Los tiempos para el secado y la calcinación fueron 20 y 60 s, respectivamente. (Cortesía de Varian Instrument Division, Palo Alto, CA.)

en comparación con 1% o más que se puede esperar de la atomización de llama o plasma. Además, debido a los ciclos de calentamiento-enfriamiento, los métodos de horno son lentos, por lo común requieren varios minutos por elemento. Una desventaja final es que el intervalo analítico es relativamente estrecho, por lo regular de menos de dos órdenes de magnitud. Como resultado, la atomización electrotérmica es el método de elección cuando la atomización de llama o plasma proveen límites de detección inadecuados.

Análisis de sólidos con atomizadores electrotérmicos

En la mayor parte de los métodos basados en atomizadores electrotérmicos, las muestras se introducen como soluciones. Sin embargo, en varios informes se describe el uso de este tipo de atomizador para el análisis directo de muestras sólidas. Una manera de efectuar dichas mediciones es pesar una muestra finamente molida en un recipiente de grafito e insertarlo de forma manual en el horno. Una segunda forma es preparar una lechada de la muestra pulverizada mediante agitación ultrasónica en un medio acuoso. La lechada se vacía después con una pipeta hacia el horno para ser atomizada.⁴

³Para una comparación de nueve espectrofotómetros de horno comerciales, refiérase a B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 543A.

⁴Véase, por ejemplo, K. Friese y V. Krivan, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 354.

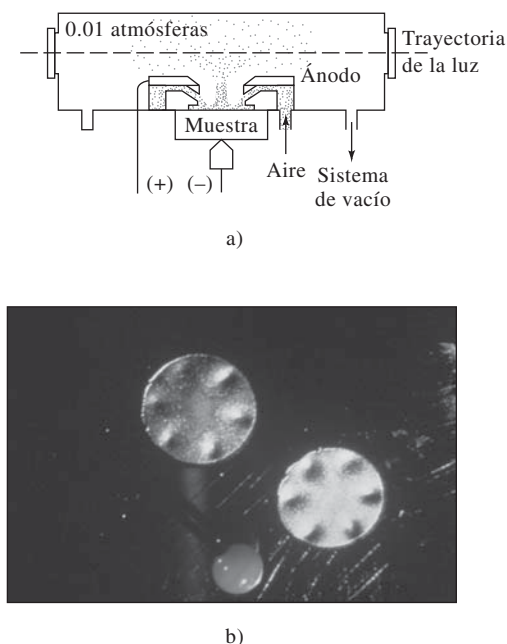


FIGURA 9.8 a) Sección transversal de una celda para atomización de descarga luminiscente de muestras sólidas. b) Cráteres formados en la superficie de la muestra por seis chorros de argón ionizado. (Teledyne Leeman Labs, Hudson, NH.)

9A.3 Técnicas de automatización especializadas

Con mucho, las técnicas más comunes de introducción de muestra y automatización para el análisis de absorción atómica son las llamas y los vaporizadores electrotérmicos. Sin embargo, otros métodos de atomización se usan en forma ocasional. Tres de éstos se describen de manera breve en esta sección.

Atomización con descarga luminiscente

Como se describió en la sección 8C.2, un dispositivo de descarga luminiscente produce un vapor atomizado que puede ser barrido en una celda para medir la absorción. En la figura 9.8a se muestra una celda de descarga luminiscente que se puede usar como un accesorio para la mayor parte de los espectrómetros de absorción atómica. Consta de una celda cilíndrica de unos 17 cm de largo con un orificio circular de unos 2 cm de diámetro cortado cerca de la parte media del cilindro. Un anillo en O rodea al orificio. La muestra se oprime contra este orificio con un tornillo de par de torsión de modo que sella el tubo. Seis corrientes finas de gas argón provenientes de pequeñas toberas colocadas en un patrón circular por arriba de la muestra inciden en la superficie de la muestra en un patrón hexagonal. El argón se ioniza mediante una corriente en-

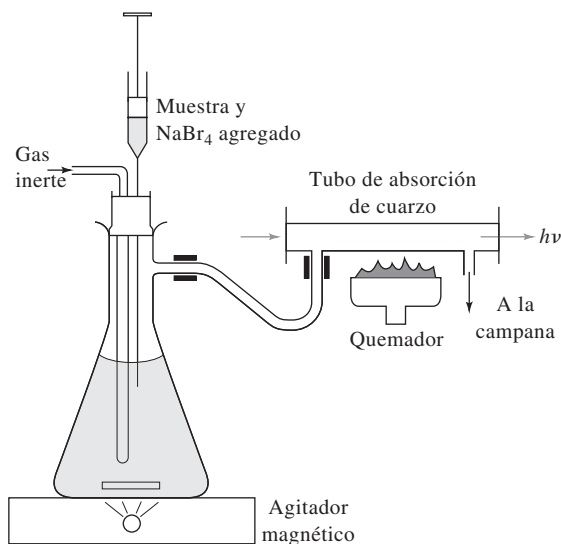


FIGURA 9.9 Generación de un hidruro y sistema de atomización para espectrometría de absorción atómica.

tre un ánodo que soporta las toberas y la muestra, la cual actúa como cátodo. Como resultado del chisporroteo, se forman con rapidez seis cráteres sobre la superficie de la muestra como se ilustra en la figura 9.8b. Los átomos son extraídos mediante vacío hacia el eje de la celda donde absorben radiación de la fuente espectrométrica.⁵

Para que esta técnica sea aplicable, la muestra debe ser un conductor eléctrico o debe convertirse en gránulos con un conductor pulverizado como el grafito o el cobre finamente molido. Las muestras en solución han sido analizadas también por depósito sobre un cátodo de grafito, aluminio o cobre. Los límites de detección con este tipo de dispositivo están en el intervalo de partes por millón para muestras sólidas.⁶

Atomización de hidruros

En la sección 8C.1, se consideran métodos para introducir muestras en solución mediante la generación de hidruros. La atomización de los hidruros requiere sólo que se les caliente en un tubo de cuarzo, como se muestra en la figura 9.9.

Atomización de vapor frío

La técnica de vapor frío es un método de atomización aplicable sólo a la determinación de mercurio porque es el único elemento metálico que tiene una presión de

⁵ Véase E. H. Piepmeyer en *Glow Discharge Spectroscopies*, pp. 69-71, R. K. Marcus, ed., Nueva York: Plenum Press, 1993.

⁶ Para una revisión de la espectroscopía de descarga luminiscente por pulsos, véase W. W. Harrison, C. Yang y E. Oxley, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 480A.

vapor considerable a temperatura ambiente.⁷ La determinación de mercurio en varios tipos de muestras es de vital importancia en la actualidad debido a la toxicidad de los compuestos de mercurio orgánicos y su extendida distribución en el ambiente.⁸ Un método popular para esta determinación es la vaporización en frío seguida de la espectrometría de absorción atómica. Para efectuar una identificación de este tipo, el mercurio se convierte en Hg^{2+} mediante tratamiento de las muestras con una mezcla oxidante de ácidos nítrico y sulfúrico, seguida por la reducción del Hg^{2+} a metal con SnCl_2 . El mercurio elemental es barrido hacia un tubo de absorción de paso largo similar al que se observa en la figura 9.9 al burbujear una corriente de gas inerte por la mezcla de reacción.⁹ La determinación se completa midiendo la absorbancia a 253.7 nm. Se logran límites de detección en el intervalo de partes por millón. Varios fabricantes ofrecen instrumentos automáticos para llevar a cabo esta determinación.

9B INSTRUMENTACIÓN DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Los instrumentos para espectrometría de absorción atómica son similares en diseño general al que se muestra en la figura 7.1a, y constan de una fuente de radiación, un soporte de muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de señal y lectura.¹⁰ El soporte de muestra en los instrumentos de absorción atómica es la celda del atomizador que contiene la muestra gaseosa atomizada.

9B.1 Fuentes de radiación

Los métodos de absorción son muy específicos debido a que las líneas de absorción atómicas son notablemente estrechas (0.002 a 0.005 nm) y porque las energías de transición electrónicas son únicas para cada elemento. Por otro lado, las amplitudes de línea estrechas crean un problema que por lo común no ocurre en

la espectroscopía de absorción molecular. En la sección 13B.2 se demuestra que una relación lineal entre la señal analítica (absorbancia) y la concentración, es decir, que cumpla la ley de Beer expresada mediante la ecuación 6.34, requiere un ancho de banda angosto de la fuente en comparación con la amplitud de una línea de absorción o banda. Sin embargo, incluso los monocromadores de buena calidad tienen anchos de banda significativamente mayores que la amplitud de las líneas de absorción atómica. Como resultado, las curvas de calibración no lineales son inevitables cuando las mediciones de absorción atómica se hacen con un espectrómetro ordinario equipado con una fuente de radiación continua. Además, las pendientes de las curvas de calibración que se obtienen en estos experimentos son pequeñas porque la muestra absorbe sólo una pequeña fracción de la radiación proveniente de la rendija del monocromador; el resultado es una sensibilidad deficiente. En años recientes, el desarrollo de los espectrómetros de fuente continua de alta resolución ($R > 10^5$) basados en el monocromador en escalera doble acoplado con detección de arreglo han empañado este tema, y tales instrumentos están empezando a competir con los espectrómetros tradicionales equipados con fuentes de líneas.¹¹

El problema creado por la amplitud limitada de las líneas de absorción atómica ha sido resuelto mediante el uso de fuentes de líneas con anchos de banda incluso más reducidos que la amplitud de la línea de absorción. Por ejemplo, se usa la línea de 589.6 nm del sodio como base para identificar el elemento, se aísla una línea de emisión del sodio a esta misma longitud de onda para servir como fuente. En este caso se puede usar una lámpara de vapor de sodio en la que los átomos del elemento son excitados mediante una descarga eléctrica para producir la línea. Las otras líneas de sodio emitidas desde la fuente son removidas con filtros o con un monocromador relativamente barato. Las condiciones de operación para la fuente se eligen de tal modo que el ensanchamiento Doppler de las líneas emitidas sea menor que el ensanchamiento de la línea de absorción que ocurre en la llama u otro atomizador. Es decir, la temperatura de la fuente y la presión se mantienen por debajo de la del atomizador. En la figura 9.10 se ilustra el principio de este procedimiento. En la figura 9.10a se muestra el espectro de emisión de una fuente de lámpara atómica típica que consta de cuatro líneas estrechas. Con un filtro o monocromador ade-

⁷Véase L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., p. 63, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.

⁸Véase, por ejemplo, D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., pp. 865-867, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

⁹Para un análisis de la importancia de la identificación de mercurio en el ambiente, refiérase a la presentación "Análisis instrumental en acción al final" de la sección 2.

¹⁰Entre los libros de referencia sobre espectroscopía de absorción atómica están L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2004; M. Sperling y B. Welz, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3a. ed. Nueva York: VCH, 1999.

¹¹B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek y U. Heitmann, *High-Resolution Continuum Source AAS*, Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 2005; H. Becker-Ross, S. Florek, R. Tischendorf, G. R. Schmecher, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1996**, 355, p. 300.

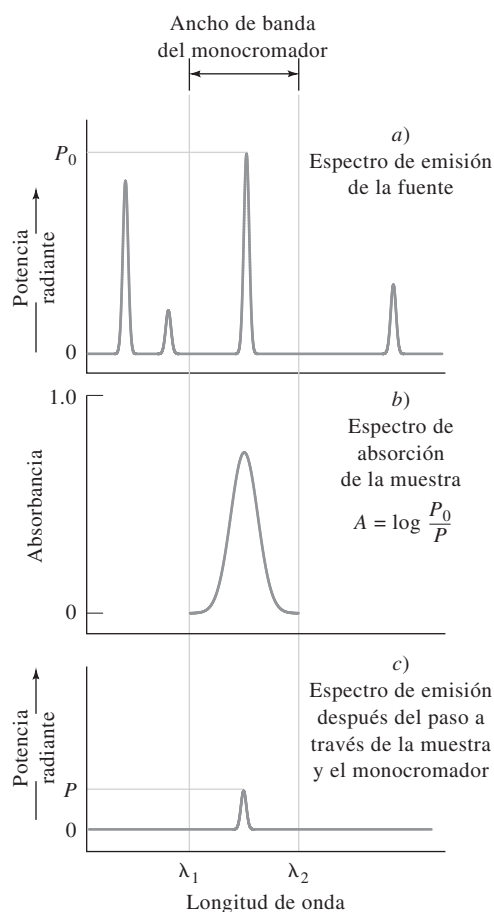


FIGURA 9.10 Absorción de una línea de resonancia por átomos.

cuando se eliminan todas excepto una de estas líneas. En la figura 9.10b se muestra el espectro de absorción para el analito entre las longitudes de onda λ_1 y λ_2 . Observe que el ancho de banda es significativamente mayor que el de la línea de emisión. Como se muestra en la figura 9.10c, el paso de la línea desde la fuente a través de la llama reduce su intensidad de P_0 a P ; la absorbancia está dada entonces por $\log(P_0/P)$, que está relacionada linealmente con la concentración de analito en la muestra.

Una desventaja del procedimiento antes descrito es que es necesaria una lámpara de fuente para cada elemento (o a veces grupo de elementos).

Lámparas de cátodo hueco

La fuente más común para la medición de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, como la que se muestra en la figura 9.11.¹² Este tipo de lámpara consta

de un ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico sellado en un tubo de vidrio lleno con gas neón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido del metal cuyo espectro se desea obtener, o sirve para soportar una capa de ese metal.

La ionización del gas inerte ocurre cuando una diferencia de potencial del orden de 300 V se aplica en los electrodos, lo cual genera una corriente de unos 5 a 15 mA cuando los iones y electrones migran a los electrodos. Si el voltaje es suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren suficiente energía cinética para disolver algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica en un proceso llamado *chisporroteo*. Una parte de los átomos metálicos desprendidos están en estados excitados y, por tanto, emiten su radiación característica cuando vuelven al estado basal. Para finalizar, los átomos metálicos se difunden de nuevo a la superficie del cátodo o a las paredes de vidrio del tubo y son redepositados.

La configuración cilíndrica del cátodo tiende a concentrar la radiación en una región limitada del tubo metálico; este diseño incrementa también la probabilidad de que los átomos se vuelvan a depositar en el cátodo y no en las paredes de vidrio.

La eficiencia de las lámparas de cátodo hueco depende de su forma y del voltaje de operación. Los voltajes altos y, por tanto, las corrientes altas, dan lugar a mayores intensidades. Esta ventaja se compensa un poco mediante un incremento en el ensanchamiento Doppler de las líneas de emisión de la lámpara. Además, las corrientes mayores producen una cantidad más grande de átomos no excitados en la nube. Los átomos no excitados, a su vez, son capaces de absorber la radiación emitida por los átomos excitados. Esta *autoabsorción* origina intensidades menores, en particular en el centro de la banda de emisión.

Las lámparas de cátodo hueco se usan con frecuencia como fuentes en la espectrometría de fluorescencia atómica, como se explica en la sección 9E.1. En esta

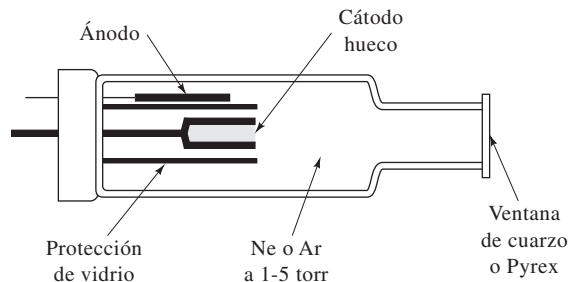


FIGURA 9.11 Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.

¹²Véase S. Caroli, *Improved Hollow Cathode Lamps for Atomic Spectroscopy*, New York: Wiley, 1985.

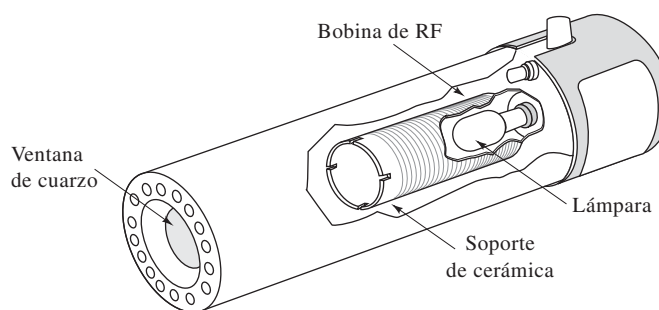


FIGURA 9.12 Corte de una lámpara de descarga sin electrodos. (Tomado de W. B. Barnett, J. W. Vollmer y S. M. DeNuzzo, *At. Absorption Newsletter*, 1976, 15, p. 33. Con autorización.)

aplicación, los impulsos de las lámparas se producen con un ciclo de trabajo de 1% a 10% y una corriente pico de 0.1 a 1 A, lo cual incrementa su brillantez máxima por un factor de 10 a 100 respecto a la brillantez en estado estable con operación de cd.¹³

En el comercio se encuentran diversas lámparas de cátodo hueco. Los cátodos de algunas constan de una mezcla de varios metales y permiten identificar más de un elemento.

Lámparas de descarga sin electrodos

Las lámparas de descarga sin electrodos, son fuentes útiles de espectros de líneas atómicas y proporcionan intensidades radiantes de por lo general uno o dos órdenes de magnitud mayores que las lámparas de cátodo hueco.¹⁴ Una lámpara típica se construye de un tubo de cuarzo sellado que contiene unos cuantos torr de gas inerte como el argón y una pequeña cantidad del metal (o su sal) cuyo espectro es de interés. La lámpara no contiene electrodo, pero en cambio es energizada por un campo intenso de radiación de radiofrecuencia o microondas. La ionización del argón produce iones que son acelerados por el componente de alta frecuencia del campo hasta que ganan energía suficiente para excitar a los átomos del metal cuyo espectro se busca.

Las lámparas de descarga sin electrodos están disponibles comercialmente para quince o más elementos. Su rendimiento no es tan confiable como el de la lámpara de cátodo hueco, pero para elementos como Se, As, Cd y Sb estas lámparas poseen mejores límites de detección que las de cátodo hueco.¹⁵ Esto ocurre porque las lámparas de descarga sin electrodos para los mencionados elementos tienen más intensidad que las lámparas de cátodo hueco correspondientes y, por tanto, son bastante útiles para identificar tales elementos. La figura 9.12 es un esquema de una lámpara de

descarga sin electrodos comercial, cuya potencia proviene de una fuente de radiofrecuencia de 27 MHz.

Modulación de la fuente

En el instrumento de absorción atómica común es necesario eliminar interferencias causadas por la emisión de radiación mediante la llama. La mayor parte de la radiación emitida es, por supuesto, eliminada por el monocromador. Sin embargo, la radiación emitida que corresponde en longitud de onda al ajuste del monocromador está presente de modo inevitable en la llama debido a la excitación y emisión de átomos de analito y a especies gaseosas presentes en la llama. Para eliminar los efectos de la emisión de llama es necesario modular la salida de la fuente para que su intensidad fluctúe a una frecuencia constante. El detector recibe entonces dos tipos de señal, una alterna de la fuente y una continua de la llama. Estas señales se convierten en los tipos correspondientes de respuesta eléctrica. Un filtro RC pasaaltas simple (sección 2B.5) se puede usar entonces para eliminar la señal de cd no modulada y pasar la señal de ca para su amplificación.

Una forma simple y completamente satisfactoria de modular la emisión de la fuente es interponer un disco metálico circular, o cortador, en el haz entre la fuente y la llama. El disco cortador y los cortadores de aspas giratorias son comunes (figura 5.7a y b). La rotación del disco o aspa a una velocidad constante conocida proporciona un haz que es cortado a la frecuencia deseada. Otros tipos de moduladores electromecánicos son los diapasones con aspas para bloquear y transmitir el haz de manera alternada (véase figura 5.7c) y dispositivos que hacen girar un aspa por un arco fijo para efectuar la misma función.¹⁶ Como otra opción, el suministro de potencia para la fuente se puede diseñar para que opere de manera intermitente o de ca, de modo que la fuente se encienda y apague a la frecuencia constante deseada.

¹³J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 310, Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988.

¹⁴Véase W. B. Barnett, J. W. Vollmer y S. M. DeNuzzo, *At. Absorption Newsletter*, 1976, 15, p. 33.

¹⁵E. Davenport, *Amer. Lab. News*, 1999, 31 (5), p. 101S.

¹⁶J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 44, Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988.

9B.2 Espectrofotómetros

Numerosos fabricantes ofrecen los instrumentos para medidas de absorción atómica; están disponibles diseños de uno y dos haces. La variedad de complejidad y costo (más que algunos miles de dólares) es sustancial.

En general, el instrumento debe ser capaz de producir un ancho de banda lo suficientemente estrecho para separar la línea que se ha elegido para realizar la medición de otras líneas que podrían interferir o disminuir la sensibilidad de la determinación. Un filtro de vidrio es suficiente para algunos metales alcalinos que tienen sólo unas cuantas líneas de resonancia muy separadas en la región visible. Un instrumento equipado con filtros de interferencia que se intercambian con facilidad ya está en el comercio. Para cada elemento se usan un filtro separado y una fuente de luz. Se afirma que se han obtenido resultados satisfactorios para la

identificación de 22 metales. Sin embargo, la mayor parte de los instrumentos contienen monocromadores ultravioleta-visible de buena calidad, muchos de los cuales son capaces de lograr un ancho de banda del orden de $1 \text{ \AA}$.

La mayor parte de los instrumentos de absorción atómica usan tubos fotomultiplicadores, que se describen en la sección 7E.2, como transductores. Como se señaló antes, se requieren sistemas electrónicos que sean capaces de discriminar entre la señal modulada de la fuente y la señal continua de la llama. La mayor parte de los instrumentos que hay ahora en el mercado están equipados con sistemas computarizados que controlan los parámetros del instrumento y manejan los datos.

Instrumentos de un solo haz

Un instrumento de un solo haz, como el que se muestra en la figura 9.13a, consta de varias fuentes de cátodo hueco (sólo se muestra uno), un cortador o un suministro de potencia por pulsos, un atomizador y

 **Ejercicio:** aprenda más acerca de los **espectrofotómetros de un solo haz y de doble haz.**

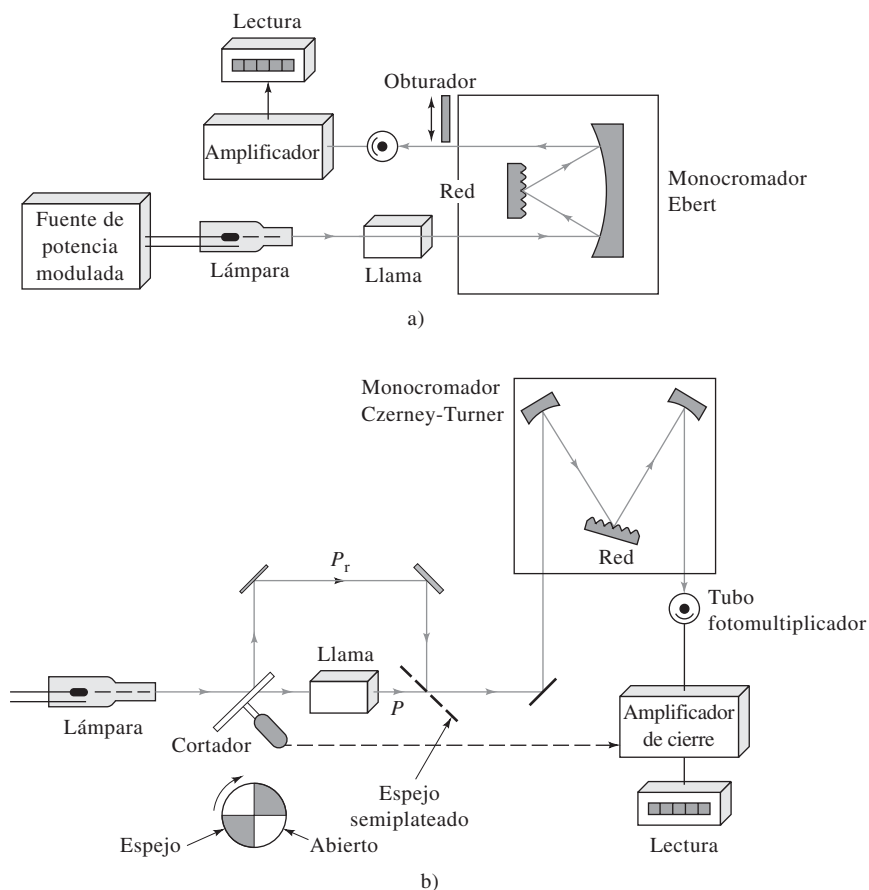


FIGURA 9.13 Espectrómetros de llama típicos: a) diseño de un solo haz y b) diseño de doble haz.

un espectrofotómetro de rejilla simple con un transductor fotomultiplicador. Se usa de la manera que se describe en la sección 6D.2. Así, la corriente oscura se anula con un obturador enfrente del transductor. El ajuste de transmitancia de 100% se hace entonces mientras se aspira un blanco en la llama o se quema en un atomizador sin llama. Por último, la transmitancia se obtiene con la muestra en lugar del blanco.

Instrumentos de doble haz

La figura 9.13b es un esquema de un instrumento en tiempo de doble haz. El haz que sale de la fuente de cátodo hueco se divide mediante un cortador reflectante, una mitad pasa por la llama y la otra la rodea. Los dos haces se recombinan después mediante un espejo semiplatado y pasan a un monocromador de red de Czerny-Turner; un tubo fotomultiplicador hace las veces del transductor. La salida de este último es la entrada a un amplificador de cierre que se sincroniza con el movimiento del cortador. La relación entre la referencia y la señal de la muestra se amplifica y alimenta al dispositivo de lectura, que puede ser un medidor digital o una computadora.

Se debe notar que el haz de referencia en los instrumentos de doble haz atómicos no pasa por la llama y, por consiguiente, no corrige la pérdida de potencia radiante debida a la absorción o la dispersión por la llama. En la siguiente sección se analizan los métodos para corregir estas pérdidas.

9C INTERFERENCIAS EN ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

En los métodos de absorción atómica se encuentran interferencias de dos tipos. Las interferencias espectrales surgen cuando la absorción o emisión de una especie se traslapa o está tan cerca de la absorción o emisión del analito que se vuelve imposible la resolución mediante el monocromador. Las interferencias químicas resultan de varios procesos químicos que ocurren durante la atomización y que alteran las características de absorción del analito.

9C.1 Interferencias espectrales

Debido a que las líneas de emisión de las fuentes de cátodo hueco son muy estrechas, la interferencia como resultado del traslape de líneas es rara. Para que ocurra tal interferencia, la separación entre las dos líneas tendría que ser menor que 0.1 Å. Por ejemplo, una línea de vanadio a 3082.11 Å interfiere en la determinación de aluminio con base en su línea de absorción a

3082.15 Å. No obstante, la interferencia se evita en forma sencilla si se observa en cambio la línea del aluminio a 3092.7 Å.

Las interferencias espectrales son resultado también de la presencia de productos de combustión que exhiben absorción de banda ancha o de partículas que dispersan la radiación. Ambos reducen la potencia del haz transmitido y originan errores analíticos positivos. Cuando la fuente de estos productos son el combustible y la mezcla oxidante por sí solos, los datos analíticos se pueden corregir haciendo medidas de absorción mientras se aspira un blanco en la llama. Tenga en cuenta que esta corrección se debe usar con instrumentos de uno y dos haces debido a que el haz de referencia de un instrumento de doble haz no pasa por la llama (véase figura 9.13b).

Un problema mucho mayor ocurre cuando la fuente de absorción o dispersión se origina en la matriz de la muestra. En este caso, la potencia del haz transmitido P es reducida por los componentes de la matriz, pero no la potencia P_0 del haz incidente; así, resulta un error positivo de absorbancia y concentración. Un ejemplo de una posible interferencia de matriz debida a la absorción ocurre en la determinación de bario en mezclas alcalinotérreas. Como se ilustra mediante la línea continua de la figura 8.8, la longitud de onda de la línea del bario que se usa para el análisis de absorción atómica aparece en el centro de una banda de absorción amplia para CaOH. Por tanto, se prevé que el calcio interferirá en la determinación de bario, pero el efecto se elimina con facilidad sustituyendo el óxido nítrico por aire como oxidante. La mayor temperatura de la llama del óxido nítrico descompone al CaOH y elimina la banda de absorción.

La interferencia espectral causada por la dispersión de productos de atomización se encuentra con mayor frecuencia cuando se aspiran en la llama soluciones concentradas que contienen elementos como Ti, Zr y W, que forman óxidos refractarios. Al parecer, se forman partículas de óxidos metálicos con diámetros mayores que la longitud de onda de la luz, y resulta la difusión del haz incidente.

La interferencia causada por la difusión puede ser un problema cuando la muestra contiene especies orgánicas o cuando se emplean disolventes orgánicos para disolver la muestra. Aquí, la combustión incompleta de la matriz orgánica deja partículas carbonosas, que son capaces de dispersar la luz.

Por fortuna, con la atomización de llama son escasas las interferencias espectrales por productos matriciales y, con frecuencia, se pueden evitar mediante cambios en las variables analíticas, como la temperatura de

la llama y la relación entre combustible y oxidante. Por otro lado, si se conoce el origen de la interferencia, se puede añadir un exceso de sustancia interferente a la muestra y a los estándares. Siempre que el exceso añadido a la muestra estándar sea grande respecto a la concentración de la matriz de la muestra, la contribución de la matriz será insignificante. La sustancia añadida se llama a veces *amortiguador de radiación*. El método de las adiciones estándar se puede usar favorablemente en algunos casos.

En los primeros días de la atomización electrotérmica los problemas de interferencia de matriz fueron graves. Con adelantos técnicos como el desarrollo de nuevos materiales de grafito de alta calidad, la instrumentación fotométrica rápida y la corrección de fondo Zeeman, los problemas de interferencia de matriz han disminuido hasta el nivel que se encuentra con las llamas.¹⁷ Se han perfeccionado varios métodos para corregir las interferencias espectrales causadas por productos de la matriz.¹⁸

Método de corrección de dos líneas

El procedimiento de corrección de dos líneas usa una línea de la fuente como referencia. Ésta debe estar lo más cerca posible del analito pero no debe ser absorbida por él. Si se cumplen estas condiciones, se supone que cualquier disminución de potencia de la línea de referencia respecto a la que se observó durante la calibración surge de la absorción o dispersión de los productos matriciales de la muestra. Esta disminución de potencia se usa entonces para corregir la absorbancia de la línea del analito.

La línea de referencia puede ser de una impureza en el cátodo hueco, una línea de neón o argón del gas contenido en la lámpara o una línea de emisión no resonante del elemento que está siendo identificado. Por desgracia, con frecuencia no está disponible una línea de referencia adecuada.

Método de corrección de fuente continua

En la figura 9.14 se ilustra un segundo método para las correcciones de fondo que se usa ampliamente. En esta técnica, una lámpara de deuterio proporciona una fuente de radiación continua a través de la región ultravioleta. La configuración del cortador es tal que la radiación de la fuente continua y la lámpara de cátodo hueco pasan de manera alternada por el atomizador

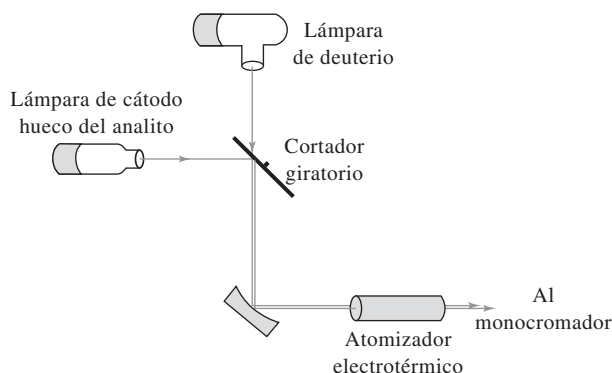


FIGURA 9.14 Esquema de un sistema de corrección de fondo de fuente continua. Note que el cortador se puede eliminar si se pulsa de manera alternada cada lámpara.

electrotérmico. La absorbancia de la radiación de deuterio se sustrae entonces de la del haz del analito. El ancho de la rendija se mantiene lo suficientemente amplio para que la fracción de la fuente continua que es absorbida por los átomos de la muestra sea insignificante. Por tanto, la atenuación de la fuente continua a medida que pasa por la muestra atomizada refleja sólo la absorción de banda ancha o la dispersión por los componentes de la matriz de la muestra. Así, se logra una corrección de fondo.

Desafortunadamente, aunque la mayor parte de los fabricantes de instrumentos ofrecen sistemas de corrección de fondo de fuente continua, su desempeño es con frecuencia menor que el ideal, lo que da lugar a incorrección en algunos sistemas y una corrección excesiva en otros. Una de las fuentes de error es la degradación inevitable de la relación señal-ruido que acompaña la adición del sistema de corrección. Otra es que los medios gaseosos por lo común no son homogéneos tanto en composición química como en distribución de partículas; así, si las dos lámparas no están bien alineadas, resultará una corrección errónea que puede causar un error positivo o negativo. Por último, la salida radiante de la lámpara de deuterio en la región visible es suficientemente baja para imposibilitar el uso de este procedimiento de corrección para longitudes de onda de más de 350 nm.

Corrección de fondo basada en el efecto Zeeman

Cuando un vapor atómico se expone a un campo magnético fuerte (~ 10 kG), tiene lugar una división de niveles de energía electrónicos que da lugar a la formación de varias líneas de absorción para cada transición electrónica. Dichas líneas están separadas entre sí por alrededor de 0.01 nm, la suma de las absorbancias

¹⁷ Véase W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 590A.

¹⁸ Para una comparación de los distintos métodos para la corrección de fondo, véase D. J. Butcher y J. Sneddon, *A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1998, pp. 84-89.

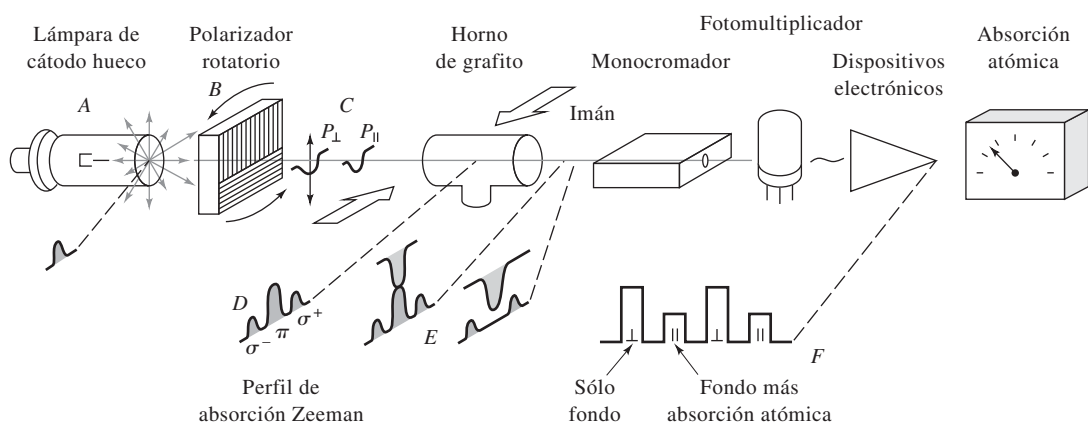


FIGURA 9.15 Esquema de un instrumento de absorción atómica electrotérmico que proporciona una corrección de fondo con base en el efecto Zeeman. (Cortesía de Hitachi Scientific Instruments, Mountain View, CA.)

de tales líneas es exactamente igual a la absorbancia de la línea original de la cual se formaron. Este fenómeno, que se denomina efecto Zeeman,¹⁹ es general para todos los espectros atómicos. Dependiendo del tipo de transición electrónica que tiene lugar en el proceso de absorción surgen varios patrones de división. El más sencillo de ellos, que se observa con las transiciones simples (sección 8A.1), origina una línea central o π , y dos líneas σ satélite con separaciones iguales. La línea central, que está a la longitud de onda original, tiene una absorbancia que es dos veces la de cada línea σ . Para transiciones más complejas, las líneas π y σ se dividen más.

La aplicación del efecto Zeeman a instrumentos de absorción atómica se basa en la diferencia de respuesta de los dos tipos de líneas de absorción a la radiación polarizada. La línea π absorbe sólo la radiación que se polariza en el plano en una dirección paralela al campo magnético externo; las líneas σ en contraste, absorben sólo radiación polarizada a 90° respecto al campo.

En la figura 9.15 se muestran detalles de un instrumento de absorción atómica electrotérmico, que usa el efecto Zeeman para la corrección de fondo. La radiación no polarizada que proviene de una fuente de cátodo hueco ordinaria A se pasa por un polarizador rotatorio B, el cual separa el haz en dos componentes que están polarizados en el plano a 90° entre sí en C. Estos haces pasan a un horno de grafito tipo tubo similar al que se observa en la figura 9.6a. Un imán permanente de 11 kG rodea al horno y divide los niveles

de energía en los tres picos de absorción que se muestran en D. Note que el pico central absorbe sólo radiación que es polarizada en el plano con el campo. Durante esa parte del ciclo, cuando la fuente de radiación se polariza de manera similar, tiene lugar la absorción de radiación por el analito. Durante la otra parte del ciclo, no puede ocurrir absorción del analito. La absorción molecular de banda ancha y la dispersión por los productos de la matriz ocurren durante ambos semiciclos, lo que origina el patrón de absorbancia cíclico que se observa en F. El sistema de adquisición de datos se programa para restar la absorbancia durante el semiciclo perpendicular de la del semiciclo paralelo, de modo que se obtiene un valor de fondo corregido.

Se ha diseñado un segundo tipo de instrumento de efecto Zeeman en el cual un imán rodea a la fuente de cátodo hueco. Aquí, el espectro de emisión de la fuente es el que se divide y no el espectro de absorción de la muestra. La configuración del instrumento proporciona una corrección análoga. Hasta la fecha, la mayor parte de los instrumentos son del tipo que se ilustra en la figura 9.15.

Los instrumentos de efecto Zeeman proveen una corrección más exacta para el fondo que los métodos descritos antes. Estos instrumentos son útiles sobre todo para los atomizadores electrotérmicos y permiten la determinación directa de elementos en muestras de orina y sangre. La descomposición del material orgánico en estas muestras conduce a grandes correcciones de fondo (fondo $A > 1$) y, como resultado, a una propensión al error significativa.

¹⁹Para una descripción detallada de la aplicación del efecto Zeeman a la absorción atómica, véase D. J. Butcher y J. Sneddon, *A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1998, pp. 73-84; F. J. Fernandez, S. A. Myers y W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, p. 741; S. D. Brown, *Anal. Chem.*, **1977**, 49 (14), p. 1269A.



Clase interactiva: aprenda más acerca del **efecto Zeeman**.

Corrección de fondo basada en la autoinversión de la fuente

Al parecer, un medio muy simple de corrección de fondo ofrece la mayor parte de las ventajas de un instrumento de efecto Zeeman.²⁰ Este método, que a veces se llama método de corrección de fondo de Smith-Hieftje, se basa en el comportamiento de autoinversión o autoabsorción de la radiación emitida por las lámparas de cátodo hueco cuando funcionan a corrientes altas. Como se mencionó antes, las corrientes altas producen grandes concentraciones de átomos no excitados que son capaces de absorber la radiación producida por especies excitadas. Un efecto adicional de las corrientes altas es ensanchar de modo significativo la línea de emisión de las especies excitadas. El efecto neto es producir una línea que tiene un mínimo en su centro, que corresponde exactamente en longitud de onda a la del pico de absorción (véase figura 9.16).

Para obtener las absorbancias corregidas, se programa la lámpara para trabajar de manera alternada con corrientes bajas y altas. La absorbancia total se obtiene durante la operación a baja corriente y la absorbancia de fondo se proporciona mediante mediciones durante la segunda parte del ciclo cuando la radiación en el pico de absorción está en un mínimo. El sistema de adquisición de datos resta entonces la absorbancia de fondo del total para dar un valor corregido. La recuperación de la fuente a su salida de baja corriente se lleva a cabo en milisegundos cuando se reduce la corriente. El ciclo de medición se puede repetir con suficiente frecuencia para dar relaciones señal-ruido satisfactorias. El equipo para este tipo de corrección está disponible en el comercio.

9C.2 Interferencias químicas

Las interferencias químicas son más comunes que las espectrales. Sus efectos se pueden reducir con frecuencia mediante una elección adecuada de las condiciones de operación.

Tanto la evidencia teórica como la experimental hacen pensar que muchos de los procesos que ocurren en el manto de la llama están en equilibrio aproximado. Por tanto, es posible considerar los gases quemados como un medio disolvente al que se le pueden aplicar cálculos termodinámicos. Los equilibrios de interés principal incluyen la formación de compuestos de baja volatilidad, reacciones de disociación y ionización.

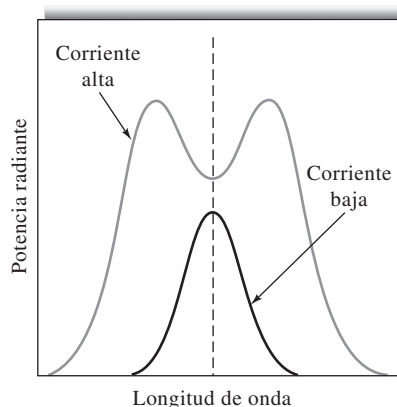


FIGURA 9.16 Perfiles de líneas de emisión para una lámpara de cátodo hueco a corrientes altas y bajas.

Formación de compuestos de baja volatilidad

Quizá el tipo más común de interferencia es la de los aniones que forman compuestos de baja volatilidad con el analito y, por tanto, reducen la fracción de éste que es atomizada. La consecuencia son bajos resultados. Un ejemplo es la disminución en la absorbancia del calcio que se observa con las concentraciones crecientes de sulfato o fosfato. Estos aniones forman compuestos con el calcio que son difíciles de volatilizar. Por ejemplo, a una concentración fija de calcio, la absorbancia disminuye casi linealmente con el aumento de las concentraciones de sulfato o fosfato hasta que la relación entre anión y calcio es de alrededor de 0.5; la absorbancia se estabiliza en casi 30% a 50% de su valor original y se vuelve independiente de la concentración del anión.

Se ha observado también la interferencia del catión. Por ejemplo, el aluminio causa bajos resultados en la determinación de magnesio, en apariencia como resultado de la formación de un compuesto de aluminio-magnesio estable a pesar de la presencia de calor (quizá un óxido).

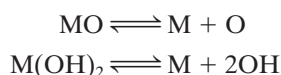
Con frecuencia las interferencias causadas por la formación de especies de baja volatilidad pueden ser eliminadas o moderadas mediante el uso de temperaturas más altas. Como alternativa, se pueden usar *agentes liberadores*, que son cationes que reaccionan de preferencia con el interferente y evitan su interacción con el analito. Por ejemplo, la adición de un exceso de ion estroncio o lantano reduce la interferencia del fosfato en la determinación de calcio. Las mismas dos especies han sido usadas como agentes liberadores para la determinación de magnesio en presencia de aluminio. En ambos casos, el estroncio o lantano reemplaza al analito en el compuesto formado con la especie interferente.

²⁰ Véase S. B. Smith Jr. y G. M. Hieftje, *Appl. Spectrosc.*, **1983**, 37, p. 419; *Science*, **1983**, 220, p. 183.

Los *agentes protectores* evitan la interferencia formando especies volátiles pero estables con el analito. Tres reactivos comunes para este propósito son el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), 8-hidroxiquinolina y APCD, que es la sal de amonio del ácido 1-pirrolidinacarboditioico. Se ha demostrado que la presencia de EDTA elimina la interferencia de aluminio, silicio, fosfato y sulfato en la determinación de calcio. De manera similar, la 8-hidroxiquinolina suprime la interferencia del aluminio en la determinación de calcio y magnesio.

Equilibrios de disociación

En el ambiente gaseoso, caliente, de una llama o un horno, numerosas reacciones de disociación y asociación conducen a la conversión de constituyentes metálicos en el estado elemental. Parece probable que por lo menos algunas de estas reacciones sean reversibles y puedan ser tratadas por las leyes de la termodinámica. Así, debe ser posible formular equilibrios como

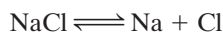


donde M es el átomo del analito y OH es el radical hidroxilo.

En la práctica no se sabe lo suficiente acerca de la naturaleza de las reacciones químicas en una llama para permitir un tratamiento cuantitativo como en una solución acuosa. En cambio, se debe confiar en las observaciones empíricas.

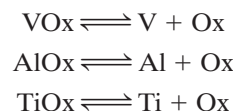
Las reacciones de disociación en las que intervienen óxidos metálicos e hidróxidos desempeñan un papel importante en la determinación de la naturaleza de los espectros de emisión o absorción para un elemento. Por ejemplo, los óxidos alcalinos son relativamente estables, con energías de disociación superiores a 5 eV. Las bandas moleculares surgen de la presencia de óxidos metálicos o hidróxidos en la llama, así que constituyen una característica sobresaliente de sus espectros (véase figura 8.8). Excepto a temperaturas muy altas, estas bandas son más intensas que las líneas para los átomos o iones. En contraste, los óxidos e hidróxidos de los metales alcalinos se disocian con mucho más facilidad, de modo que las intensidades de línea para estos elementos son altas, incluso a temperaturas relativamente bajas.

Los equilibrios de disociación en los que participan aniones distintos al oxígeno pueden afectar también la emisión y absorción de llama. Por ejemplo, la intensidad de línea para el sodio es reducida notablemente por la presencia de HCl. Una explicación probable es el efecto de acción de masas en el equilibrio



Los átomos de cloro formados a partir del HCl añadido disminuyen la concentración de sodio atómico y, por consiguiente, bajan la intensidad de la línea.

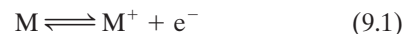
Otro ejemplo de este tipo de interferencia tiene que ver con el incremento de la absorción de vanadio cuando está presente el aluminio o el titanio. La interferencia es significativamente más pronunciada en las llamas ricas en combustible que en las pobres. Estos efectos se pueden explicar si se supone que los tres metales interactúan con especies como O y OH, que están presentes siempre en las llamas. Si a las especies que contienen oxígeno se les asigna la fórmula general Ox, se puede postular una serie de reacciones de equilibrio. Así,



En las mezclas de combustión ricas en combustible, la concentración de Ox es tan pequeña que se reduce de manera significativa cuando el aluminio o el titanio está presente en la muestra. Esta disminución causa que el primer equilibrio se desplace a la derecha con un incremento correspondiente en la concentración de vanadio y en la absorbancia. Por otro lado, en mezclas pobres la concentración de Ox es en apariencia alta en relación con la concentración total de los átomos metálicos. En este caso, la adición de aluminio o titanio apenas cambia la concentración de Ox, y la posición del primer equilibrio permanece relativamente sin cambio. Por tanto, la posición del primer equilibrio no se altera de modo significativo.

Equilibrios de ionización

La ionización de átomos y moléculas es pequeña en mezclas de combustión en las que el aire es el oxidante, y con frecuencia se puede pasar por alto. En llamas de temperatura más alta en las que el oxígeno o el óxido nitroso sirve como oxidante, la ionización se vuelve importante, y hay una concentración significativa de electrones libres producidos por el equilibrio



donde M representa un átomo neutro o molécula y M^+ es su ion. Se centrará la atención en equilibrios en los que M es un átomo metálico.

La constante de equilibrio K para esta reacción toma la forma

$$K = \frac{[\text{M}^+][\text{e}^-]}{[\text{M}]} \quad (9.2)$$

TABLA 9.2 Grado de ionización de metales a temperaturas de llama.

Elemento	Potencial de ionización, eV	Fracción ionizada a la presión y temperatura indicadas			
		$P = 10^{-4}$ atm		$P = 10^{-6}$ atm	
		2000 K	3500 K	2000 K	3500 K
Cs	3.893	0.01	0.86	0.11	>0.99
Rb	4.176	0.004	0.74	0.04	>0.99
K	4.339	0.003	0.66	0.03	0.99
Na	5.138	0.0003	0.26	0.003	0.90
Li	5.390	0.0001	0.18	0.001	0.82
Ba	5.210	0.0006	0.41	0.006	0.95
Sr	5.692	0.0001	0.21	0.001	0.87
Ca	6.111	3×10^{-5}	0.11	0.0003	0.67
Mg	7.644	4×10^{-7}	0.01	4×10^{-6}	0.09

Datos de B. L. Vallee y R. E. Thiers, en *Treatise on Analytical Chemistry*, I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds., parte I, vol. 6, p. 3500, Nueva York: Interscience, 1965. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.

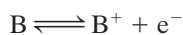
Si ninguna otra fuente de electrones está presente en la llama, esta ecuación se puede escribir en la forma

$$K = \left(\frac{\alpha^2}{1 - \alpha} \right) P$$

donde α es la fracción de M que se ioniza y P es la presión parcial del metal en el solvente gaseoso antes de la ionización.

En la tabla 9.2 se muestra la fracción calculada ionizada para varios metales comunes en condiciones aproximadas a las que se usan en la espectroscopía de emisión de llama. Las temperaturas corresponden aproximadamente a condiciones que existen en llamas de aire-acetileno y oxígeno-acetileno, respectivamente.

Es importante apreciar que el tratamiento del proceso de ionización como un equilibrio, con los electrones libres como uno de los productos, implica de inmediato que el grado de ionización de un metal se verá afectado fuertemente por la presencia de otros metales ionizables en la llama. Entonces, si el medio contiene no sólo la especie M sino también la especie B, y si B se ioniza de acuerdo con la ecuación



entonces el grado de ionización de M se reducirá por el efecto de acción de masas de los electrones formados a partir de B. La determinación del grado de ionización en estas condiciones requiere un cálculo con la constante de disociación para B y la expresión del balance de masa

$$[e^-] = [B^+] + [M^+]$$

Los equilibrios átomo-ion en las llamas dan lugar a varias consecuencias importantes en la espectroscopía de llama. Por ejemplo, las intensidades de las líneas de emisión o absorción atómicas para metales alcalinos, en particular el potasio, rubidio y cesio, son afectadas por la temperatura de una manera compleja. Las temperaturas cada vez mayores causan un incremento en la población de átomos excitados, de acuerdo con la relación de Boltzmann (ecuación 8.1). Sin embargo, contrarrestar este efecto es una reducción de la concentración de átomos que resultan de la ionización. Así, en algunas circunstancias se podría observar una disminución en la emisión o absorción en llamas más calientes. Es por esta razón que las temperaturas de excitación más bajas se especifican por lo general para la identificación de metales alcalinos.

Los efectos de los desplazamientos en los equilibrios de ionización se pueden eliminar normalmente mediante la adición de un *supresor de ionización*, el cual proporciona una concentración relativamente alta de electrones a la llama; el resultado es la supresión de la ionización del analito. El efecto de un supresor aparece en las curvas de calibración para el estroncio que se muestra en la figura 9.17. Observe el importante incremento en la pendiente de estas curvas cuando se reprime la ionización del estroncio por el aumento de la concentración de iones potasio y electrones. Note también la mayor sensibilidad producida al usar óxido nitroso en lugar de aire como oxidante. La temperatura más alta lograda con el óxido nitroso incrementa sin duda el grado de descomposición y volatilización de los compuestos de estroncio en el plasma.

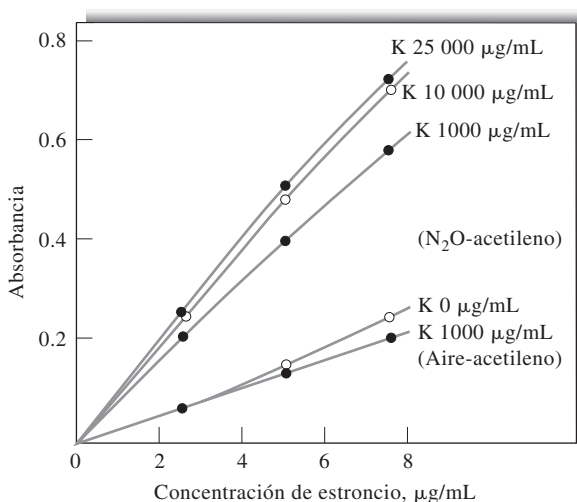


FIGURA 9.17 Efecto de la concentración de potasio en la curva de calibración para el estroncio. (Reimpreso con permiso de J. A. Bowman y J. B. Willis, *Anal. Chem.*, 1967, 39, p. 1220. Copyright 1967 American Chemical Society.)

9D TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Esta sección trata algunos de los detalles prácticos que se deben considerar en el análisis de absorción atómica de llama o electrotérmico.

9D.1 Preparación de la muestra

Una desventaja de los métodos espectroscópicos de llama es el requisito de que la muestra debe ser introducida en la fuente de excitación en la forma de una solución, por lo común acuosa. Desafortunadamente, muchos materiales de interés, como suelos, tejidos animales, plantas, productos del petróleo y minerales no se pueden disolver directamente en solventes comunes y con frecuencia se requiere de un tratamiento preliminar extenso para obtener una disolución del analito en una forma idónea para la atomización. De hecho, los pasos de descomposición y disolución son a menudo tardados e introducen más error que la medida espectroscópica misma.

La descomposición de materiales como los recién citados requiere por lo común de un tratamiento riguroso de la muestra a temperaturas altas acompañado por el riesgo de perder el analito por volatilización o como partículas en humo. Además, los reactivos que se usan para descomponer una muestra introducen a menudo las clases de interferencias químicas y espectrales

que se estudiaron antes. Además, el analito puede estar presente en estos reactivos como una impureza. De hecho, a menos que se tenga cuidado considerable, no es poco común encontrar en los análisis de trazas que los reactivos son una fuente más grande del analito que las muestras, una situación que puede conducir a error grave incluso con correcciones de blanco.

Algunos de los métodos comunes que se usan para descomponer y disolver muestras para métodos de absorción atómica incluyen el tratamiento con ácidos minerales calientes; oxidación con reactivos líquidos, como ácido sulfúrico, nítrico o perclórico (digestión húmeda); combustión en una bomba de oxígeno u otro recipiente cerrado para evitar pérdida de analito, digestión a una temperatura alta, y fusión a temperatura alta con reactivos como óxido bórico, carbonato de sodio, peróxido de sodio o piro sulfato de potasio.²¹

Una de las ventajas de la atomización electrotérmica es que algunos materiales se pueden atomizar directamente, evitando así el paso de disolución. Por ejemplo, las muestras líquidas como sangre, productos del petróleo y disolventes orgánicos se pueden colocar con una pipeta directamente en el horno para su calcinación y atomización. Las muestras sólidas, como hojas de plantas, tejidos animales y algunas sustancias orgánicas se pueden pesar directamente en atomizadores tipo taza o en botes de tántalo para introducirlos en hornos tipo tubo. Sin embargo, la calibración es por lo general difícil y requiere estándares que se aproximan a la muestra en composición.

9D.2 Introducción de la muestra mediante inyección de flujo

En la sección 33B se describen los métodos y la instrumentación para el análisis de inyección de flujo (FIA, por sus siglas en inglés). La metodología de FIA sirve como un medio excelente para introducir muestras en un espectrómetro de absorción atómica de llama. También se podría pensar en un espectrómetro de absorción atómica como un detector útil para un sistema de análisis de inyección en flujo. Desde cualquier perspectiva, la bomba peristáltica y los sistemas de válvulas del análisis de inyección de flujo que se describen en el capítulo 33 son un medio conveniente para tomar muestras de soluciones de analito de modo reproducible y eficiente, en particular cuando es importante conservar la muestra. La corriente portadora del sistema de análisis de inyección de flujo que consiste de agua desionizada o un electrolito diluido proporcio-



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **espectroscopía de absorción atómica**.

²¹ B. Kebbekus en *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, S. Mitra, ed., Nueva York: Wiley, 2003; R. Bock, *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1979.

na una descarga continua del atomizador de llama, lo cual es particularmente ventajoso para muestras que contienen concentraciones altas de sales o sólidos suspendidos.

9D.3 Solventes orgánicos

A principios del desarrollo de la espectroscopía de absorción atómica se reconoció que se podrían obtener absorbancias incrementadas si las soluciones contenían alcoholes de bajo peso molecular, ésteres o cetonas. El efecto de los disolventes orgánicos es atribuible en gran medida a la eficiencia incrementada del nebulizador; la tensión superficial menor de tales soluciones da como resultado tamaños de gota más pequeños y un incremento en la cantidad de muestra que llega a la llama. Además, la evaporación más rápida del disolvente podría contribuir al efecto. Las relaciones combustible-oxidante más pobres se deben usar con disolventes orgánicos para compensar la presencia del material orgánico añadido. Por desgracia, la mezcla más pobre produce menores temperaturas de llama y una mayor posibilidad de interferencias químicas.

Una aplicación analítica más importante de los solventes orgánicos para la espectroscopía de llama es el uso de disolventes inmiscibles como la metil isobutil cetona para extraer quelatos de iones metálicos. El extracto resultante se nebuliza entonces directamente en la llama. Aquí, la sensibilidad se incrementa no sólo por el mejoramiento de las líneas de absorción debido al solvente, sino también porque para muchos sistemas se requieren sólo volúmenes pequeños del líquido orgánico para eliminar de modo cuantitativo iones metálicos de volúmenes relativamente grandes de solución acuosa. Este procedimiento tiene la ventaja adicional de que por lo menos parte de los componentes de la matriz tiene probabilidades de permanecer en el solvente acuoso; con frecuencia resulta una reducción de interferencia. Los agentes quelantes comunes son pirrolidinaditiocarbamato de amonio, difeniltiocarbazona (ditizona), 8-hidroxiquinolina y acetilacetona.

9D.4 Curvas de calibración

En teoría, la absorción atómica debe seguir la ley de Beer (ecuación 6.34) con la absorbancia directamente proporcional a la concentración. Desafortunadamente, con frecuencia las curvas de calibración no son lineales, así que es contraproducente realizar un análisis de absorción atómica sin confirmar en forma experimental la linealidad de la respuesta del instrumento. Así, una curva de calibración que abarca el intervalo de concentraciones que se encuentran en la muestra debe ser preparada en forma periódica. Además, el número

de variables no controladas en las mediciones de atomización y absorbancia es lo suficientemente grande para garantizar la medida de una solución estándar cada vez que se lleva a cabo un análisis. Incluso es mejor usar dos estándares que abarquen la concentración del analito. Cualquier desviación del estándar respecto a la curva de calibración original se puede usar para corregir el resultado analítico.

9D.5 Método de adiciones estándar

El método de las adiciones estándar que se describió en la sección 1D.3, se usa ampliamente en la espectroscopía de absorción atómica para compensar de forma parcial o completa las interferencias químicas o espectrales introducidas por la matriz de la muestra.

9D.6 Aplicaciones de espectrometría de absorción atómica

La espectrometría de absorción atómica es un medio sensible para la identificación cuantitativa de más de sesenta metales o elementos metaloides. Las líneas de resonancia para los elementos no metálicos se localizan por lo general a longitudes de onda más cortas que 200 nm, de modo que se evita su determinación mediante espectrofotómetros convenientes, sin vacío.

Límites de detección

Las columnas dos y tres de la tabla 9.3 presentan los límites de detección para varios elementos comunes mediante absorción atómica de llama y electrotérmica. Se incluyen también para comparación los límites de detección para algunos de los otros procedimientos atómicos. Diferencias pequeñas entre los valores citados no son importantes. Así, un orden de magnitud quizá sea significativo, pero factor de 2 o 3 no lo es.

Para muchos elementos, los límites de detección para espectroscopía de absorción atómica con atomización de llama están en el intervalo de 1 a 20 ng/mL, o 0.001 a 0.020 ppm; para la atomización electrotérmica, las cifras son 0.002 a 0.01 ng/mL, o 2×10^{-6} a 1×10^{-5} ppm. En algunos casos se encuentran límites de detección fuera de estos intervalos.

Exactitud

En las condiciones usuales, el error relativo relacionado con un análisis de absorción atómica de llama es del orden de 1% a 2%. Con precauciones especiales, esta cifra se puede reducir a algunas décimas de por ciento. Los errores que se encuentran con la atomización electrotérmica exceden por lo regular los de la atomización de llama por un factor de 5 a 10.

TABLA 9.3 Límites de detección (ng/mL)^a para elementos seleccionados.

Ele- mento	Llama en AAS	AAS Electro- térmica	Llama de AES	AES ICP	Llama de AFS
Al	30	0.1	5	0.2	5
As	200	0.5	—	2	15
Ca	1	0.25	0.1	0.0001	0.4
Cd	1	0.01	2000	0.07	0.1
Cr	4	0.03	5	0.08	0.6
Cu	2	0.05	10	0.04	0.2
Fe	6	0.25	50	0.09	0.3
Hg	500	5	—	—	5
Mg	0.2	0.002	5	0.003	0.3
Mn	2	0.01	—	0.01	1
Mo	5	0.5	100	0.2	8
Na	0.2	0.02	0.1	0.1	0.3
Ni	3	0.5	600	0.2	0.4
Pb	8	0.1	200	1	5
Sn	15	5	300	—	200
V	25	1	200	0.06	25
Zn	1	0.005	50 000	0.1	0.1

Tomado de J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 250-251, 300, 321, Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988.

Nota: fuente de excitación de lámpara de cátodo hueco con pulsaciones con atomización de ICP.

^a1 ng/mL = 10⁻³ µg/mL = 10⁻³ ppm.

AAS = espectroscopía de absorción atómica; AES = espectroscopía de emisión atómica; AFS = espectroscopía de fluorescencia atómica; ICP = plasma acoplado de manera inductiva.

9E ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA ATÓMICA

Durante años se ha dedicado esfuerzo de investigación importante al desarrollo de métodos analíticos basados en la fluorescencia atómica.²² Este trabajo ha demostrado de manera clara que la espectroscopía de fluorescencia atómica proporciona un medio útil y conveniente para la identificación cuantitativa de un número razonablemente grande de elementos. Sin em-

bargo, a la fecha, el procedimiento no ha encontrado uso amplio debido a los éxitos aplastantes de la emisión atómica y, en especial, de los métodos de absorción atómica, que fueron desarrollados más de diez años antes que la fluorescencia atómica. Como se mencionó antes, estos éxitos han conducido a la disponibilidad de instrumentos de absorción y emisión de numerosas fuentes comerciales. En años recientes, diversos fabricantes han introducido espectrómetros de fluorescencia atómica útiles para determinar elementos que forman vapores e hidruros, como Pb, Hg, Cd, Zn, As, Sb, Bi, Ge y Se.²³

El uso limitado de la fluorescencia atómica no ha surgido tanto de alguna debilidad inherente del procedimiento, sino más bien debido a que las ventajas de la fluorescencia atómica han sido pequeñas en relación con los métodos de absorción y emisión bien establecidos. Así, aunque los métodos de fluorescencia, en particular los que se basan en la atomización electrotérmica, son un poco más sensibles para varios elementos, el procedimiento es también menos sensible y al parecer tiene un intervalo de concentraciones útiles más pequeño para otros cuantos. Además, los instrumentos de fluorescencia dispersiva son un poco más complejos y adquirirlos y mantenerlos cuesta más.²⁴ Estas desventajas han sido superadas en gran medida en algunos instrumentos dedicados a propósitos especiales como el que se describe en la presentación de “Análisis instrumental en acción” al final de la sección 2.

9E.1 Instrumentación

Los componentes de instrumentos para medidas de fluorescencia atómica están dispuestos en general como se ilustra en la figura 7.1b. El soporte de la muestra es por lo común una llama pero podría ser también una celda de atomización electrotérmica, una descarga luminiscente o un plasma acoplado en forma inductiva, como se describe en la sección 10A.1. Las celdas de flujo se usan con frecuencia junto con métodos de vapor y basados en hidruros.

Fuentes

Una fuente continua sería deseable para las medidas de fluorescencia atómica. Sin embargo, por desgracia la potencia de salida de la mayor parte de las fuentes continuas a lo largo de una región tan estrecha como una línea de absorción atómica es muy baja para

²² Para más información sobre la espectroscopía de fluorescencia atómica véase L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., pp. 276-285, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004; J. A. C. Broekaert, *Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas*, pp. 290-296, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2002; D. J. Butcher en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. A. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ, 1997, pp. 441-458; S. Greenfield, *Trends in Analytical Chemistry*, 1995, 14, pp. 435-442; J. C. Van Loon, *Anal. Chem.*, 1981, 53, p. 332A; D. Butcher et al., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 1988, 3, p. 1059.

²³ Los ejemplos incluyen Teledyne/Leeman Labs (Hudson, NH) y Aurora Instruments, Ltd. (Vancouver, BC).

²⁴ Véase W. B. Barnett y H. L. Kahn, *Anal. Chem.*, 1972, 44, p. 935.

proveer sensibilidad suficiente para la fluorescencia atómica.

En el trabajo inicial sobre fluorescencia atómica, las lámparas de cátodo hueco comunes sirvieron con frecuencia como fuentes de excitación. Para mejorar la intensidad de salida sin destruir la lámpara, era necesario operar la lámpara con pulsos cortos de corriente que fueron mayores que los que podría tolerar la lámpara en operación continua. El detector era operado para observar la señal de fluorescencia sólo durante los impulsos de radiación de la fuente.

Quizá las fuentes más usadas para la fluorescencia atómica han sido las lámparas de descarga sin electrodos (sección 9B.1), que por lo común producen intensidades radiantes mayores que las de las lámparas de cátodo hueco por un orden de magnitud de dos. Estas lámparas funcionan tanto en el modo continuo como en el de pulsos. Desafortunadamente, este tipo de lámpara no está disponible para muchos elementos.

Los rayos láser con sus intensidades más altas y anchos de banda estrechos, parecerían ser la fuente ideal para las mediciones de fluorescencia atómica. Sin embargo, su alto costo y sus complejidades operacionales han desalentado su aplicación más amplia en métodos de fluorescencia atómica rutinarios.

Instrumentos dispersivos

Un sistema dispersivo para medidas de fluorescencia atómica consta de una fuente modulada, un atomizador (con llama o sin ella), un monocromador o un sistema de filtro de interferencia, un detector y un procesador de señal, y un dispositivo de lectura. Con excepción de la fuente, la mayor parte de estos componentes son similares a los que se analizaron en las primeras partes de este capítulo.

Instrumentos no dispersivos

En teoría, ningún monocromador o filtro debe ser necesario para las medidas de fluorescencia atómica cuando una lámpara de descarga sin electrodos o una lámpara de cátodo hueco sirven como fuente de excitación porque, en principio, la radiación emitida es

la de un solo elemento y excitará, por consiguiente, sólo átomos de ese elemento. Un sistema no dispersivo podría estar constituido entonces de sólo una fuente, un atomizador y un detector. Hay varias ventajas de tal sistema: 1) sencillez e instrumentación de bajo costo, 2) adaptabilidad a análisis de varios elementos, 3) alto rendimiento energético y, por tanto, mayor sensibilidad y 4) recolección simultánea de energía para líneas múltiples, lo cual incrementa también la sensibilidad.

Para darse cuenta de estas ventajas importantes, es necesario que la salida de la fuente esté libre de líneas contaminantes de otros elementos; además, el atomizador no debe emitir radiación de fondo significativa. En algunos casos con atomizadores electrotérmicos, la radiación de fondo es mínima, pero con seguridad no lo es con las llamas típicas. Para superar este problema se han utilizado filtros localizados entre la fuente y el detector para eliminar la mayor parte de la radiación de fondo. Otra posibilidad son los fotomultiplicadores insensibles a la luz solar, que responden sólo a la radiación de longitudes de onda más cortas que 320 nm. Para que estos dispositivos se usen de modo efectivo, la emisión del analito debe estar por debajo de los 320 nm.

9E.2 Interferencias

Las interferencias que se encuentran en la espectroscopia de fluorescencia atómica son por lo general del mismo tipo y casi la misma magnitud que las que se hallan en la espectroscopia de absorción atómica.²⁵

9E.3 Aplicaciones

Los métodos de fluorescencia atómica se han aplicado a la determinación de metales en materiales como aceites lubricantes, agua de mar, muestras geológicas, metalúrgicas, clínicas, ambientales y agrícolas. En la tabla 9.3 se enlistan los límites de detección para procedimientos de fluorescencia atómica.

²⁵ Véase J. D. Winefordner y R. C. Elser, *Anal. Chem.*, **1971**, 43 (4), p. 24A.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 9.1** Defina los siguientes términos: *a*) agente liberador, *b*) agente protector, *c*) supresor de ionización, *d*) atomización, *e*) ensanchamiento por presión, *f*) lámpara de

cátodo hueco, g) chisporroteo, h) autoabsorción, i) interferencia espectral, j) interferencia química, k) amortiguador de radiación, l) ensanchamiento Doppler.

- 9.2** Describa los efectos causantes de los tres perfiles de absorbancia diferentes en la figura 9.4 y seleccione tres elementos adicionales que usted esperaría tengan perfiles similares.
- 9.3** ¿Por qué un atomizador electrotérmico es más sensible que un atomizador de llama?
- 9.4** Describa cómo se puede usar una lámpara de deuterio para efectuar una corrección de fondo para un espectro de absorción atómica.
- 9.5** ¿Por qué se usa la modulación de la fuente en la espectroscopía de absorción atómica?
- 9.6** Para la misma concentración de níquel se encontró que la absorbancia a 352.4 nm es casi 30% mayor para una solución que contenía 50% de etanol que para una solución acuosa. Explique.
- 9.7** El espectro de emisión de una lámpara de cátodo hueco para molibdeno tiene una línea bien definida a 313.3 nm siempre que la corriente de la lámpara sea menor que 50 mA. Sin embargo, a corrientes más altas, la línea de emisión desarrolla un cráter en forma de taza en su máximo. Explique.
- 9.8** Un analista intenta determinar estroncio con un instrumento de absorción atómica equipado con un quemador de óxido nitroso-acetileno, pero la sensibilidad relacionada con la línea de resonancia atómica a 460.7 nm no es satisfactoria. Recomendé por lo menos tres cosas que podría intentar para incrementar la sensibilidad.
- 9.9** ¿Por qué la emisión atómica es más sensible a la inestabilidad de la llama que la absorción atómica o la fluorescencia?
- 9.10** En la figura 9.1 se resumen muchos de los procesos que tienen lugar en un quemador de flujo laminar. En referencia específica al análisis de una solución acuosa de MgCl_2 , describa los procesos que probablemente sucedan.
- *9.11** Mediante la ecuación 7.13, para el poder de resolución de un monocromador de red, calcule el tamaño teórico mínimo de una red de difracción que proporcionaría un perfil de una línea de absorción atómica a 500 nm que tiene una anchura de 0.002 nm. Suponga que la red se usará en el primer orden y que ha sido marcada con 2400 hendiduras/mm.
- *9.12** En el caso de la llama que se ilustra en la figura 9.3, calcule la intensidad relativa de la línea de emisión de 766.5 nm para el potasio a las siguientes alturas por arriba de la llama (suponga que no hay ionización):
a) 2.0 cm b) 3.0 cm c) 4.0 cm d) 5.0 cm
- 9.13** En una llama de hidrógeno-oxígeno se observó que la señal de absorción atómica para el hierro disminuía en presencia de grandes concentraciones de ion sulfato.
a) Dé una explicación de esta observación.
b) Recomendé tres métodos posibles para vencer la interferencia potencial del sulfato en una determinación cuantitativa de hierro.
- *9.14** En el caso de átomos de Na y iones Mg^+ , compare las relaciones entre la cantidad de partículas en el estado excitado $3p$ y la cantidad en el estado basal en
a) una llama de gas natural-aire (2100 K).
b) una llama de hidrógeno-oxígeno (2900 K).
c) una fuente de plasma acoplada en forma inductiva (6000 K).

- *9.15** En fuentes de temperaturas superiores, los átomos de sodio emiten una línea doble con una longitud de onda promedio de 1139 nm. La transición del estado $4s$ al $3p$ es responsable de ella. Calcule la razón entre la cantidad de átomos excitados en el estado $4s$ y la cantidad en el estado basal $3s$ en
- una llama de acetileno-oxígeno (3000°C).
 - la parte más caliente de una fuente de plasma acoplada en forma inductiva ($\sim 9000^{\circ}\text{C}$).
- *9.16** Suponga que la señal de absorción que se muestra en la figura 9.7 se obtuvo para alícuotas de $2\text{-}\mu\text{L}$ del patrón y la muestra. Calcule la concentración en partes por millón de plomo en la muestra de jugo de naranja enlatado.
- 9.17** Recomiende fuentes de las dos señales de la figura 9.7 que aparecen durante los procesos de secado y calcinación.
- 9.18** En el intervalo de concentración de 1 a $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ P, el fosfato inhibe la absorción atómica del Ca en forma lineal. Sin embargo, la absorbancia se estabiliza entre 100 y $300\text{ }\mu\text{g/mL}$ de P. Explique. ¿Cómo se puede reducir este efecto?
- 9.19** ¿Cuál es el objetivo de un patrón interno en los métodos de emisión de llama?
- *9.20** Se trató una muestra de 5.00 mL de sangre con ácido tricloroacético para precipitar las proteínas. Después de la centrifugación, la solución resultante se lleva a un pH de 3 y se sometió a extracción con dos porciones de 5 mL de metilisobutilcetona que contiene el agente orgánico complejante de plomo APCD. El extracto se aspiró directamente en una llama de aire-acetileno que produjo una absorbancia de 0.444 a 283.3 nm . Se trataron alícuotas de 5 mL de disoluciones que contenían 0.250 y 0.450 ppm de Pb de la misma manera y la absorbancia que se produjo fue de 0.396 y 0.599 . Calcule la concentración de Pb (ppm) en la muestra si se supone que se cumple la ley de Beer.
-  **9.21** Se determinó el sodio en una serie de muestras de cemento mediante espectroscopia de emisión de llama. El fotómetro de llama se calibró con una serie de patrones de NaCl que contenían sodio equivalente a 0 , 20.0 , 40.0 , 60.0 y $80.0\text{ }\mu\text{g}$ de Na_2O por mililitro. Las lecturas del instrumento R para estas soluciones fueron 3.1 , 21.5 , 40.9 , 57.1 y 77.3 .
- Grafique los datos en una hoja de cálculo.
 - Obtenga una ecuación de mínimos cuadrados para los datos.
 - Calcule las variables estadísticas de la línea en b).
 - Los datos siguientes se obtuvieron al repetir el análisis en muestras de 1.000 g de cemento que se disolvieron en HCl y se diluyeron a 100.0 mL después de la neutralización.

	Lectura de emisión			
	Blanco	Muestra A	Muestra B	Muestra C
Repetición 1	5.1	28.6	40.7	73.1
Repetición 2	4.8	28.2	41.2	72.1
Repetición 3	4.9	28.9	40.2	Derramada

Calcule el porcentaje de Na_2O en cada una de las muestras. ¿Cuál es la desviación estándar absoluta y la desviación estándar relativa para el promedio de cada determinación?

-  **9.22** El cromo en una muestra acuosa se determinó al tomar cinco muestras de 10.0 mL de la incógnita que se vaciaron en cinco matraces volumétricos de 50.0 mL .

Se añadieron varios volúmenes de un patrón que contenía 12.2 ppm de Cr a los matraces, después de lo cual las disoluciones se diluyeron a un volumen.

Incógnita, mL	Patrón, mL	Absorbancia
10.0	0.0	0.201
10.0	10.0	0.292
10.0	20.0	0.378
10.0	30.0	0.467
10.0	40.0	0.554

- Grafique los datos mediante una hoja de cálculo.
- Determine una ecuación para la relación entre la absorbancia y el volumen del patrón.
- Calcule las variables estadísticas de la relación de mínimos cuadrados en b).
- Determine la concentración de Cr en ppm en la muestra.
- Determine la desviación estándar del resultado en d).

Problema de reto

- 9.23** a) En una investigación de la influencia de variables experimentales sobre los límites de detección en espectrometría de absorción atómica, Cabon y Le Bihan determinaron varios factores que serían importantes en el mejoramiento del método.²⁶ Enliste seis de estos factores, describa con detalle las bases físicas de cada uno de ellos y analice por qué cada uno es importante.
- b) Estos investigadores explican un método *a priori* para determinar el límite de detección (LOD, por sus sigas en inglés). Compare este método con el que se describe en la sección 1E.2. ¿Qué tanto mejora este método el que define la IUPAC en el Orange Book (“Libro Naranja”)? Refiérase a http://www.iupac.org/publications/analytical_compendium/. Describa las desventajas del método.
- c) En las investigaciones de Cabon y Le Bihan se trataron los datos usando la suavización polinomial de mínimos cuadrados (véase sección 5C.2) antes de determinar el LOD. Explique con precisión cómo se suavizaron los datos. ¿Qué variable experimental se mejoró en el procedimiento de suavización? ¿Cómo se definió la anchura de la ventana de suavización? ¿Qué efecto, si acaso hubo alguno, tuvo el procedimiento de suavización sobre el LOD como lo determinaron estos investigadores? ¿Qué efecto tuvo la suavización en la determinación de la ventana de integración para la señal del instrumento?
- d) Estos investigadores compararon la determinación de la magnitud de la señal mediante integración y medición de las señales pico. ¿Cuál fue el resultado de esta comparación? Explique por qué se obtuvieron estos resultados con base en lo que usted entiende de los procedimientos para intensificar la relación señal-ruido.
- e) ¿Cómo se integraron las señales del instrumento? ¿Qué procedimientos numéricos opcionales existen para integrar las señales digitales? ¿Qué variable o variables del procedimiento influyen en la calidad de los datos de las señales integradas? Explique el efecto de la integración de la señal sobre las curvas de trabajo para Pb.
- f) ¿Cuál es el *volumen de dosificación* y qué efecto pareció ejercer en la calidad de los resultados en estos procedimientos?

²⁶J. Y. Cabon y A. Le Bihan, *Analyst*, **1997**, 122, p. 1335.

Espectrometría de emisión atómica

Este capítulo trata sobre la espectrometría de emisión atómica óptica. En general, los atomizadores que se enlistan en la tabla 8.1 no sólo convierten los componentes de las muestras en átomos o iones elementales, sino que en el proceso excitan a fracciones de estas especies para que alcancen estados electrónicos superiores. Como las especies excitadas regresan con rapidez a sus estados inferiores, los espectros de línea ultravioleta y visible son útiles para los análisis elementales cualitativos y cuantitativos. Las fuentes de plasma son las más importantes y las más usadas para la espectrometría de emisión atómica. Estos dispositivos, sin olvidar la muy conocida fuente de plasma acoplada en forma inductiva, se estudian primero en este capítulo. Después se tratan la espectroscopia de emisión basada en arco eléctrico y la atomización y excitación de chispa eléctrica. Antes, las fuentes de arco y chispa eran muy importantes en la espectrometría de emisión; y todavía tienen importantes aplicaciones en la determinación de algunos elementos metálicos. Para terminar, se presentan varias fuentes de emisión atómica como llamas, descargas luminiscentes y rayos láser.



A lo largo de todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad de estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

La espectrometría de emisión de plasma, arco y chispa tiene varias ventajas si se le compara con los métodos de absorción de llama y electrotérmicos que se estudiaron en el capítulo 9.¹ Entre las ventajas está su baja susceptibilidad a las interferencias químicas, la cual es un resultado directo de sus temperaturas superiores. En segundo lugar están los buenos espectros que resultan para la mayoría de los elementos con un solo grupo de condiciones de excitación. Por consiguiente, se pueden registrar en forma simultánea los espectros de docenas de elementos. Esta propiedad es de particular importancia en el caso del análisis de varios elementos en muestras muy pequeñas. Las llamas son menos satisfactorias como fuentes de emisión atómica porque las condiciones de excitación óptima varían ampliamente de elemento en elemento; se requieren altas temperaturas para excitar algunos elementos y bajas temperaturas para otros y, para finalizar, la región de la llama que origina las intensidades óptimas de las líneas varía de un elemento a otro. Otra ventaja de las fuentes de plasma más energéticas es que facilitan la determinación de concentraciones bajas de elementos que tienden a formar compuestos refractarios, es decir, aquellos que son muy resistentes a la descomposición térmica, como los óxidos de boro, fósforo, tungsteno, uranio, circonio y niobio. Además, las fuentes de plasma permiten determinar no metales como cloro, bromo, yodo y azufre. Por último, los intervalos de concentración de los métodos de emisión de plasma son de varios órdenes de magnitud, en contraste con el intervalo de dos o tres décadas de los métodos de absorción que se describieron en el capítulo anterior.

A menudo los espectros de emisión a partir de fuentes de plasma, arco y chispa son muy complejos, casi siempre están formados por cientos y hasta miles de líneas. Esta gran cantidad de líneas, aunque representan ventajas cuando se busca información cualitativa, aumenta la probabilidad de interferencias espectrales en el análisis cuantitativo. Por tanto, la espectroscopia de emisión que se basa en plasma, arcos y chispas requiere mayor resolución y equipo óptico

¹ Una mayor información sobre la espectroscopia de emisión se halla en *Atomic Spectroscopy in Elemental Analysis*, M. Cullen, ed., caps. 3-5, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004; L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., caps. 4-6, Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2004; J. A. C. Broekaert, *Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas*, cap. 5, Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 2002; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, caps. 7-9, 11, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.

más caro que el necesario en los métodos de absorción atómica con fuentes de llama o electrotérmicas.

A pesar de sus ventajas, es improbable que los métodos de emisión que se basan en fuentes de alta energía desplacen por completo en algún momento los procedimientos de absorción atómica electrotérmica. De hecho, ambos son complementarios. Entre las ventajas de los procedimientos de absorción atómica están el equipo más sencillo y más barato, los bajos costos de operación, la precisión un poco mayor, por lo menos en la actualidad, y los procedimientos que requieren menos habilidad del operador para obtener resultados satisfactorios.²

10A ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON FUENTES DE PLASMA

Un plasma es una mezcla gaseosa eléctricamente conductora que contiene una concentración importante de cationes y electrones. (Las concentraciones de ambos son tales que la carga neta es cero.) En el plasma de argón, que se usa con frecuencia para el análisis de emisión, los iones y los electrones de argón son las especies conductoras principales, aunque los cationes provenientes de la muestra también están presentes en cantidades pequeñas. Los iones de argón, una vez formados en el plasma, son capaces de absorber suficiente potencia de una fuente externa para conservar la temperatura en un nivel en el que la ionización posterior mantiene indefinidamente al plasma, el cual alcanza temperaturas hasta de 10 000 K. Hay tres tipos principales de plasmas de alta temperatura: 1) plasma acoplado por inducción, 2) plasma de corriente continua y 3) plasma inducido por microondas.³ Las dos primeras de estas fuentes se consiguen en varias compañías de instrumentos, la tercera no se usa mucho en el análisis elemental, por esa razón no se hablará más de ella en este capítulo. No obstante, tenga en cuenta que la fuente de plasma por microondas se consigue en el comercio como un detector de elementos para la cromatografía de gases. Este instrumento se describe de manera breve en la sección 27B.4.

²Para una excelente comparación de las ventajas y desventajas de las llamas, los hornos y los plasmas como fuentes para la espectroscopia de emisión, refiérase a W. Slavin, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 589A.

³Para una comparación de estas fuentes consulte R. D. Sacks, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, E. J. Meehan y I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 7, pp. 516-526, Nueva York: Wiley, 1981; A. T. Zander, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 1139A.



Ejercicio: aprenda más acerca de las **antorchas para plasma acoplado por inducción**.

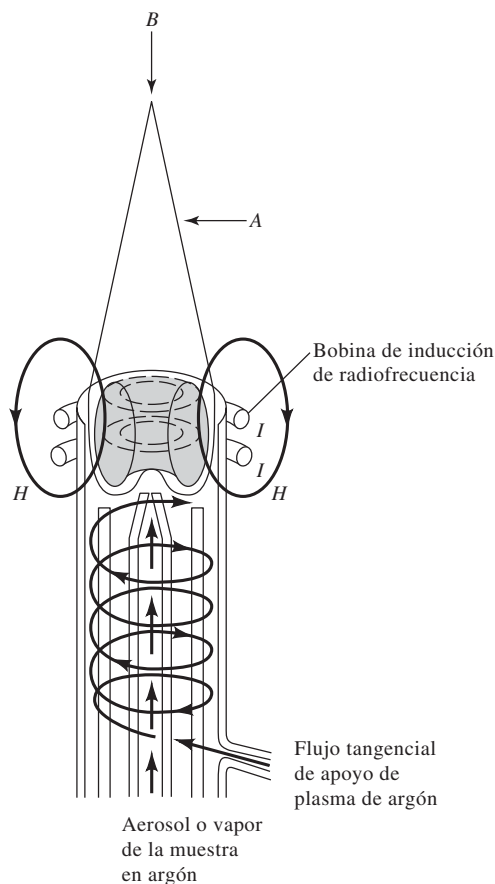


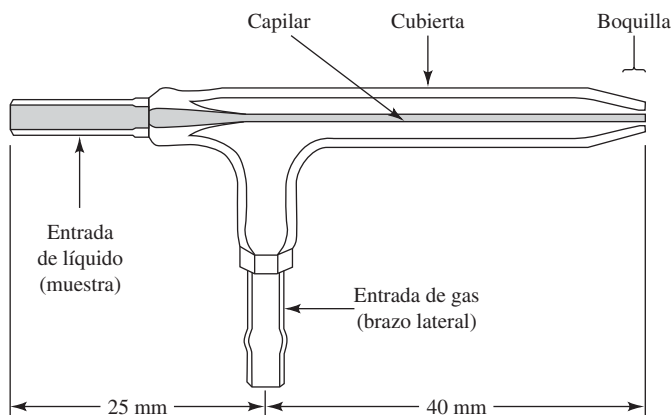
FIGURA 10.1 Fuente representativa de plasma acoplado por inducción. En la posición A se muestra una vista radial de la antorcha, y en la posición B se ilustra una vista axial. (Tomado de V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, p. 185. Con autorización. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

10A.1 Fuente de plasma acoplado por inducción

En la figura 10.1 se ilustra el esquema de una fuente característica para plasma acoplado por inducción (también conocido como plasma acoplado en forma inductiva) llamada *antorcha*.⁴ Está formada por tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales flu-

⁴Un estudio más completo acerca de las fuentes de plasma acoplado por inducción se halla en V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, p. 183; V. A. Fassel, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, p. 1290A; G. A. Meyer, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1345A; S. J. Hill, *ICP Spectrometry and Its Applications*, Boca Raton, FL, CRC Press, 1999; A. Varma, *CRC Handbook of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1990; *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, A. E. Montaser, ed., Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 1998; *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectroscopy*, 2a. ed., A. Montaser y D. W. Golightly, eds., Nueva York: Wiley-VCH, 1992; *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectroscopy*, M. Thompson y J. N. Walsh, eds., Nueva York: Chapman & Hall, 1989.

FIGURA 10.2 Nebulizador de Meinhard. El flujo de gas nebulizado fluye por una abertura que rodea en forma concéntrica al capilar. Esta situación reduce la presión en la punta y la aspiración de la muestra. El gas a alta velocidad en la punta dispersa la solución en una neblina. (Cortesía de J. Meinhard Associates, Inc.)



yen corrientes de argón. Según el diseño de la antorcha, el consumo total de argón es de 5 a 20 L/min. El diámetro del tubo más grande es casi siempre alrededor de 2.5 cm. La parte superior de este tubo está rodeada por una bobina de inducción, refrigerada por agua, que está alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una potencia de 0.5 a 2 kW a 27.12 MHz o 40.68 MHz.⁵ La ionización del argón que fluye se inicia mediante una chispa que proviene de una bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interaccionan entonces con un campo magnético oscilante (llamado H en la figura 10.1) producido por la bobina de inducción. Esta interacción fuerza a los iones y los electrones dentro de la bobina a moverse en trayectorias circulares, como se ilustra en la figura 10.1. La resistencia que manifiestan los iones y los electrones a este flujo de carga es la causa del calentamiento óhmico del plasma.

La temperatura del plasma así formado es lo suficientemente elevada como para que el cilindro exterior de cuarzo requiera aislamiento térmico. Para lograrlo, se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del tubo, como lo indican las flechas en la figura 10.1. Este flujo tangencial enfría las paredes interiores del tubo central y concentra radialmente el plasma.⁶

Un diseño que ofrece la mayoría de los fabricantes gira la antorcha 90° de modo que se alinea axialmente con el sistema del espectrómetro (B en la figura 10.1). La radiación emitida desde el centro del plasma es la que se utiliza en los análisis. El acomodo axial es muy ventajoso para la espectrometría de masa con plasma acoplado por inducción que se describe en la sección

11C.1 (véase en la figura 10.6 un espectrómetro en una vista axial y en la figura 10.8 otro diagrama).

Tenga en cuenta que el caudal de argón a través de una antorcha común es bastante grande, lo que supone un costo importante en el caso de un espectrómetro de plasma acoplado por inducción (varios miles de dólares al año). Durante los años ochenta se comercializaron antorchas de bajo flujo y baja potencia que requieren un flujo total de argón de menos de 10 L/min y menos de 800 W de potencia de radiofrecuencia.

Introducción de la muestra

Las muestras se introducen en el plasma acoplado por inducción mediante un flujo de argón de casi 1 L/min por el tubo central de cuarzo. La muestra puede ser aerosol, vapor generado térmicamente o polvo fino. El medio más común para introducir la muestra es el nebulizador concéntrico de vidrio que se muestra en la figura 10.2. La muestra se transporta hasta la punta por medio del efecto de Bernoulli (aspiración o succión). La alta velocidad del gas divide al líquido en gotitas finas de varios tamaños que son transportadas hacia el interior del plasma.

Otro tipo común de nebulizador tiene un diseño de flujo cruzado (figura 8.11b). En este caso, un flujo de gas a alta velocidad atraviesa la punta de un capilar en ángulos rectos, lo que ocasiona el mismo efecto de Bernoulli. A menudo, en este tipo de nebulizador, el líquido se hace pasar a través del capilar mediante una bomba peristáltica. Hay muchos otros tipos de nebulizadores de mayor rendimiento, para nebulización de muestras con alto contenido de sólidos y para producir neblinas ultrafinas.⁷

Otro método para introducir muestras líquidas y sólidas en un plasma es la vaporización electrotérmica. En este caso, la muestra se vaporiza en un horno simi-

⁵La mayor parte de los instrumentos comerciales funcionan ahora a 40.68 MHz porque se logra una mejor eficiencia de acoplamiento entre la bobina y el plasma con la frecuencia más alta y una emisión de fondo menor.

⁶Para una descripción de las antorchas comerciales, refiérase a D. Noble, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 105A.

⁷Consulte R. F. Browner y A. W. Boorn, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, pp. 787A, 875A.

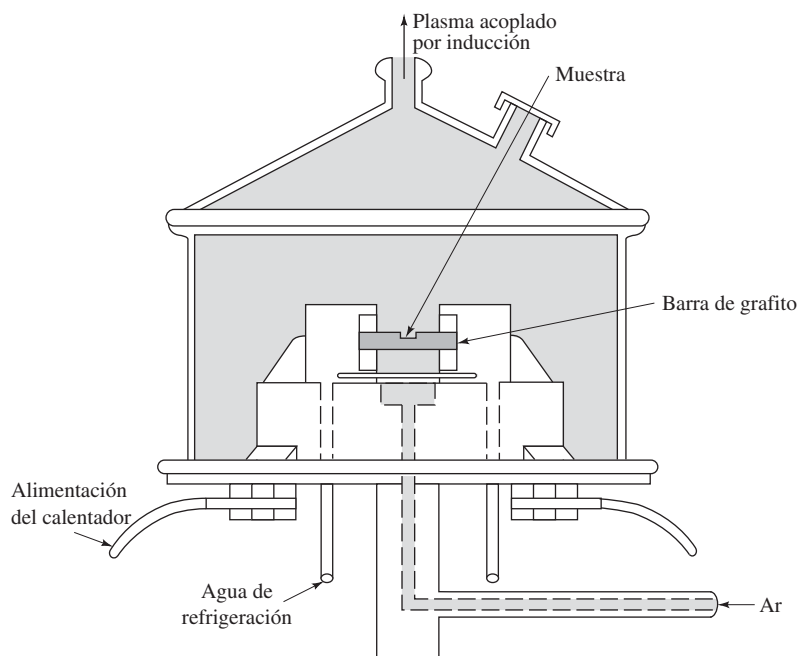


FIGURA 10.3 Dispositivo para la vaporización electrotrémica.

lar a los que se describieron para la atomización electrotrémica en la sección 8C.1. Sin embargo, para los métodos que utilizan plasma, el horno se utiliza *sólo para introducir la muestra y no para atomizarla*; la atomización ocurre en el plasma. En la figura 10.3 se muestra un vaporizador electrotrémico en el que la vaporización se produce sobre una barra de grafito abierta. A continuación, el vapor entra en la antorcha de plasma mediante un flujo de argón. La señal observada consiste en un pico fugaz semejante a los que se obtienen en la absorción atómica electrotrémica. La vaporización electrotrémica acoplada a una antorcha de plasma ofrece las ventajas de los hornos electrotrémicos de poder analizar micromuestras ($\sim 5 \mu\text{L}$) y bajos límites absolutos de detección ($\sim 1 \text{ ng}$) a la vez que conserva el amplio intervalo lineal de trabajo, precisión aceptable muestra a muestra (5 a 10%), ausencia de interferencias y la aptitud para el análisis de múltiples elementos del plasma acoplado por inducción.⁸

Varios fabricantes que comercializan instrumentos de plasma acoplado por inducción venden también los dispositivos de ablación para sólidos que se describen en la sección 8C.2. Con estos sistemas de introducción de la muestra, la nube de vapor y las partículas sólidas producidas por la interacción de la muestra con un arco eléctrico, una chispa eléctrica o un haz de láser se transportan mediante un flujo de argón al interior de la antorcha, donde se produce después la atomización y la excitación.

Aspecto del plasma y espectros

Un plasma característico tiene un núcleo opaco, blanco brillante y muy intenso, cubierto en la parte superior por una cola en forma de llama. El núcleo, que sobresale algunos milímetros del tubo, produce el espectro atómico del argón que se superpone a un espectro continuo. El continuo es característico de las reacciones de recombinación de electrones e iones, y la *bremssstrahlung*, que es la radiación continua que se genera cuando las partículas cargadas se detienen o bajan su velocidad. En la zona situada entre 10 y 30 mm por encima del núcleo, la emisión continua se desvanece y el plasma es ópticamente transparente. Por lo general, las observaciones espectrales se efectúan a una altura de 15 a 20 mm por encima de la bobina de inducción donde la temperatura es de 6000 a 6500 K. En esta zona la radiación de fondo carece de las líneas del argón y resulta adecuada para el análisis. Muchas de las líneas más sensibles del analito en esta zona del plasma provienen de iones como Ca^+ , Cd^+ , Cr^+ y Mn^+ .

En los espectrómetros de plasma acoplado por inducción, la antorcha se puede ver radialmente, perpendicular a su eje (*A* en la figura 10.1), o axialmente (*B* en la misma figura) o pueden contener un sistema de conmutación controlado mediante computadora para ver ambos esquemas. Las ventajas del acomodo axial respecto a la configuración radial incluyen una intensidad de radiación incrementada resultante de una trayectoria más larga y una precisión superior, lo cual produce límites de detección inferiores (un factor de 2 a 30 con nebulización ultrasónica). Las desventajas son que

⁸S. Kim *et al.*, *Microchim. J.*, **2004**, p. 127.

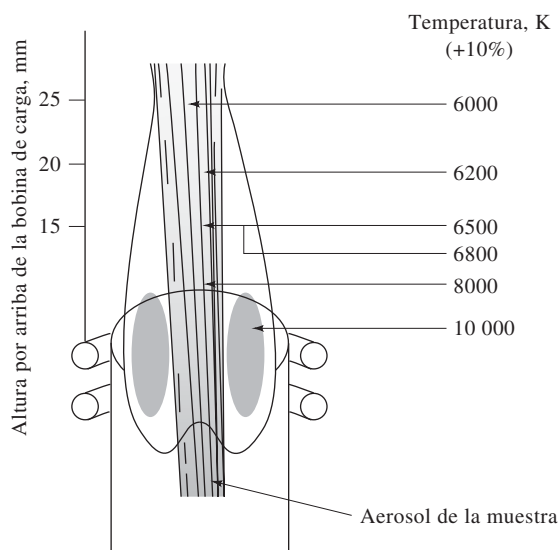


FIGURA 10.4 Temperaturas en una fuente característica de plasma acoplado por inducción. (Tomado de V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, p. 186. Con autorización. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

la cola de plasma frío se tiene que eliminar de la trayectoria de la luz para evitar interferencia proveniente de los óxidos; la degradación contaminante y térmica de las partes ópticas del espectrómetro es más difícil de evitar en la configuración axial que en la radial.⁹ La decisión sobre qué configuración usar depende del comportamiento químico del analito en el plasma, la línea espectral elegida para el análisis, la calidad de los datos requeridos y la naturaleza detallada del experimento. Por ejemplo, la configuración axial es muy útil en espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción, la cual se trata en la sección 11C.

Atomización y ionización de los analitos

En la figura 10.4 se muestran las temperaturas del plasma mediante curvas isotérmicas. El tiempo de residencia de los átomos de la muestra es de unos 2 ms antes de alcanzar el punto de observación. Durante ese lapso los átomos experimentan temperaturas que varían entre 5500 y 8000 K. El tiempo y las temperaturas son aproximadamente dos o tres veces mayores que los que se encuentran en las llamas de combustión más calientes (acetileno/óxido nítrico) que se utilizan en los métodos espectroscópicos de llama. Por tanto, la atomización es más completa en los plasmas que en las llamas y hay menos problemas de interferencias químicas.

Sorprende que los efectos de interferencia por ionización sean pequeños, tal vez porque la gran concentración de electrones que provienen de la ionización del argón mantiene una concentración de electrones casi constante en el plasma.

Hay otras ventajas asociadas con las fuentes de plasma. Primero, la atomización se produce en un medio inerte desde el punto de vista químico, lo que tiende a aumentar el tiempo de vida del analito porque evita la formación de óxidos. Además, y a diferencia del arco, las chispas y las flamas, el corte transversal de la temperatura del plasma es relativamente uniforme; por consiguiente no se presentan tan a menudo efectos de autoabsorción y autoinversión. Por tanto, las curvas de calibración suelen ser lineales y abarcan varios órdenes de magnitud de concentración. Por último, el plasma produce una ionización importante, lo cual lo hace una fuente excelente para la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción.

10A.2 Fuente de plasma de corriente continua

Las fuentes de plasma de corriente continua o directa se describieron por primera vez en los años veinte, y se estudiaron de manera sistemática como fuentes para la espectroscopía de emisión durante varias décadas.¹⁰ Pero fue hasta los años setenta del siglo XX cuando se empezó a comercializar la fuente de emisión de plasma de corriente continua. La fuente tuvo gran aceptación, sobre todo entre los científicos y geoquímicos para efectuar análisis de varios elementos.

La figura 10.5 es el esquema de una fuente de plasma de corriente continua comercial que se adecua a la excitación de los espectros de emisión de una gran variedad de elementos. Esta fuente de chorro de plasma está constituida por tres electrodos dispuestos en una configuración de Y invertida. Hay un ánodo de grafito en cada brazo de la Y y un cátodo de tungsteno en la base invertida. El argón fluye desde los dos bloques anódicos hacia el cátodo. El chorro de plasma se forma al poner en contacto por un momento el cátodo con los ánodos. Se ioniza el argón y se genera una corriente (~14 A) que genera más iones que mantienen la corriente de manera indefinida. La temperatura en el núcleo del arco es de más de 8000 K y en la zona de observación, de 5000 K. La muestra es aspirada dentro del área entre los dos brazos de la Y, donde es atomizada, excitada y detectada.

¹⁰Para mayores detalles consulte G. W. Johnson, H. E. Taylor y R. K. Skogerboe, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, p. 2403; *Spectrochim. Acta*, parte B, **1979**, 34, p. 197; R. J. Decker, *Spectrochim. Acta*, parte B, **1980**, 35, p. 21.



Ejercicio: aprenda más acerca de los **plasmas de corriente continua**.

⁹L. H. J. Lajunen y P. Peramaki, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, 2a. ed., pp. 253-254, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.

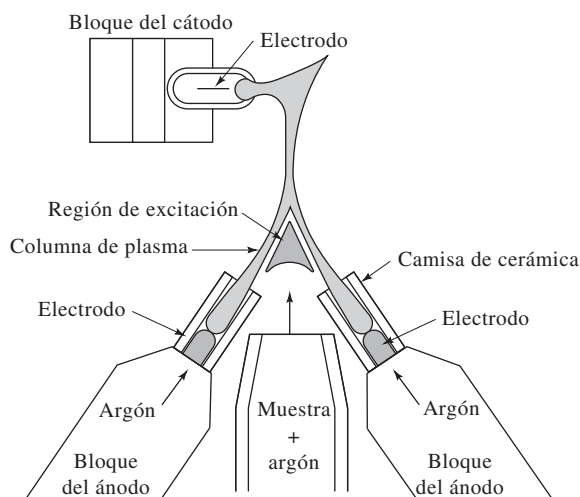


FIGURA 10.5 Diagrama de una fuente de plasma de corriente continua de tres electrodos. Dos plasmas de corriente continua tienen un solo cátodo común. El plasma completo se quema en la forma de una Y invertida. La muestra se puede introducir en forma de aerosol desde la zona entre los dos ánodos de grafito. Si la observación de la emisión se efectúa en la región que está debajo del núcleo de plasma con fuerte emisión se evita la mayor parte de la emisión de fondo del plasma. (Cortesía de Spectrametrics, Inc. Haverhill, MA.)

Los espectros producidos por un plasma de corriente continua tienden a tener menos líneas que los producidos por un plasma acoplado por inducción, y provienen sobre todo de átomos más que de iones. La sensibilidad que se consigue con el plasma de corriente continua varía desde un orden de magnitud menor a la que se obtiene con el plasma acoplado por inducción hasta casi la misma que se alcanza con este último. La reproducibilidad de los dos sistemas es semejante. Se requiere mucho menos argón con el plasma de corriente continua, y la fuente de alimentación auxiliar es más sencilla y más barata. El plasma de corriente continua tiene una mejor capacidad para manejar soluciones orgánicas y soluciones acuosas con alto contenido de sólidos que el plasma acoplado por inducción. No obstante, la volatilización de la muestra es casi siempre incompleta con el plasma de corriente continua debido a los breves tiempos de residencia en la región de alta temperatura. Asimismo, la región de observación óptima con el plasma de corriente continua es muy pequeña, de modo que las piezas ópticas tienen que estar cuidadosamente alineadas para amplificar la imagen de la fuente. Además, los electrodos de grafito se tienen que sustituir cada pocas horas, mientras que la fuente de plasma acoplado por inducción requiere poco mantenimiento.

TABLA 10.1 Propiedades deseables de un espectrómetro de emisión.

1. Alta resolución (0.01 nm o $\lambda/\Delta\lambda > 100\,000$)
2. Adquisición y recuperación de la señal rápidas
3. Baja luz parásita
4. Amplio intervalo dinámico ($>10^6$)
5. Exactitud y precisión en la identificación y selección de la longitud de onda
6. Lecturas de intensidad precisas (desviación estándar relativa $<1\%$ a $500 \times$ el límite de detección)
7. Elevada estabilidad respecto a los cambios ambientales
8. Fácil corrección del fondo
9. Operación controlada por computadora: lectura, almacenamiento, manipulación de los datos, etcétera.

10A.3 Espectrómetros con fuente de plasma

En la tabla 10.1 se proporcionan las propiedades más importantes de un instrumento ideal para espectroscopia de emisión de plasma. El espectrómetro ideal no existe todavía, en parte porque algunas de estas propiedades se excluyen mutuamente. Por ejemplo, una elevada resolución requiere rendijas estrechas, que casi siempre reducen la relación señal-ruido y, por tanto, la precisión de las lecturas de intensidad. No obstante, los instrumentos actuales se aproximan a los ideales que se enlistan en la tabla.¹¹

En la actualidad, una docena o más de fabricantes de instrumentación ofrecen espectrómetros de emisión de plasma. Sus diseños, las características de desempeño y los intervalos de longitud de onda son muy variados. La mayoría abarca por completo el espectro ultravioleta y visible, desde 170 nm hasta 800 nm . Algunos instrumentos están equipados para trabajar en condiciones de vacío, con lo que pueden llegar a longitudes de onda del ultravioleta de hasta 150 nm o 160 nm . Esta región de longitudes de onda cortas es importante porque elementos como fósforo, azufre y carbono tienen líneas de emisión en ella.

Los instrumentos para la espectroscopia de emisión son de tres tipos básicos: *secuenciales*, *de varios canales simultáneos* y *de transformada de Fourier*. Estos últimos se usan poco en la espectroscopia de emisión. Los instrumentos secuenciales se programan para pasar desde la línea de un elemento hasta la línea del segundo elemento, deteniéndose sólo lo suficiente (algunos segundos) en cada una para medir sus intensidades con una relación señal-ruido satisfactoria. En cambio, los instrumentos multicanal están diseñados para medir en forma simultánea, o casi, las intensidades de las

¹¹ Un estudio acerca de los espectrómetros de emisión atómica con plasma acoplado por inducción se halla en B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, p. 211A.

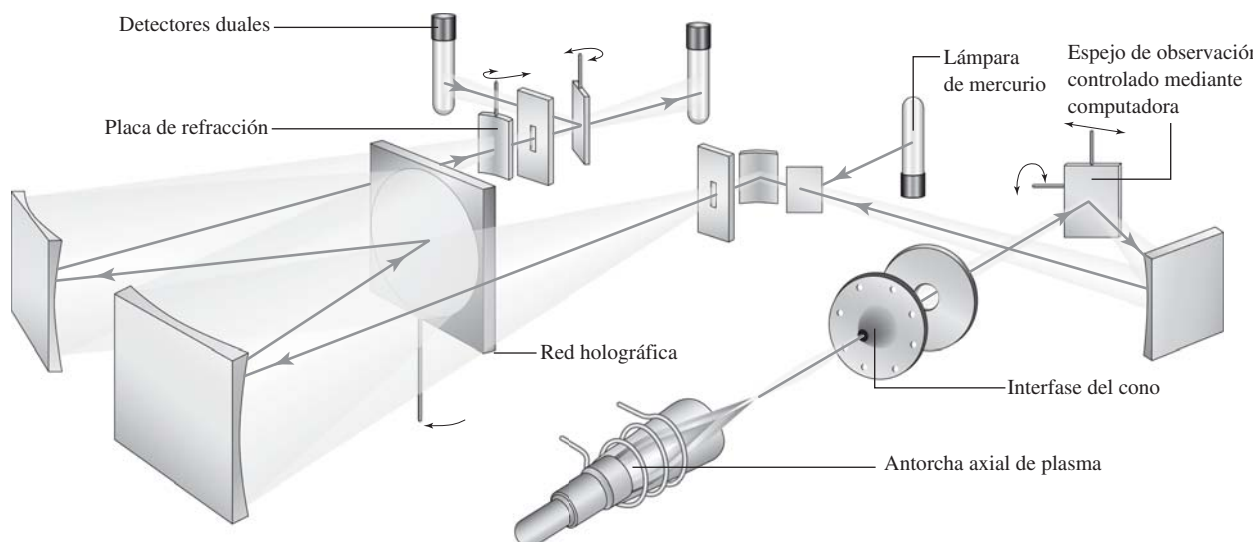


FIGURA 10.6 Diagrama óptico de un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción. Todas las partes móviles están controladas por la computadora, y los modos de movimiento están señalados por las flechas tridimensionales. Entre las partes móviles están la red, un espejo para seleccionar el transductor, una plancha de refracción para mejorar toda la señal y un espejo de observación para que la posición del plasma sea óptima para la observación. El espectrómetro contiene una lámpara de mercurio para calibrar la longitud de onda en forma automática. Observe la geometría de la vista axial. (Cortesía de Varian Analytical Instruments.)

líneas de emisión para una gran cantidad de elementos, a veces 50 o 60. Cuando se tienen que determinar varios elementos, los instrumentos secuenciales requieren mucho más tiempo para la introducción de las muestras que los otros dos tipos. Por tanto, estos instrumentos, aunque son más sencillos, son costosos en cuanto al consumo de muestra y de tiempo.

Tanto los espectrómetros secuenciales como los de emisión por varios canales o multicanal son de dos tipos generales: uno usa un espectrómetro de red clásico y el otro un espectrómetro en escalera, como el que se muestra en la figura 7.23.

Instrumentos secuenciales

Con frecuencia estos instrumentos contienen un monocromador de red como el que se ilustra en la figura 10.6. Por lo regular, la red es del tipo holográfico con 2400 a 3600 hendiduras o surcos por milímetro. Con algunos instrumentos de este tipo el barrido requiere que se gire la red con un motor por etapas controlado digitalmente, de modo que se enfocan distintas longitudes de onda en forma sucesiva y con precisión en la rendija de salida. No obstante, en algunos diseños la red está fija y la rendija y el tubo del fotomultiplicador pasan por el plano focal o la curva. Los instrumentos como el que se ilustra en la figura 10.6 poseen dos conjuntos de rendijas y tubos fotomultiplicadores, uno para la región ultravioleta y otro para la visible. En dichos instrumentos, a una longitud de onda apropiada,

el rayo de salida es conmutado desde un fotomultiplicador al otro por medio del movimiento del espejo plano que está entre los dos transductores.

Espectrómetros de barrido horizontal. Debido a que los espectros complejos están formados por cientos de líneas, explorar una región de longitud de onda significativa requiere mucho tiempo, por lo que es impráctico hacerlo. Para resolver este problema se crearon los espectrómetros de *barrido horizontal* en los cuales la red (véase figura 10.6), o el transductor y la rendija son accionados por un motor de dos o más velocidades. En dichos instrumentos el monocromador barre o explora con mucha rapidez una longitud de onda cercana a la línea de interés. Luego, la velocidad de barrido disminuye con rapidez de modo que el instrumento explora la línea en una serie de pasos pequeños (0.01 a 0.001 nm). Con este tipo de barrido disminuye al mínimo el tiempo que se gasta en las regiones de longitud de onda que no contienen ningún dato útil, pero se invierte tiempo suficiente en las líneas del analito para obtener relaciones señal-ruido satisfactorias. En los espectrómetros, como el de la figura 10.6, en el que el movimiento de la red es controlado por computadora, se puede lograr un barrido eficaz. Por ejemplo, el espectrómetro que se muestra tiene la aptitud de barrer líneas que corresponden a 15 elementos, así como registrar sus intensidades en menos de 5 min. Sin embargo, estos instrumentos suelen ser más lentos y consumen más muestra que los instrumentos de varios canales.

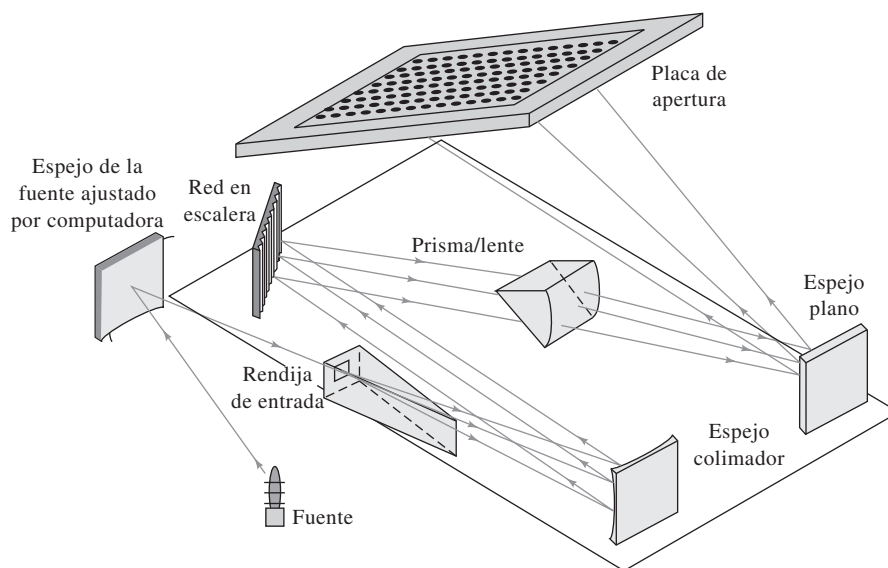


FIGURA 10.7 Esquema del sistema de espectrógrafo con red en escalera.

Espectrómetros con red en escalera para barrido. En la figura 10.7 se muestra el esquema de un espectrómetro con red en escalera que funciona como un instrumento de barrido o como un espectrómetro multicanal simultáneo. El barrido se lleva a cabo por movimiento de un tubo fotomultiplicador en las dos direcciones x y y para explorar una plancha que se ubica en el plano focal del monocromador. La plancha contiene 300 hendiduras fotográficas. El tiempo necesario para pasar de una hendidura o surco a otro es casi siempre de 1 s. El instrumento puede funcionar en la modalidad de barrido horizontal. También puede convertirse en un policromador multicanal instalando varios tubos fotomultiplicadores pequeños detrás de las rendijas adecuadas en la plancha mencionada.

Espectrómetros de canales múltiples

Los instrumentos de múltiples canales simultáneos se dividen en dos tipos generales: *policromadores* y *espectrógrafos*. Los primeros contienen una serie de tubos fotomultiplicadores para efectuar la detección y los segundos se basan en dispositivos bidimensionales de inyección de carga o en dispositivos de acoplamiento de carga como transductores.

Policromadores. En algunos espectrómetros de emisión de canales múltiples los fotomultiplicadores están detrás de rendijas fijas a lo largo de la curva focal de un policromador de red como el diseño de Paschen-Runge que se ilustra en la figura 10.8. En este caso, la rendija de entrada, la rendija de salida y la superficie de la red se localizan en la circunferencia de un *círculo de Rowland*, cuya curvatura corresponde a la curva focal

de la red cóncava. La radiación que proviene de las distintas rendijas fijas choca en los tubos fotomultiplicadores. Las rendijas vienen configuradas de fábrica para transmitir las líneas de elementos elegidos por el usuario. En dichos instrumentos, el cambio de la distribución de líneas es barato, y todo con el fin de incorporar nuevos elementos o eliminar otros. Las señales provenientes de los distintos tubos fotomultiplicadores se integran, luego se digitalizan los voltajes de salida, se transforman en concentraciones y los resultados se guardan y se despliegan. La rendija de entrada se puede mover de manera tangencial en el círculo de Rowland mediante un motor de etapas. Este dispositivo permite explorar los picos y proporciona información de las correcciones del fondo.

Ciertos espectrómetros basados en policromadores con fotomultiplicadores como transductores se han utilizado tanto con fuentes de plasma como de arco y chispa. En el caso de análisis de rutina rápidos, estos instrumentos son muy útiles. Por ejemplo, en la fabricación de aleaciones se puede completar la determinación cuantitativa de 20 o más elementos a los cinco minutos de haber recibido una muestra; de este modo es posible lograr un control riguroso de la composición de un producto final.

Además de la rapidez, los espectrómetros multicanal fotoeléctricos, suelen tener la ventaja de una buena precisión analítica. En condiciones ideales se ha obtenido una reproducibilidad del orden de 1% respecto a la cantidad presente. Puesto que otros componentes del instrumento, como la fuente, muestran niveles de precisión menores que el espectrómetro, no se consigue

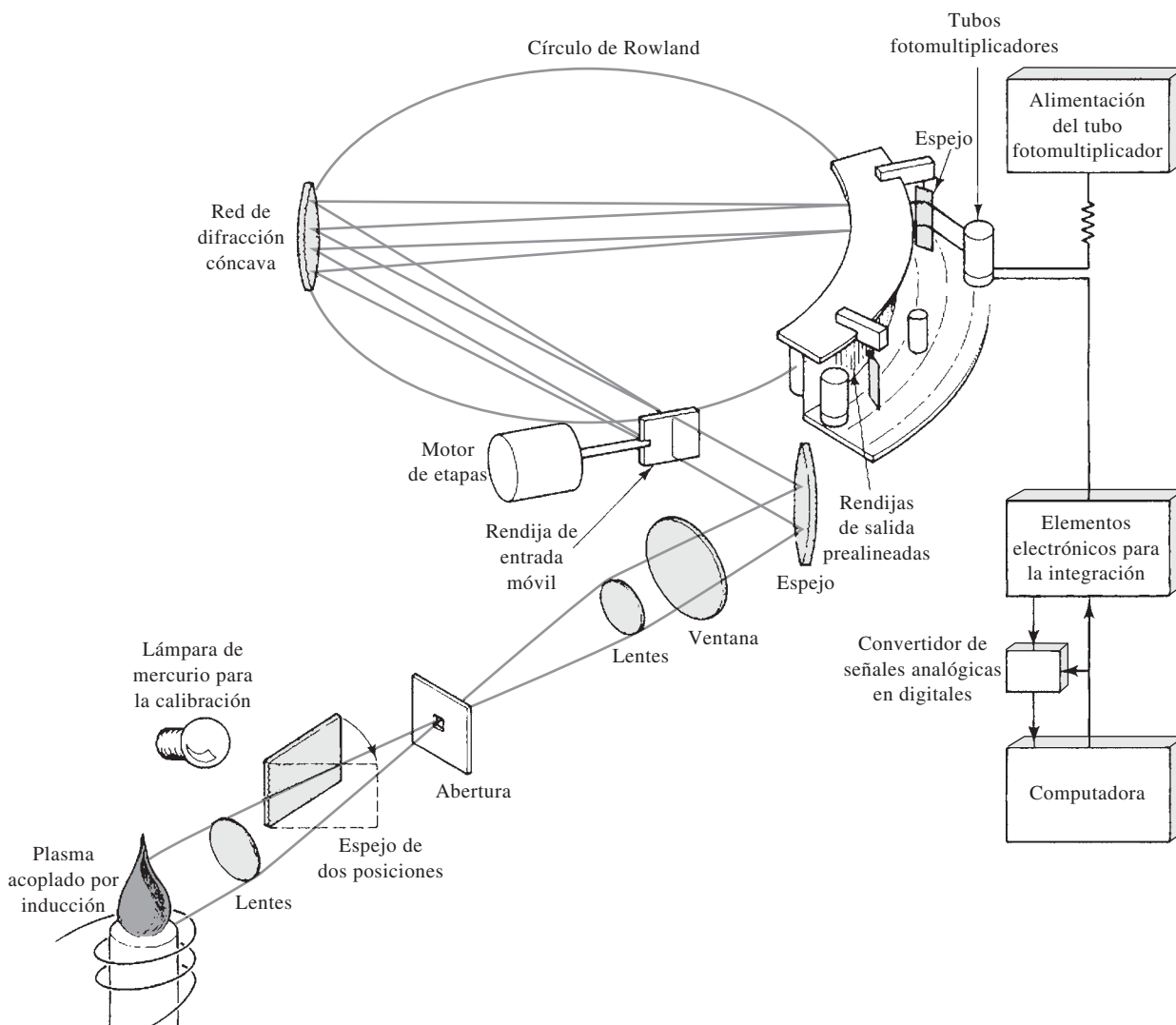


FIGURA 10.8 Espectrómetro de emisión de lectura directa con plasma acoplado por inducción. El policromador sigue el diseño de Paschen-Runge. Está formado por una red cóncava y genera un espectro alrededor de un círculo de Rowland. Rendijas de salida separadas aíslan cada línea del espectro y un tubo fotomultiplicador aparte transforma la información óptica que proviene de cada canal en una señal óptica. Observe la forma de la vista radial. (Tomado de J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 241, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988. Con autorización.)

la misma alta calidad en todo el proceso de medición. Los instrumentos multicanal de este tipo son más caros que los instrumentos secuenciales que se describieron en el apartado anterior y no son tan polifacéticos.

Instrumento con dispositivo de inyección de carga. Diversas compañías ofrecen espectrómetros simultáneos de canales múltiples que disponen de espectrómetros de red de escalera y dispositivos con arreglos bidimensionales. Este tipo de instrumentos ha sustituido otros tipos de espectrómetros multicanal de emisión en muchas aplicaciones.

La figura 10.9 es un diagrama óptico de un espectrómetro en escalera que contiene un dispositivo de inyección de carga para operación simultánea.¹² Usa un prisma de fluoruro de calcio para seleccionar los órdenes del espectro que la red en escalera forma después (véase también figura 7.21). El transductor es un dispositivo de inyección de carga (sección 7E.3) de 8.7 por 6.6 mm que contiene 94 672 elementos transductores. Un espejo de cámara toroidal enfoca las imágenes de

¹² Consulte M. J. Pilon, M. B. Denton, R. G. Schleicher, P. M. Moran y S. B. Smith, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, *44*, p. 1613.

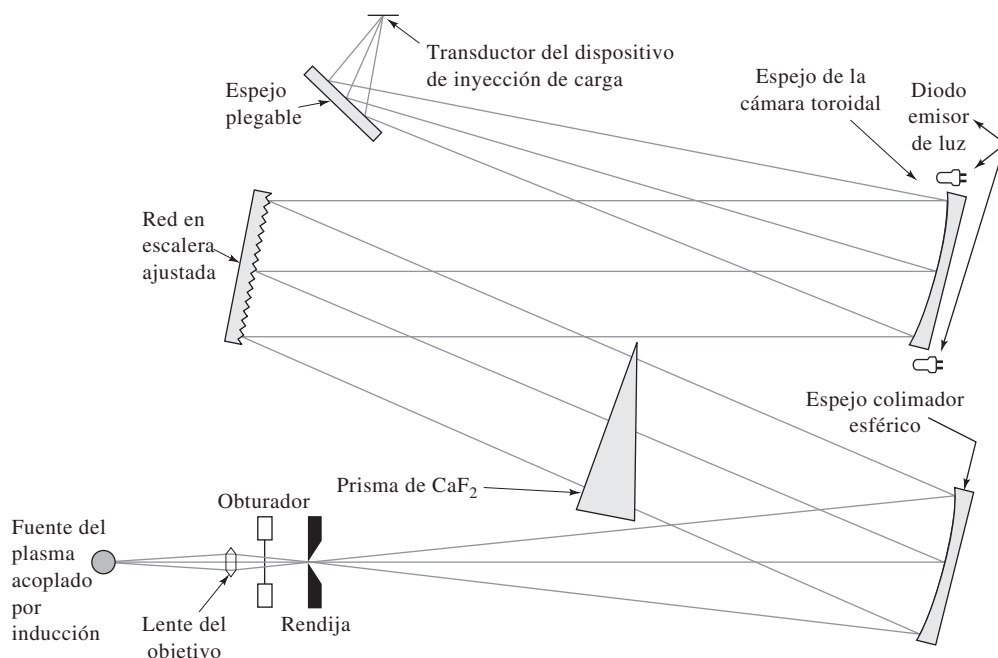


FIGURA 10.9 Diagrama óptico de un espectrómetro en escalera con un dispositivo de inyección de carga. (Tomado de R. B. Bilhorn y M. B. Denton, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, 44, p. 1615. Con autorización.)

la ranura sobre la superficie del transductor. Con el fin de eliminar las corrientes residuales en los elementos transductores, la unidad se aloja en un criostato de nitrógeno líquido que está a una temperatura de 135 K.

Se utiliza un conjunto de 39 elementos transductores, denominado *ventana de lectura*, para controlar cada línea espectral, tal como se muestra en la figura 10.10a.

Por lo regular, como se ilustra en la imagen proyectada de una de las ventanas denominadas “ventana de observación”, la línea espectral se enfoca sobre los nueve elementos centrales de la ventana y los 15 elementos situados en ambos lados del grupo central para proporcionar datos sobre la intensidad del fondo. En la figura 10.10b se muestran las intensidades registradas

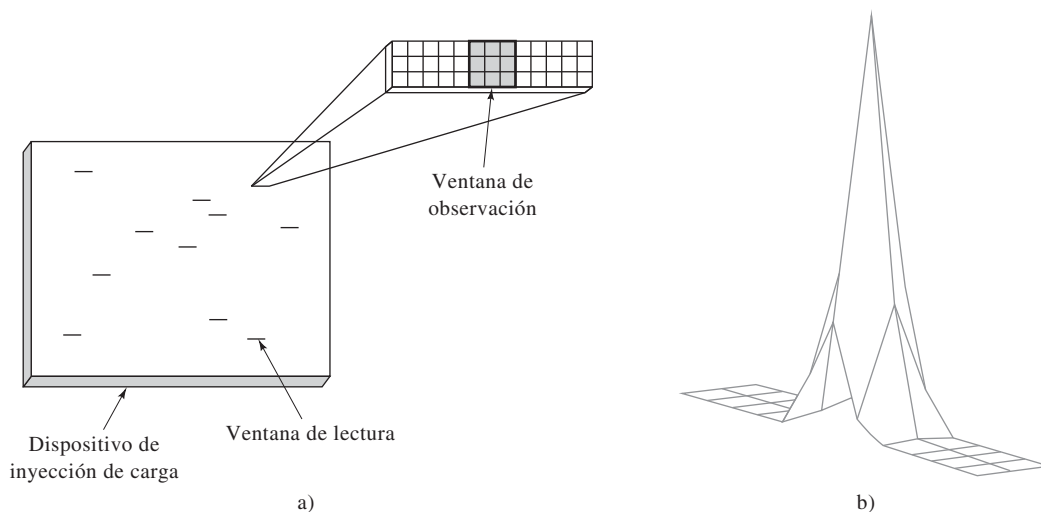


FIGURA 10.10 a) Esquema de la superficie de un dispositivo de inyección de carga. Las líneas horizontales cortas representan las ventanas de lectura. También se ilustra la imagen ampliada de una de las ventanas de lectura. Los nueve elementos centrales forman la ventana de observación, donde se coloca una línea. b) Perfil de la intensidad de una línea del hierro. Toda la radiación proveniente de la línea da en la ventana de observación de 3×3 . (Tomado de R. B. Bilhorn y M. B. Denton, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, 44, 1540. Con autorización.)

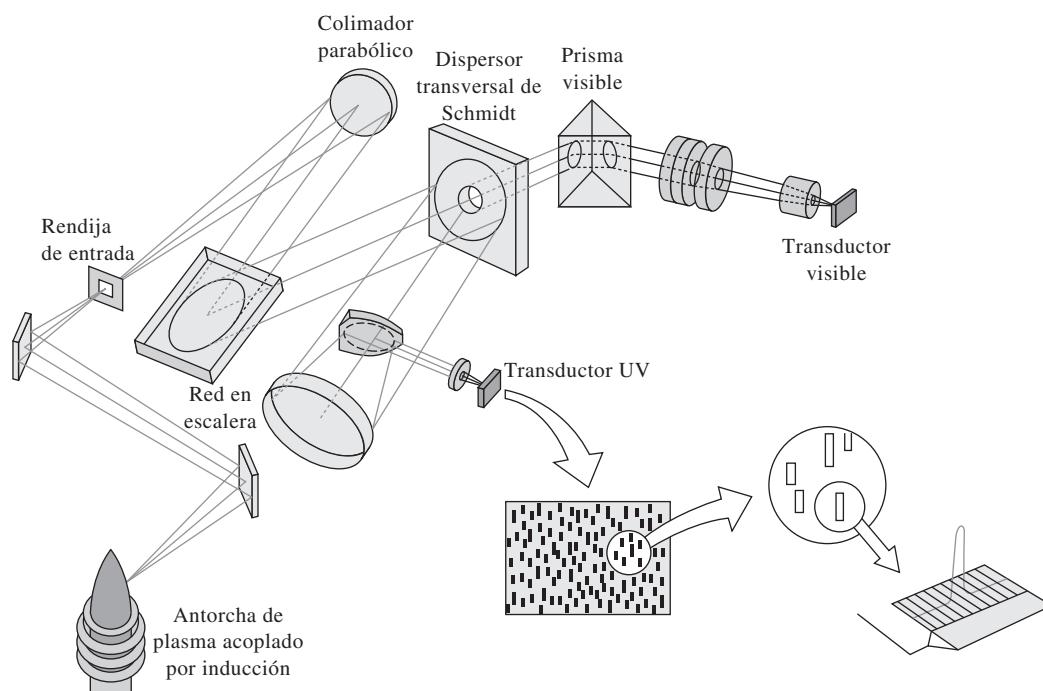


FIGURA 10.11 Espectrómetro en escalera con una configuración segmentada de dispositivos de acoplamiento de carga. (De T. W. Barnard *et al.*, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 1231, figura 1, p. 1232. Copyright 1993 American Chemical Society.)

por la ventana de lectura para la línea del hierro a 297.32 nm. Observe que la mayor parte de la radiación del hierro se enfoca en los elementos centrales de la ventana.

Una de las características útiles del dispositivo de inyección de carga, a diferencia del de acoplamiento de carga que se analiza a continuación, es que la cantidad de carga acumulada en un elemento en cualquier instante se puede controlar de manera no destructiva; es decir, no se pierde ninguna carga durante el proceso de medición. Para medir la intensidad de la línea de la forma más rápida y eficaz posible, sólo se lee en un principio la carga acumulada en los nueve elementos centrales de la ventana para determinar cuándo se ha acumulado carga suficiente para proporcionar una relación señal-ruido satisfactoria. Sólo entonces se leen los elementos restantes en los dos grupos de 15 elementos para corregir la intensidad de la línea observada por la radiación del fondo. Este proceso prosigue de manera simultánea en las ventanas de lectura para cada elemento. En el caso de una línea intensa, el tiempo necesario para acumular la carga deseada es corto. Con líneas débiles, la carga acumulada en un periodo corto se utiliza con frecuencia para determinar el tiempo de integración necesario para producir una relación señal-ruido satisfactoria. En algunos casos se necesitan tiempos de integración de 100 s o más.

La calibración periódica de la longitud de onda del espectrómetro que se acaba de describir se efectúa en

referencia a la línea de mercurio de 253.65 nm que se obtiene de una pequeña lámpara de mercurio. Se han recopilado archivos de datos de las posiciones de las líneas de más de 40 elementos. El archivo de cada elemento contiene las longitudes de onda de hasta 10 líneas y las coordenadas x y y de cada una de estas líneas espectrales respecto a las coordenadas de la línea de mercurio. Rara vez se requiere volver a calibrar la base de datos, a menos que algo perturbe de manera notable los componentes ópticos del sistema. La identificación de los elementos en la muestra se realiza por inspección visual mediante un monitor de video y unos marcadores interactivos. Con una fuente de excitación de plasma acoplado por inducción, se ha informado de límites de detección que varían desde algunas décimas de nanogramo a 10 $\mu\text{g/mL}$ para la mayor parte de los elementos. En el caso de los no metales, como el fósforo y el arsénico, los límites de detección están multiplicados por un factor de 100.

Instrumentos de dispositivos de acoplamiento de carga.

En la figura 10.11 se ilustra el diagrama óptico de un espectrómetro comercial que contiene dos sistemas de red de escalera y dos dispositivos de acoplamiento de carga; uno de los sistemas para la región de 160 a 375 nm y el otro para la región de 375 a 782 nm.¹³ La radiación proveniente del plasma entra en el espectrómetro

¹³ Una descripción detallada de este instrumento se puede consultar en T. W. Barnard *et al.*, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, pp. 1225 y 1231.

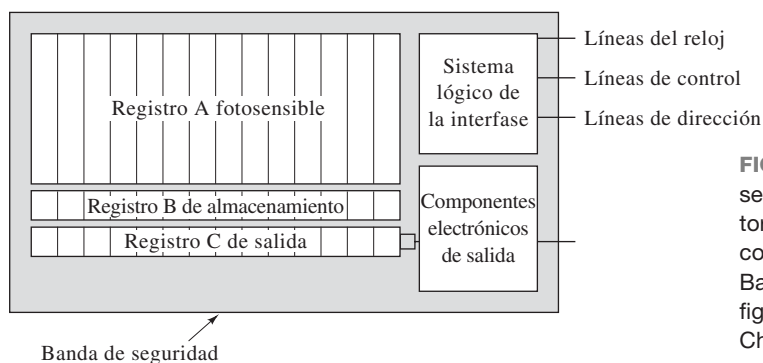


FIGURA 10.12 Esquema de la disposición de un segmento en el que se pueden ver fototransductores, registros de almacenamiento y de salida, así como los circuitos de lectura. (Tomado de T. W. Barnard *et al.*, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 1231, figura 3, p. 1232. Copyright 1993 American Chemical Society.)

a través de una rendija y luego se dispersa por medio de una red de escalera. La radiación incide en un elemento dispersor transversal de Schmidt, el cual separa los órdenes de la radiación ultravioleta, así como el haz de radiación ultravioleta del haz de radiación visible. El elemento de Schmidt consiste en una red marcada sobre una superficie esférica, que tiene un orificio en el centro por donde pasa la radiación visible y llega a un prisma, donde tiene lugar la separación de sus órdenes, como se ilustra en la figura 7.23. Los dos haces dispersados se enfocan entonces sobre la superficie de los elementos transductores, como se muestra. Observe que el esquema de la superficie del transductor del ultravioleta se muestra ampliada en la figura 10.11.

Estos sistemas detectores únicos constan de numerosas subseries, o *segmentos en serie*, fabricados en un circuito integrado de silicio, y cada subserie se sitúa de tal manera que de tres a cuatro de las principales líneas de emisión de cada uno de los 72 elementos incida en su superficie. Cada segmento en serie consta de un dispositivo de acoplamiento de carga *lineal*, no bidimensional, que está formado por 20 a 80 píxeles. La figura 10.12 es un esquema de uno de estos segmentos en serie, que está constituido por registros fotosensibles individuales, registros de almacenamiento y de salida, y salida electrónica. Puesto que cada segmento en serie puede trabajar por separado, los tiempos de integración de carga pueden variar en un intervalo lo suficientemente amplio para obtener variaciones dinámicas de 10^5 o mayores. Aunque sólo hay 224 de estos segmentos en serie en el sistema (235 en la versión que se produce en la actualidad), múltiples líneas inciden en muchas de las subseries, por lo que se pueden controlar de manera simultánea alrededor de 6000 líneas.

En la versión comercial de este espectrómetro, uno de los espejos que dirige la radiación hacia el sistema óptico está controlado por computadora, de modo que la vista del plasma puede ser axial, radial o una mezcla de ambas. Esta configuración facilita también el mejoramiento de la señal del espectrómetro. Todo el sistema óptico está dentro de un contenedor libre de impurezas, a temperatura controlada, y está protegido

contra la intensa radiación UV del plasma entre la toma de muestras mediante un obturador de operación automática para aumentar la vida del espejo de entrada. Además, hay una lámpara de mercurio incorporada al mecanismo del obturador para calibrar en forma periódica al espectrómetro. Hay diversos modelos de espectrómetros que abarcan el intervalo espectral de 163 a 782 nm o segmentos de éste, lo cual depende de si están instaladas una o ambas configuraciones.

Instrumento combinado. Una aplicación interesante y útil del policromador de Paschen-Runge y detectores en disposiciones modulares es el espectrómetro de la figura 10.13a. Se acomodan 15 o 16 módulos de dispositivos de acoplamiento de carga en serie (ocho son visibles) a lo largo de la circunferencia del círculo de Rowland para proporcionar casi una cobertura total de los 140 a los 670 nm. Cada uno de los módulos del detector (véase la figura 10.13b) contiene un espejo que refleja la radiación hacia la formación de dispositivos de acoplamiento de carga, el cual es paralelo al plano del círculo de Rowland. Los módulos se pueden intercambiar con facilidad y situar en la trayectoria óptica. Debido a su diseño relativamente reducido (115 cm de ancho por 70 de profundidad), este espectrómetro es adecuado para funcionar sobre una mesa y para su uso rutinario en los laboratorios industriales y ambientales.

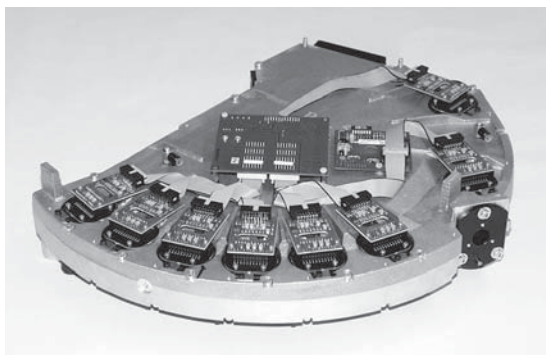
Espectrómetros de transformada de Fourier

Desde el inicio de la década de los años ochenta, diversos investigadores han descrito distintas aplicaciones de los instrumentos de transformada de Fourier en la región del espectro ultravioleta-visible mediante dispositivos con un diseño similar a los instrumentos de infrarrojo que se describen con detalle en la sección 16B.1.¹⁴ La mayor parte de estos trabajos se dedica al

¹⁴ A. P. Thorne, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, p. 57A; L. M. Faires, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 1023A.

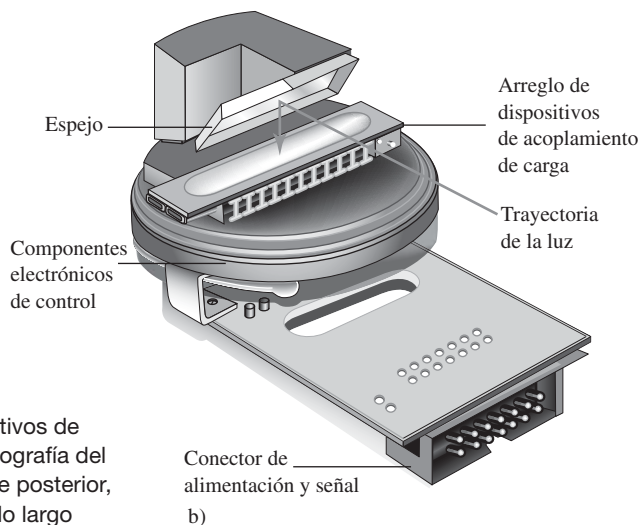


Clases interactivas: aprenda más acerca de los **espectrómetros con plasma acoplado por inducción**.



a)

FIGURA 10.13 Componentes de un espectrómetro con dispositivos de acoplamiento de carga y plasma acoplado por inducción: a) Fotografía del sistema óptico. Note el círculo de Rowland con la red en la parte posterior, la rendija en el frente y los módulos del arreglo de detectores a lo largo de la circunferencia. b) Módulo de los detectores en serie que contiene un dispositivo de acoplamiento de carga lineal de 1024 píxeles. (Cortesía de Spectro A. I. Inc., Marlborough, MA.)



b)

uso de estos instrumentos para el análisis de varios elementos con fuentes de plasma de acoplamiento por inducción. Entre las ventajas de los instrumentos de transformada de Fourier están el alcance de un amplio intervalo de longitudes de onda (de 170 nm a más de 1000 nm), rapidez, alta resolución, gran exactitud en las medidas de longitud de onda, amplio intervalo dinámico, dimensiones reducidas y alto rendimiento óptico. En contraste con los instrumentos de transformada de Fourier que trabajan en la región del infrarrojo, los instrumentos para ultravioleta-visible no ofrecen a menudo grandes ventajas de múltiplex y, de hecho, en algunas circunstancias presentan desventajas (véase la sección 7I.1). La razón de esta diferencia se debe a que, por lo regular, el funcionamiento de los instrumentos en el infrarrojo está limitado por el ruido del detector, en tanto que los espectrómetros en el ultravioleta-visible están restringidos por el ruido de disparo y el ruido intermitente asociado con la fuente.

Un instrumento de transformada de Fourier para la región del ultravioleta-visible apareció por primera vez en el mercado a mediados de los años ochenta.¹⁵ Sin embargo, las tolerancias mecánicas necesarias para conseguir una buena resolución con este tipo de instrumentos son muy elevadas. Por consiguiente, son muy caros y se utilizan casi siempre en proyectos de investigación más que en aplicaciones analíticas de rutina.

10A.4 Aplicaciones de las fuentes de plasma

Las fuentes de plasma generan espectros ricos en líneas de emisión características, lo que las hace útiles

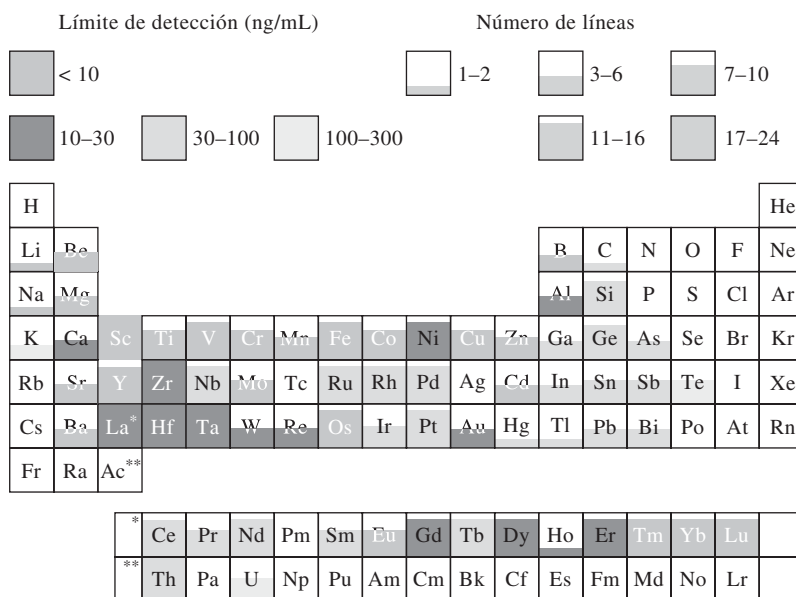
para el análisis elemental tanto cualitativo como cuantitativo.¹⁶ Las fuentes de plasma de acoplamiento por inducción y de corriente continua proporcionan datos analíticos cuantitativos mucho mejores que otras fuentes de emisión. La calidad de dichos resultados radica en su gran estabilidad, bajo ruido, poca radiación de fondo y la ausencia de interferencias al trabajar en condiciones experimentales apropiadas. El funcionamiento de la fuente de plasma de acoplamiento por inducción es algo mejor que el de la fuente de plasma de corriente continua en cuanto a los límites de detección. Sin embargo, el plasma de corriente continua es más barato y su mantenimiento cuesta menos, y para muchas aplicaciones analíticas resulta del todo satisfactorio.

Preparación de la muestra

La espectroscopía de emisión de plasma acoplado por inducción se utiliza sobre todo para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras que están disueltas o en suspensión en solventes acuosos u orgánicos. Los métodos para la preparación de dichas soluciones son similares a los que se describieron en la sección 9D.1 para los métodos de absorción de llama. Con la emisión de plasma es posible analizar directamente muestras sólidas. Para ello se utilizan procedimientos de vaporización electrotérmica, ablación por láser o por chispa y vaporización de descarga luminiscente, todos

¹⁵ Véase *Anal. Chem.*, **1985**, 57, p. 276A; D. Snook y A. Grillo, *Amer. Lab.*, **1986** (11), p. 28; F. L. Boudais y J. Buija, *Amer. Lab.*, **1985** (2), p. 31.

¹⁶ Para un estudio interesante de las aplicaciones de las fuentes de emisión de plasma véase J. A. Nolte, *ICP Emission Spectrometry: A Practical Guide*, Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 2003; *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectroscopy*, 2a. ed., A. Montaser y D. W. Golightly, eds., Nueva York: Wiley-VCH, 1992; M. Thompson y J. N. Walsh, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*, 2a. ed. Glasgow: Blackie, 1989.



descritos en la sección 8C.2. Las suspensiones de sólidos en solución pueden también manipularse con un nebulizador tipo Babington, como el que se muestra en la figura 8.11*d*.

Elementos que se pueden identificar

En principio, se pueden identificar todos los elementos metálicos mediante espectrometría de emisión de plasma. Para la determinación de boro, fósforo, nitrógeno, azufre y carbono se necesita un espectrómetro de vacío, porque las líneas de emisión de estos elementos se encuentran por debajo de longitudes de onda inferiores a 180 nm, zona donde los componentes atmosféricos absorben radiación. La utilidad para determinar metales alcalinos se encuentra limitada por dos dificultades: 1) las condiciones de trabajo que se pueden adaptar para identificar la mayoría de los otros elementos no son adecuadas para los metales alcalinos, y 2) las líneas más intensas del Li, K, Rb y Cs se sitúan en longitudes de onda del infrarrojo cercano, lo que ocasiona problemas de detección con muchos espectrómetros de plasma que están diseñados principalmente para la radiación ultravioleta. Debido a esta clase de problemas, la espectroscopía de emisión de plasma se limita en general a la identificación de alrededor de 60 elementos.

La tabla periódica de la figura 10.14 muestra la aplicabilidad de la espectrometría de emisión de plasma acoplado por inducción a diversos elementos. Los límites de detección para las mejores líneas de cada elemento se indican con el tono de gris y el grado de sombreado. Las áreas de sombreado indican la canti-

dad de líneas para cada elemento que proporcionan un límite de detección dentro de un factor de 3 de la mejor línea. Cuantas más líneas de este tipo haya disponibles, tanto mayor es la probabilidad de encontrar una línea útil sin interferencias, cuando la matriz produce un espectro rico en líneas.

Selección de la línea

En la figura 10.14 se muestra que la mayor parte de los elementos contiene varias líneas intensas que se pueden utilizar para identificarlos y cuantificarlos. En varias publicaciones se puede encontrar información sobre las líneas más notables, con su longitud de onda con tres cifras decimales y la intensidad apropiada para más de 70 elementos.¹⁷ Por consiguiente, se puede encontrar una línea apropiada para identificar cualquier elemento. La selección depende de la consideración de qué elementos aparte del analito podrían estar presentes en la muestra y de si existe la posibilidad de que las líneas de estos elementos se traslapen con las líneas del analito.

Curvas de calibración

Con frecuencia, las curvas de calibración en espectrometría de emisión de plasma consisten en una gráfica de una señal eléctrica proporcional a la intensidad de

¹⁷ Véase R. K. Winge, V. A. Fassel, V. J. Peterson y M. A. Floyd, *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy: An Atlas of Spectral Information*, Nueva York: Elsevier, 1985; P. W. J. M. Boumans, *Line Coincidence Tables for Inductively Coupled Plasma Spectrometry*, 2a. ed., Oxford: Pergamon, 1984; C. C. Wohlers, *ICP Information Newsletter*, **1985**, 10, p. 601.

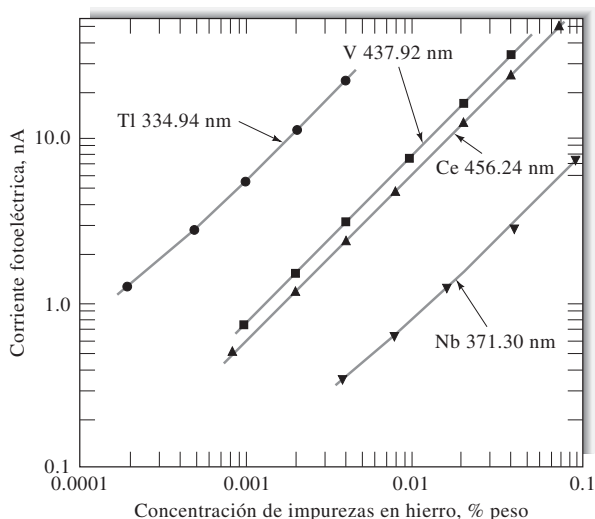


FIGURA 10.15 Curvas de calibración características en espectrometría de emisión con plasma acoplado por inducción. (Tomado de V. A. Fassel y R. N. Kniseley, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, p. 1110A, figura 1, p. 1117A. Copyright 1974 American Chemical Society.)

la línea contra la concentración del analito. Cuando el intervalo de concentración es grande, se utiliza entonces una gráfica log-log. En la figura 10.15 se muestran unas curvas de calibración representativas para cuatro elementos traza presentes en muestras de acero. A menudo, las curvas de calibración son lineales, como las dos curvas centrales de la figura. Pero hay desviaciones de la linealidad cuando se abarcan intervalos grandes de concentración (véase las dos rectas exteriores de la figura 10.15). La principal causa de la no linealidad es la *autoabsorción*, en la cual la señal de salida disminuye como consecuencia de la absorción por parte de átomos en el estado basal presentes en medio. La autoabsorción sólo comienza a ser evidente a altas concentraciones del analito, y obliga a la curva de calibración a flexionarse hacia el eje de las abscisas. Ninguna de las gráficas de la figura 10.15 manifiesta autoabsorción. La no linealidad surge también de correcciones del fondo erróneas, de la ionización y de respuestas no lineales de los sistemas de detección. La no linealidad de las curvas del niobio y el talio a concentraciones bajas es tal vez consecuencia de correcciones incorrectas del fondo. Observe que las desviaciones de la linealidad se alejan siempre del eje de la concentración.

Con frecuencia se utiliza un patrón interno en la espectrometría de emisión. En este caso, el eje vertical de la curva de calibración representa la relación o el logaritmo de la relación entre la señal del detector para el analito y la señal del patrón interno. La figura 10.16 muestra las curvas de calibración para varios ele-

mentos. En estos experimentos se añade una cantidad constante de itrio a todos los patrones y la intensidad relativa de la línea del analito respecto a la línea del itrio a 242.2 nm sirve como parámetro analítico. Observe que todas las curvas son lineales y abarcan un intervalo de concentración de casi tres órdenes de magnitud. Asimismo, observe que algunos de los datos se obtuvieron introduciendo distintas cantidades del analito y del patrón interno en agua pura. Otros datos son de soluciones que contienen concentraciones relativamente elevadas de diferentes sales, lo que demuestra la inexistencia de interferencias entre los elementos.

Al igual que en espectroscopía de absorción atómica, se tienen que introducir de manera periódica uno o más patrones para corregir los efectos de deriva instrumental. La mejora en la precisión que se obtiene con este procedimiento se ilustra en los datos de la tabla 10.2. Observe también que la precisión mejora cuando se miden concentraciones altas de analito.¹⁸

¹⁸ Un trabajo útil sobre precisión en la espectrometría con plasma acoplado por inducción aparece en R. L. Watters Jr., *Amer. Lab.*, **1983**, 15 (3), p. 16.

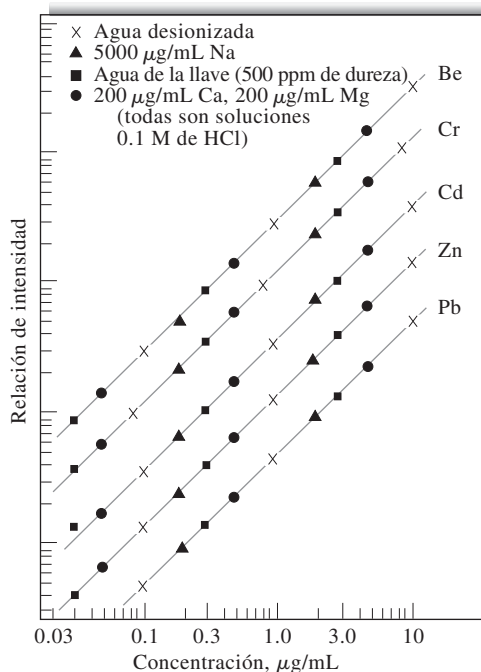


FIGURA 10.16 Curvas de calibración del patrón interno con una fuente de plasma acoplado por inducción. En este caso, una línea de itrio a 242.2 nm sirvió como patrón interno. Observe la ausencia de interferencia entre los elementos. (Tomado de V. A. Fassel, *Science*, **1978**, 202, p. 187. Con autorización. Copyright 1978 por la American Association for the Advancement of Science.)

TABLA 10.2 Efecto de la frecuencia de estandarización sobre la precisión de los datos de plasma acoplado por inducción.

Frecuencia de recalibración, horas	Desviación estándar relativa, %			
	10 ¹ a 10 ²	Concentración múltiple por arriba del límite de detección		10 ⁴ a 10 ⁵
		10 ² a 10 ³	10 ³ a 10 ⁴	
0.5	3-7	1-3	1-2	1.5-2
2	5-10	2-6	1.5-2.5	2-3
8	8-15	3-10	3-7	4-8

Información de R. M. Barnes en *Applications of Inductively Coupled Plasmas to Emission Spectroscopy*, R. M. Barnes, ed., p. 16, Filadelfia: The Franklin Institute Press, 1978. Con autorización.

Interferencias

Las interferencias químicas y los efectos de matriz son significativamente menores con plasma que con otros atomizadores, tal como se subrayó antes. Sin embargo, a concentraciones bajas de analito, la emisión de fondo debida a la recombinación de iones de argón con electrones es lo suficientemente intensa como para requerir correcciones cuidadosas. Tanto para los instrumentos de un solo canal como para los de múltiples canales, esta correlación se logra tomando lecturas de fondo en ambos lados de la línea de interés. Los instrumentos más modernos ya contienen programas de computación diseñados para ejecutar de manera automática las correcciones de fondo o el operador puede realizarlas.

Como los espectros con plasma acoplado por inducción de muchos elementos son tan ricos en líneas, siempre son posibles las interferencias espectrales. Para evitar este tipo de error se requiere conocer todos los componentes que de manera previsible podrían estar presentes en la muestra y estudiar con detalle la información contenida en los trabajos que se citan en la nota a pie de página número 16. Los programas para los instrumentos computarizados modernos pueden ejecutar excelentes rutinas para calibrar longitudes de onda y concentraciones, análisis espectral y desconvolución de líneas sobrepuestas. Dichas características junto con las bases de datos ya integradas de líneas espectrales hacen de la identificación y la corrección por

interferencias una parte importante del proceso analítico.

Límites de detección

Por lo general, los límites de detección obtenidos con la fuente de plasma acoplado por inducción son similares o mejores que los que proporcionan otros procedimientos espectrales atómicos. En la tabla 10.3 se comparan estos límites para varios de estos métodos. Tome en cuenta que se pueden detectar más elementos en niveles de 10 partes por mil millones (ppmm) o menos mediante excitación con plasma que con otros métodos de emisión o absorción. De acuerdo con lo que se trata en el capítulo 11, el plasma acoplado por inducción junto con la detección espectrométrica de masas mejora los límites de detección de dos a cinco órdenes de magnitud para muchos elementos y, por consiguiente, es un poderoso competidor para la espectroscopía de emisión óptica con plasma acoplado por inducción.

10B ESPECTROSCOPÍA DE EMISIÓN CON FUENTES DE ARCO Y CHISPA

Las espectroscopías con fuentes de arco y chispa fueron los primeros métodos instrumentales que más se utilizaron en el análisis. Estas técnicas, que empezaron a reemplazar en los años veinte los métodos gravimétricos y volumétricos clásicos para el análisis elemental,

TABLA 10.3 Comparación de los límites de detección de algunos métodos espectrales atómicos.

Método	Número de elementos detectados a una concentración de				
	<1 ppb	1-10 ppb	11-100 ppb	101-500 ppb	>500 ppb
Emisión de plasma acoplado por inducción	9	32	14	6	0
Emisión atómica de llama	4	12	19	6	19
Fluorescencia atómica de llama	4	14	16	4	6
Absorción atómica de llama	1	14	25	3	14

Datos resumidos con la autorización de V. A. Fassel y R. N. Kniseley, *Anal. Chem.*, **1974**, 46 (13), p. 1111A. Copyright 1974 American Chemical Society. Los límites de detección corresponden a una señal que es dos veces más grande que la desviación estándar del ruido de fondo.

se basaron en la obtención de espectros de emisión de los elementos por medio de su excitación con arcos eléctricos o chispas de alta tensión. Estos espectros permiten la determinación cualitativa y cuantitativa de elementos metálicos en varios tipos de muestras, como metales y aleaciones, suelos, minerales y rocas.¹⁹ Las fuentes de arco y chispa todavía se usan en análisis cualitativo y semicuantitativo, sobre todo en las industrias de los metales. Las fuentes de plasma están desplazando a los arcos y las chispas, y es probable que esta tendencia continúe.

En las fuentes de arco y chispa la excitación de la muestra se produce en el pequeño espacio existente entre un par de electrodos. El paso de electricidad entre los electrodos a través de este pequeño espacio proporciona la energía necesaria para atomizar la muestra y producir átomos o iones en estado electrónico excitado.

10B.1 Tipos de muestra y manipulación de la muestra

En la actualidad los métodos con fuentes de arco o de chispa se restringen al análisis elemental de sólidos porque las muestras líquidas o gaseosas se manipulan mucho mejor con métodos de emisión de plasma, que se trataron en las secciones anteriores.

Metales

Si la muestra es un metal o una aleación, uno o ambos electrodos se pueden preparar fresando, torneando o vaciando el metal fundido en un molde. Lo ideal es conformar el electrodo como una varilla cilíndrica de 3 a 6 mm de diámetro, y con uno de sus extremos ahusado. En el caso de algunas muestras es más conveniente utilizar como uno de los electrodos una superficie plana y pulimentada de un trozo grande del metal, y una varilla ahusada de grafito o de metal para el otro electrodo. En última instancia, no importa la forma de la muestra; lo que sí importa es evitar la contaminación de la superficie durante su preparación.

Sólidos no metálicos

En el caso de materiales no metálicos, la muestra se coloca a menudo sobre un electrodo cuyo espectro de emisión no interfiera con el análisis. El carbono es un material ideal para electrodos en muchas aplicaciones. Se puede obtener en forma muy pura, es un buen conductor, posee una buena resistencia al calor y se moldea con facilidad. Los fabricantes ofrecen electro-

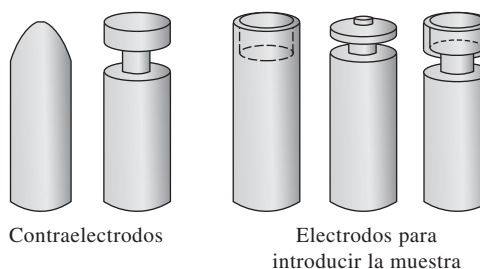


FIGURA 10.17 Algunas formas típicas de los electrodos de grafito. Los cuellos estrechos reducen la conductividad térmica.

dos de carbono de muchos tipos, tamaños y formas. A menudo, uno de los electrodos tiene forma cilíndrica con un pequeño cráter taladrado en uno de los extremos donde se introduce la muestra finamente pulverizada. El otro electrodo es una varilla de carbono en forma ahusada, con la punta ligeramente redondeada. Al parecer, esta configuración proporciona el arco o la chispa más estables y reproducibles. En la figura 10.17 se ilustran algunas de las formas de electrodos más comunes.

En otro método de atomización que se usa con frecuencia, la muestra finamente pulverizada se mezcla con una gran cantidad de polvo de grafito, cobre u otra sustancia conductora y compresible. La mezcla que resulta se comprime a alta presión para dar forma al electrodo. Este procedimiento se llama *granulación* o *briqueado*.

10B.2 Instrumentos para la espectroscopía con fuentes de arco y de chispa

Debido a su inestabilidad, es necesario integrar las señales de emisión provenientes de las fuentes de arco y de chispa durante al menos 20 s, y a menudo, durante un minuto o más, para obtener datos analíticos reproducibles. Esta condición hace que el uso de espectrómetros secuenciales, como los descritos en la sección 10A.3, sea poco práctico para la mayor parte de las aplicaciones, y requiere que se usen en forma simultánea instrumentos de canales múltiples. En la espectroscopía de arco y de chispa se usan dos tipos de instrumentos multicanal: 1) espectrógrafos, que se describen brevemente a continuación, y 2) espectrómetros de canales múltiples como los que se describieron en la sección 10A.3.

Espectrógrafos

Al comienzo de la década de los años treinta una gran parte de los laboratorios industriales de todo el mundo recurrió a la espectroscopía de emisión de arco y de chispa para el análisis elemental de materias primas, productos intermedios y productos terminados. En los primeros años el único instrumento disponible para

¹⁹ Para más detalles consulte J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, cap. 9, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988; R. D. Sacks, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 7, cap. 6, Nueva York: Wiley, 1981; P. W. J. M. Boumans en *Analytical Emission Spectroscopy*, vol. 1, parte I, E. L. Grove, ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1972.

este tipo de análisis era el *espectrógrafo* el cual contenía una película o una placa fotográfica en el plano o curva focal.

Una gran desventaja del registro fotográfico es el tiempo que se requiere para obtener un análisis espectral. Para estas operaciones se necesita exponer la placa o la película fotográfica mientras las muestras y los patrones se someten a excitación; retirar la emulsión en un cuarto oscuro, donde se revela, fija, lava y seca, y luego examinar la placa o la película expuesta en un comparador que permite identificar las líneas. Este proceso consume horas. Si se necesita un análisis cuantitativo, se requiere aún más tiempo para calibrar la película o las placas. Con el surgimiento de los sistemas de detección multicanal electrónicos de alta velocidad, los espectrógrafos que utilizan placas o películas se usan hoy raras veces en el análisis químico, excepto en situaciones especiales. Por esta razón estos instrumentos no se tratan en este libro.²⁰

Espectrómetros fotoeléctricos de canales múltiples

Después de que surgieron los transductores fotoeléctricos en los años treinta, se pudieron conseguir en el mercado los espectrómetros fotoeléctricos de canales múltiples.

Instrumentos fotomultiplicadores con varios canales.

En la industria metalúrgica siempre ha existido la necesidad imperiosa de disponer de un método mediante el cual se determine con suficiente rapidez la cantidad de varios metales en muestra, de tal modo que se pueda ajustar la composición de la mezcla fundida antes de verterla. Ésta y otras necesidades en que la rapidez es un factor importante ocasionaron que se perfeccionaran y difundieran ampliamente los policromadores fotoeléctricos, como el que aparece en la figura 10.8. Estos instrumentos son grandes y, a menudo, poco versátiles, porque el cambio de posición de las rendijas y de los fotomultiplicadores con el fin de ajustarse a los distintos grupos de elementos consume tiempo, además, en algunos instrumentos no es posible realizar esta tarea en el laboratorio del propio usuario. No obstante, una vez que un instrumento de este tipo está ajustado y calibrado, es capaz de determinar 20 elementos o más con una exactitud razonable en pocos minutos. Por todo ello, la aplicación de estos instrumentos se limita en general a situaciones en las que hay una gran demanda de análisis rutinarios de muestras similares. En las industrias metalúrgicas, las fuentes de chispa se emplean para la excitación de muestras y proporcionan resultados precisos y exactos.

Instrumentos de canales múltiples con dispositivos de transferencia de carga.

En el mercado se pueden conseguir espectrómetros que ofrecen la versatilidad de los espectrógrafos con registro fotográfico y la rapidez y precisión de los espectrómetros equipados con numerosos fotomultiplicadores. Estos instrumentos son los espectrómetros de varios canales equipados con dispositivos en serie, como los que se pueden ver en las figuras 10.11 y 10.13. El diseño original de muchos de estos instrumentos fue pensado para trabajar con fuentes de plasma, pero ahora se utilizan también con fuentes de arco y de chispa.

10B.3 Espectroscopía de emisión con fuente de arco

La fuente de arco común para un análisis espectroquímico está constituida por un par de electrodos de grafito o de metal separados unos pocos milímetros. El arco se enciende mediante una chispa de baja intensidad de corriente que ocasiona la formación momentánea de iones para conducir electricidad en el espacio entre los electrodos; una vez que se inicia el arco, la ionización térmica mantiene la corriente. Otra posibilidad es iniciar el arco uniendo los electrodos para producir el calor necesario para la ionización; luego, los electrodos se separan a la distancia deseada.

En un arco típico se utilizan corrientes de 1 a 30 A. Por lo general, una fuente de arco de corriente cd tiene un voltaje de circuito abierto de unos 200 V. También hay fuentes de arco de corriente alterna que funcionan entre valores de alta tensión de 2200 a 4400 V o de baja tensión de 100 a 400 V. En ambos tipos, el arco se extingue al finalizar cada medio ciclo. En el tipo de alta tensión, el arco se vuelve a encender de manera espontánea; en el arco de baja tensión la nueva ignición se logra mediante la descarga de una chispa de baja corriente.

Características de las fuentes de arco

La electricidad en un arco se produce por el movimiento de los electrones y los iones que se forman por ionización térmica; la alta temperatura que se produce se debe a que los iones se resisten a moverse en el espacio donde se produce el arco. Por consiguiente, la temperatura del arco depende de la composición del plasma, que a su vez depende de la velocidad de formación de las partículas atómicas y iónicas a partir de la muestra y los electrodos. La temperatura característica del plasma es de 4000 a 5000 K.

Los espectros que se obtienen en un arco característico contienen muchas líneas intensas en el caso de átomos y una cantidad menor de líneas en las especies iónicas. Observe que en los grupos de datos de líneas espectrales, las longitudes de onda van seguidas con frecuencia por I, II y III para indicar el origen de la lí-

²⁰ Un estudio sobre la detección fotográfica cuantitativa se encuentra en J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, pp. 267-268, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.

nea, es decir, si proviene de un átomo neutro, un ion con una sola carga o un ion con doble carga, respectivamente.

Bandas espectrales debidas al cianógeno. Cuando se produce el arco en una atmósfera de aire con un electrodo de carbono o grafito, se emiten unas bandas intensas a causa de la presencia de radicales cianógeno (CN). El resultado es que la mayor parte de la región comprendida entre 350 y 420 nm no se puede utilizar para el análisis elemental. Desafortunadamente, varios elementos tienen sus líneas más sensibles en esta región. Para evitar o reducir al mínimo esta interferencia, la excitación con arco se lleva a cabo en una atmósfera controlada de dióxido de carbono, helio o argón. Incluso en estas condiciones, la banda de emisión de CN no se elimina del todo, a menos que se calienten los electrodos al vacío para eliminar el nitrógeno adsorbido.

Velocidad de emisión. La velocidad a la cual las especies se volatilizan y se excitan es muy diferente para cada una. Los espectros de algunas especies aparecen pronto y luego desaparecen a medida que se consume la muestra. Los espectros de otras especies alcanzan su máxima intensidad en tiempos más largos. Por consiguiente, es necesario integrar las señales de emisión durante un minuto o más. En el caso de muestras pulverizadas, la señal de las líneas de varios elementos surge con rapidez durante este periodo y luego disminuye hasta cero conforme las especies se vaporizan. Debido a este comportamiento, las muestras pulverizadas a menudo se queman hasta que se consumen por completo; las señales de salida integradas sirven como variables analíticas.

Aplicaciones de las fuentes de arco

Las fuentes de arco son muy útiles para el análisis cualitativo y semicuantitativo de muestras no metálicas, como suelos, muestras vegetales, rocas y minerales. Los tiempos de excitación y las corrientes del arco se ajustan de tal manera que se produzca la volatilización completa de la muestra; son comunes las corrientes de 5 a 30 A durante 20 a 200 s. Casi siempre se mezclan de 2 a 50 mg de la muestra en la forma de polvo, pequeños trozos, granalla o limaduras, con una cantidad en peso de grafito y se introducen en la cavidad de los electrodos de grafito. Por lo general, el electrodo portamuestras es el ánodo y el segundo, el contraelectrodo de grafito, actúa como cátodo.

La excitación con arco también se utiliza para análisis cualitativo o cuantitativo. Sin embargo, la precisión obtenida con el arco es mucho más baja que con la chispa y aún más que con el plasma o la llama. Además, las intensidades de emisión de las muestras sólidas dependen en gran medida de la muestra. Por consiguiente, es necesario igualar la matriz de patrones y

muestras para obtener resultados satisfactorios. Para solucionar una parte de este problema se utiliza siempre el método del patrón interno.

10B.4 Fuentes de chispa y espectros de chispa

Se ha perfeccionado una variedad de circuitos que producen chispas de alta tensión para la espectroscopía de emisión. Se ha comprobado que una chispa intermitente que siempre se propaga en la misma dirección proporciona mayor precisión y menor deriva de la emisión radiante. Por este motivo, a menudo la tensión de la línea de corriente alterna se rectifica antes de subirla de 10 a 50 kV en una bobina. Se utiliza un conjunto de circuitos de estado sólido para controlar tanto la frecuencia como la duración de la chispa. Por lo general, con una corriente de 60 Hz se producen cuatro descargas de chispa por cada semiciclo.

La corriente *promedio* en una chispa de alta tensión suele ser del orden de unas pocas décimas de ampere, la cual es bastante menor que la corriente de un arco característico. Por otra parte, en la fase inicial de la descarga, la corriente *instantánea* puede sobrepasar los 1000 A. En esta fase inicial la electricidad circula por un canal angosto que ocupa sólo una mínima parte del espacio total en el que se produce la chispa.²¹ Se calcula que la temperatura en este canal puede llegar a ser de 40 000 K. Por tanto, aunque la temperatura media de una fuente de chispa es mucho menor que la de un arco, la *energía* en el pequeño volumen del canal puede ser varias veces mayor. Como resultado, los espectros de los iones son más pronunciados en una chispa de alta tensión que en un arco. En efecto, los espectroscopistas denominan a menudo “líneas de chispa” a las que emiten los iones.

Aplicaciones de la espectroscopía con fuente de chispa

Los análisis cuantitativos con chispa requieren un control preciso de muchas variables que intervienen en la preparación y excitación de la muestra. Además, las mediciones cuantitativas requieren un conjunto de patrones preparados con todo cuidado para la calibración; éstos se deben aproximar tanto como sea posible a la composición y propiedades físicas de las muestras por analizar. En general, los análisis por fuente de chispa se basan en la relación que hay entre la intensidad de la línea del analito y la intensidad de una línea del patrón interno, casi siempre una línea de uno de los componentes principales de la muestra. En condiciones ideales se pueden obtener desviaciones estándar relativas de un pequeño valor porcentual con las medidas espectrales con fuente de chispa.

²¹ Para una descripción de la naturaleza fundamental de las descargas analíticas de la chispa consulte J. P. Walters, *Science*, **1977**, 198, p. 787.

En la actualidad, la principal aplicación de la espectroscopia de emisión con fuente de chispa es en la identificación y análisis de metales y otros materiales conductores. A menudo la detección se lleva a cabo mediante un policromador equipado con tubos fotomultiplicadores, pero ya se ofrecen también en el mercado espectrómetros con detectores en serie. Además, varios instrumentos modernos de múltiples canales están equipados ya con fuentes intercambiables que permiten excitar por medio de plasmas, arcos, chispas, descarga luminiscente y rayos láser. Las chispas de alta tensión también se han vuelto dispositivos importantes para fusionar muestras sólidas antes de introducir las en fuentes de excitación por plasma.

Los espectrómetros con fuente de chispa y fuente de arco se utilizan de manera importante en fundiciones, fábricas, chatarrerías y en instalaciones de vaciado de metales. Los instrumentos que se utilizan en estas aplicaciones son con frecuencia móviles y están equipados con una pistola portátil, que es la fuente de arco o chispa con la que el operador toca la superficie metálica para producir la excitación. Estos equipos se utilizan para identificar con rapidez tipos de aleaciones y analizar las mezclas fundidas antes de vaciar la pieza. Los espectrómetros de arco o de chispa más pequeños (por ejemplo, de 2.25 kg y dimensiones de $30 \times 20 \times 10$ cm) son autónomos, funcionan con baterías, su desempeño se basa en dispositivos de acoplamiento de carga con calibraciones programadas a partir de bases de datos de aleaciones y metales comunes. Estos aparatos se usan para seleccionar metales de acuerdo con un tipo en chatarrerías y centros de reciclaje.

10C FUENTES DIVERSAS PARA ESPECTROSCOPÍA DE EMISIÓN ÓPTICA

En este apartado se estudian otras tres fuentes de emisión diferentes de las de plasma, arco y chispa que ya se describieron, a saber: fuentes de emisión de llama, fuentes de descarga luminiscente y la microsonda de rayo láser.

10C.1 Fuentes de emisión de llama

Durante muchos años, las llamas se utilizaron para obtener los espectros de emisión por excitación de diversos elementos, y los más modernos espectrómetros de absorción atómica están adaptados para efectuar mediciones mediante la emisión de una llama. Sin embargo, las llamas no se utilizan mucho con este propósito porque los métodos de absorción proporcionan resultados tan buenos o mejores en cuanto a exactitud, conveniencia y límites de detección en la mayoría de las determinaciones de un único elemento. Para el análisis de varios elementos, las fuentes de plasma son

bastante superiores a las llamas en muchos aspectos. Por estas razones, la espectrometría de emisión de llama se utiliza poco, excepto en la determinación de metales alcalinos y, a veces, de calcio. Estos elementos se excitan a las temperaturas relativamente bajas de las llamas para dar espectros que son muy sencillos y que carecen de interferencias de otras especies metálicas. Los espectros de metales alcalinos constan de unas pocas líneas bastante intensas, muchas de las cuales están en la región visible y permiten efectuar las mediciones cuantitativas de emisión.

Puesto que estos espectros son sencillos, los fotómetros de filtro básico son aceptables para las determinaciones rutinarias de metales alcalinos y alcalinotérreos. Se utilizan llamas de temperatura baja para evitar la excitación de la mayoría de los otros metales. Por consiguiente, se pueden utilizar filtros de interferencia para aislar la línea de emisión deseada.

Varios fabricantes de instrumentos ofrecen fotómetros de llama diseñados específicamente para la determinación de sodio, potasio, litio y, algunas veces, calcio en suero sanguíneo, orina y otros líquidos biológicos. Ya hay instrumentos de un solo canal y de varios canales (de dos a cuatro) para estas determinaciones. En los instrumentos de varios canales, cada uno de ellos se usa para determinar elementos separados sin un patrón interno, o uno de los canales se reserva para un patrón interno como el litio. Las relaciones entre las señales provenientes de los otros canales y la señal del canal del litio se consideran luego para compensar el ruido de la llama y el ruido de fluctuaciones en el caudal del reactivo. Los fotómetros de llama como éstos se han acoplado a sistemas de inyección en flujo para automatizar el proceso de introducción de la muestra (véase la sección 33B.3). Las precisiones características para las determinaciones fotométricas con llama basadas en el análisis por inyección de flujo de litio, sodio y potasio en suero están en el orden de un muy bajo porcentaje. Los procedimientos por inyección de flujo automáticos requieren 1/100 de la cantidad de la muestra y 1/10 del tiempo en comparación con los procedimientos por lotes.²²

Los metales alcalinos se determinan todos los días en una gran cantidad de muestras en todo el mundo, pero la mayor parte de las muestras clínicas se analizan mediante potenciómetros (capítulo 23). La fotometría de llama se usa en la actualidad sólo para una pequeña fracción de estas muestras.

10C.2 Fuentes de descarga luminiscente

La descarga luminiscente, que se analiza en las secciones 8C.2 y 9A.3, ha demostrado ser una fuente ade-

²²G. N. Doku y V. P. Y. Gadzekpo, *Talanta*, **1996**, 43, p. 735.

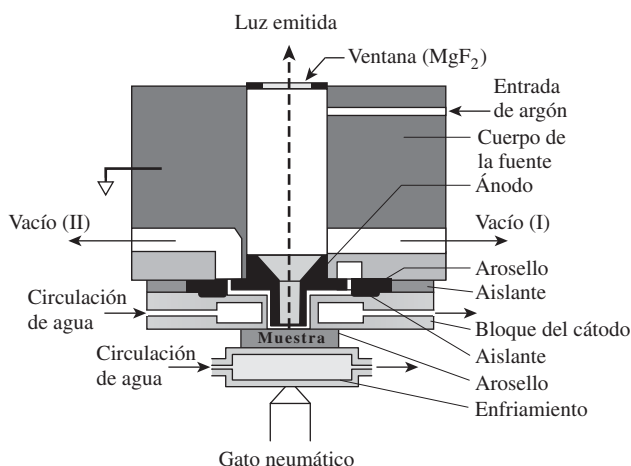


FIGURA 10.18 Diagrama de una fuente de descarga luminiscente tipo Grimm. (Tomado de M. Boucharcourt y F. Schwoehrer, en *Glow Discharge Optical Emission Spectrometry*, R. Payling, D. G. Jones y A. Bengtson, eds., p. 54, Nueva York: Wiley, 1997, con autorización.)

cuada para la obtención de espectros de emisión por excitación de metales, aleaciones y otros materiales sólidos.²³ La espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente se convirtió en una técnica sólida en años recientes y varios fabricantes de instrumentos ofrecen fuentes de descarga luminiscente así como espectrómetros completos configurados para este tipo de análisis. La espectroscopía de descarga luminiscente es una técnica multifacética porque tiene la aptitud de analizar grandes volúmenes y elaborar perfiles profundos de sólidos.

En la figura 10.18 se ilustra una celda representativa para la espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente. Es parecida en muchos aspectos a las celdas de absorción descritas en las secciones 8C.2 y 9A.3. Un voltaje cd de hasta 1 kV aplicado entre los electrodos produce chisporroteo de la muestra sólida a una intensidad de corriente de 40 a 200 mA. En la descarga luminiscente, en la superficie del cátodo, los átomos del analito en estado basal se excitan al colisionar con electrones de alta energía, se relajan y emiten su radiación característica. La excitación de radiofrecuencia (RF), que permite analizar materiales que no son conductores mediante la espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente ya está incorporada en algunos instrumentos comerciales, y se han explorado los modos de pulso de cd y de RF para incrementar las intensidades de las líneas.²⁴

Los perfiles profundos de la espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente se ilustran en las

curvas de la figura 10.19 para una muestra de latón. En las gráficas se observan los perfiles de siete elementos supervisados en función del tiempo a partir del inicio de la descarga luminiscente. Durante el periodo de preintegración, los contaminantes de la superficie se volatilizan y en un lapso de 60 s las señales alcanzan un nivel relativamente constante que corresponde a la composición del resto del material. La duración del periodo de preintegración se determina mejor mediante la precisión de la señal en varios momentos durante el chisporroteo. En el caso de la muestra ilustrada, la precisión fue óptima en alrededor de 3% en relación con el periodo indicado por I_1 . Este periodo se eligió para determinar la composición de muestras similares. Dependiendo de la naturaleza del análisis se pueden seleccionar la potencia, la presión y los periodos de preintegración y de integración para mejorar los resultados.²⁵ Los niveles de la señal relativamente constantes para todos los elementos son un indicio de la composición uniforme de toda la muestra. En la figura 10.20 se puede ver un perfil de profundidad de un circuito integrado electrónico obtenido mediante espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente excitada con RF. La manifestación con el tiempo de un pico o de una banda indican la aparición de los elementos contenidos en cada una de las capas sucesivas de los materiales del circuito. Los rótulos sobre cada una de las curvas señalan la identidad y el espesor de cada capa.²⁶

Debido a los bajos niveles de fondo de la espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente, los límites de detección en el orden de partes por millón son característicos con el uso de la fuente de Grimm de la figura 10.18. El intervalo dinámico es relativamente grande en comparación con las fuentes de arco y de chispa, y las desviaciones estándar relativas de 1% o menores son comunes con estos dispositivos.²⁷

10C.3 Sistemas de emisión atómica basados en rayo láser

En los años recientes los rayos láser se han vuelto muy útiles en la espectroscopía de emisión atómica. En este libro se estudian dos técnicas que se basan en el láser, a saber, espectroscopía con microsonda de rayo láser y espectroscopía de ruptura inducida por rayo láser.

Fuentes de microsonda de rayo láser

Cuando un pulso de láser de elevada potencia se enfoca en un punto de 5 a 50 μm en la superficie de la

²³ *Glow Discharge Plasmas in Analytical Spectroscopy*, R. K. E. Marcus y J. A. C. E. Broekaert, eds., Hoboken, NJ: Wiley, 2003.

²⁴ N. Jakubowski, A. Bogaerts y V. Hoffmann, *Atomic Spectroscopy in Elemental Analysis*, M. Cullen, ed., p. 120, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

²⁵ T. A. Nelis y R. A. Payling, *Glow Discharge Optical Emission Spectroscopy*, pp. 23-24, Nueva York: Springer, 2004.

²⁶ N. Jakubowski, A. Bogaerts y V. Hoffmann, *Atomic Spectroscopy in Elemental Analysis*, M. Cullen, ed., p. 120, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

²⁷ J. A. C. Broekaert, *Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas*, pp. 244-246, Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 2002.

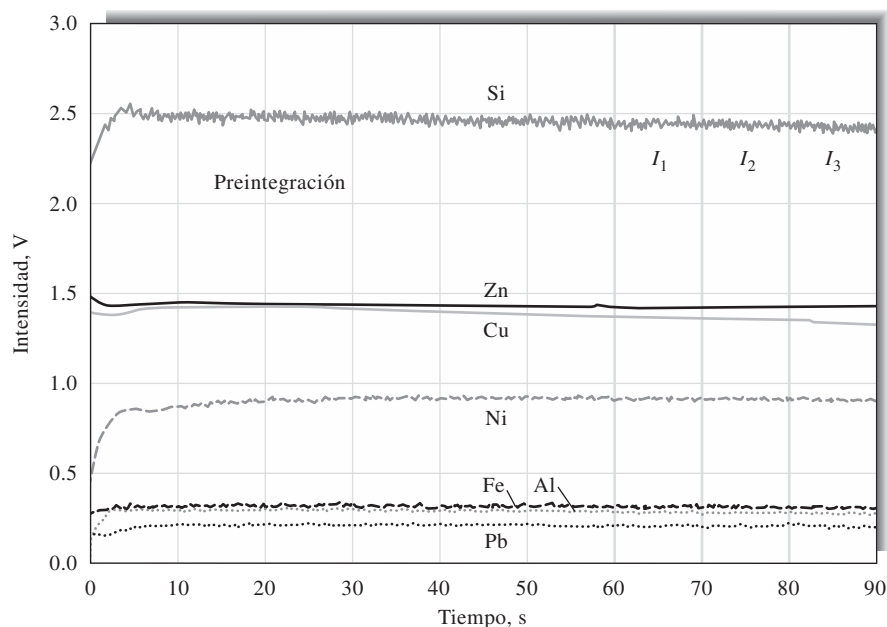


FIGURA 10.19 Perfil cualitativo de profundidad de una muestra de latón en el que se muestran elementos principales y secundarios y se indican las regiones del tiempo que se usarán para la preintegración (60 s) y tres periodos de integración de I_1 , I_2 y I_3 . (Tomado de T. A. Nelis y R. A. Payling, *Glow Discharge Optical Emission Spectroscopy*, p. 23, Nueva York: Springer, 2004. Con autorización.)

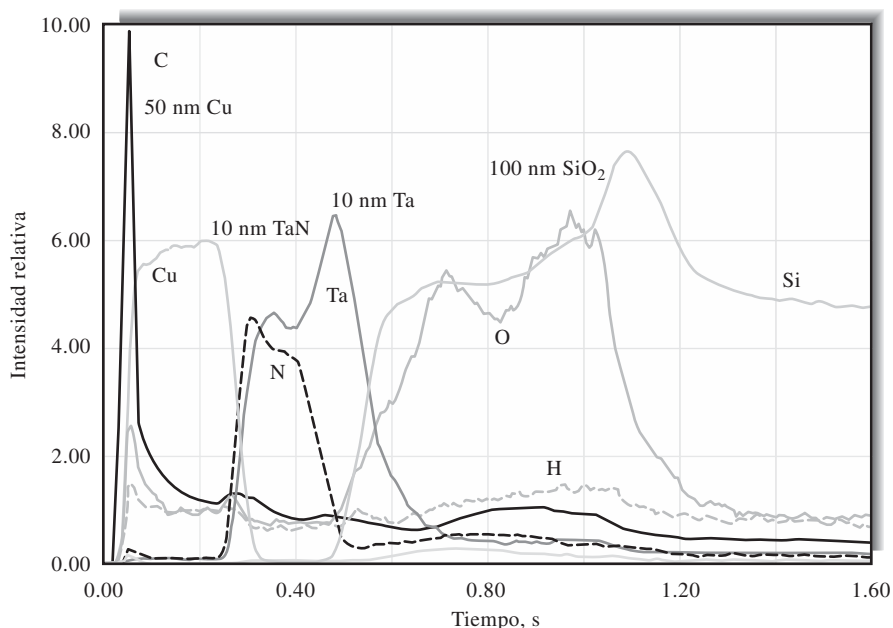


FIGURA 10.20 Perfil de profundidad con espectroscopía de emisión óptica con descarga luminiscente con excitación RF de un sistema microelectrónico de varias capas. Note el espesor y la composición de cada una de las capas señaladas arriba de cada pico o banda y la composición de los elementos indicada por las curvas. (Tomado de N. Jakubowski, A. Bogaerts y V. Hoffmann, *Atomic Spectroscopy in Elemental Analysis*, M. Cullen, ed., p. 129, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004. Con autorización.)

muestra, se vaporiza una pequeña cantidad del sólido sin importar si es conductor o no. La nube resultante está compuesta por átomos, iones y moléculas. En la microsonda los componentes de la nube se excitan por medio de una chispa entre un par de pequeños electrodos situados apenas por encima de la superficie de la muestra. La radiación resultante se enfoca entonces sobre un sistema monocromador-detector adecuado. Con este tipo de fuente ha sido posible determinar el contenido de elementos traza en células sanguíneas aisladas y en diminutas áreas de inclusión presentes en aleaciones. El rayo láser se puede pasar sobre una superficie para obtener una representación resuelta espacialmente de la composición de la superficie.

Espectroscopía de ruptura inducida por rayo láser

Si el rayo láser pulsado que se enfoca sobre una muestra tiene la potencia suficiente ($\sim 1 \text{ GW cm}^{-2}$ durante el pulso), las muestras sólidas no sólo se pueden fundir, sino que la nube se sobrecalienta y se transforma en un plasma muy luminoso. Cerca del final del pulso láser típico de 10 ns el plasma se enfría y los iones y átomos excitados emiten radiación. Al controlar el plasma espectrométricamente en el momento apropiado, se pueden observar las líneas de los átomos y de los iones de los elementos. Por lo general, la detección con accionamiento periódico se usa con la espectros-

copia de ruptura inducida por rayo láser para evitar el intenso continuo espectral emitido en forma temprana durante la formación del plasma y en las etapas de crecimiento, y para facilitar la posterior detección de las líneas de emisión durante la desintegración del plasma.²⁸ Además de la espectroscopía de ruptura inducida por rayo láser con un solo haz, también la que utiliza dos rayos láser ha dado resultados satisfactorios. En la espectroscopía de este tipo con dos rayos, muy similar a la microsonda láser, un rayo fusiona la muestra y el otro produce el plasma.

La técnica de la espectroscopía de ruptura inducida por rayo láser tiene aplicación en varias áreas. Mediante esta técnica se han analizado metales, semiconductores, cerámicas, polímeros y fármacos. Además de las muestras sólidas se pueden utilizar muestras gaseosas o líquidas. De hecho, las primeras aplicaciones fueron en los análisis remotos de gases tóxicos en ambientes industriales. Asimismo, se han analizado varios líquidos de proceso, soluciones biológicas, soluciones acuosas ambientales y preparaciones farmacéuticas.

²⁸Si desea más información consulte D. A. Cremers y L. J. Radziemski, *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 2006; L. J. Radziemski y D. A. Cremers en *Laser-Induced Plasmas and Applications*, L. J. Radziemski y D. A. Cremers, eds., Nueva York: Dekker, 1989, cap. 7.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que llevan este icono se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 10.1** ¿Qué es un patrón interno y por qué se utiliza?
- 10.2** ¿Por qué los métodos de emisión atómica con una fuente de plasma de acoplamiento por inducción son más adecuados para el análisis de varios elementos que los métodos de absorción atómica de llama?
- 10.3** ¿Por qué las líneas de iones predominan en los espectros de chispa y las líneas de átomos en los espectros de arco y en los de plasma de acoplamiento por inducción?
- *10.4** Calcule la dispersión lineal recíproca teórica de una red de escalera cuya distancia focal es de 0.85 m, con una densidad de hendiduras o surcos de 120 surcos/mm y un ángulo de difracción de $63^\circ 26'$ cuando el orden de difracción es a) 30 y b) 90.
- 10.5** ¿Por qué las fuentes de arco se cubren a menudo con una corriente de gas inerte?
- 10.6** Describa tres formas de introducir la muestra en una antorcha de plasma acoplado por inducción.
- 10.7** ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de las antorchas de plasma acoplado por inducción y de las antorchas de argón de corriente continua?
- 10.8** ¿Por qué las interferencias de ionización son menos importantes en la espectroscopia de emisión de plasma acoplado por inducción que en la espectroscopía de emisión por llama?

10.9 ¿Cuáles son algunas de las ventajas de las fuentes de plasma comparadas con las de llama en la espectrometría de emisión?

10.10 ¿Por qué el método de patrón interno se utiliza a menudo en la espectrometría de emisión de plasma?



10.11 Se determinó cromo en una serie de muestras de acero mediante espectroscopía de emisión de plasma acoplado por inducción. El espectrómetro estaba calibrado con una serie de patrones que contenían 0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 μg de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ por mililitro. Las lecturas del instrumento para estas disoluciones fueron 3.1, 21.5, 40.9, 57.1 y 77.3, respectivamente, en unidades arbitrarias.

- Grafique los datos mediante una hoja de cálculo.
- Determine la ecuación de la recta de regresión.
- Calcule las desviaciones estándar de la pendiente y de la intersección con la recta en b).
- Los datos siguientes se obtuvieron al reproducir muestras de 1.00 g de cemento disuelto en HCl y diluido a 100.0 mL después de la neutralización.

	Lecturas de la emisión			
	Blanco	Muestra A	Muestra B	Muestra C
Repetición 1	5.1	28.6	40.7	73.1
Repetición 2	4.8	28.2	41.2	72.1
Repetición 3	4.9	28.9	40.2	derramada

Calcule el porcentaje de Cr_2O_3 en cada muestra. ¿Cuáles son las desviaciones estándar absolutas y relativas para el promedio de cada determinación?



10.12 El oro se puede determinar en soluciones que contienen altas concentraciones de diversos iones mediante espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado por inducción.²⁹ Se transfirieron alícuotas de 50.0 mL de la solución de la muestra a cuatro matraces volumétricos de 100.0 mL. Se preparó una solución que contenía 10.0 mg/L de Au en H_2SO_4 a 20%, y ciertas cantidades de ella se añadieron a las soluciones de la muestra para obtener 0, 2.5, 5 y 10 mg/L de Au añadido en cada uno de los matraces. Las disoluciones se completaron hasta tener un volumen total de 100.0 mL, se mezclaron y se analizaron mediante espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado por inducción. Los datos resultantes se presentan en la siguiente tabla.

Oro añadido, mg/L	Intensidad de la emisión
0.0	12 568
2.5	19 324
5.0	26 622
10.0	40 021

- Mediante una hoja de cálculo efectúe un análisis de mínimos cuadrados para determinar la pendiente, la ordenada al origen y las estadísticas de regresión, sin olvidar la desviación estándar respecto a la regresión.
- Con los resultados que obtenga determine la concentración de oro en la solución de la muestra en mg/L.
- La concentración conocida de oro en la muestra es de 8.51 mg/L. Pruebe la hipótesis de que su resultado es igual a este valor con un nivel de confianza de 95 por ciento.

²⁹ J. A. Whitehead, G. A. Lawrance y A. McCluskey, *Aust. J. Chem.*, **2004**, 57, p. 151.

- d) Compare su resultado con el que dieron a conocer Whitehead *et al.*, comente cualquier diferencia.

10.13 Nakahara y Wasa detectaron germanio en meteoritos mediante espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado por inducción usando digestión de microondas y generación de hidruros.³⁰ Considere los datos de la tabla siguiente elaborada a partir del trabajo de referencia, en la cual se comparan los resultados que se obtuvieron con valores aceptados de germanio en varios meteoritos.

Determinación de germanio en meteoritos de hierro.

Meteorito	Contenido de germanio, µg/g	
	Este trabajo ^a	Valor reportado ^b
Gibeon ^c	0.079 ± 0.01	0.111
Henbury ^d	30.1 ± 1.3	34
Mundrabilla ^c	200.5 ± 11.7	208
Toluca ^c	250.1 ± 15.6	246
Odessa ^d	285.2 ± 11.3	285

^aLa media ± desviación estándar de 10 determinaciones repetidas.

^bJ. T. Wasson, *Meteorites, Classification and Properties*. Springer-Verlag, Nueva York, 1974.

^cProporcionado por el Museo Nacional de Historia de Japón.

^dProporcionado por Investigación Geológica de Japón.

- Calcule los intervalos de confianza de 95% para cada uno de los resultados de Nakahara y Wasa.
- Suponga que los valores reportados son los verdaderos de la concentración de germanio en los meteoritos, y determine si los valores determinados por estos investigadores son iguales o diferentes a los valores reportados con un nivel de confianza de 95 por ciento.
- Considere la cantidad de cifras significativas en las desviaciones estándar que se citan en la tabla. ¿Se justifica la cantidad de cifras en cada uno de los casos? Apoye su respuesta con cálculos estadísticos.



Problema de reto

10.14 Watters *et al.* han analizado las incertidumbres relacionadas con las curvas de calibración en el caso de espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por inducción y con los procedimientos para mejorar los resultados de los análisis de mínimos cuadrados de dichos datos.³¹

- La cuestión central tratada por estos investigadores es si un procedimiento de mínimos cuadrados ponderado o no ponderado es apropiado para la calibración de plasma acoplado por inducción. ¿Cuál es el criterio principal para decidir qué procedimiento usar?
- ¿Qué significan los términos *homoscedasticidad* y *heteroscedasticidad*?
- El modelo que usaron estos investigadores para las curvas de plasma acoplado por inducción se representa con la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = a + bx_i + error_{ij}$$

Defina cada variable de la ecuación y explique el significado de la relación incorporada en ella.

³⁰T. Nakahara y T. Wasa, *Microchem. J.*, **1994**, 49, p. 202.

³¹R. L. Watters Jr., R. J. Carroll y C. H. Spiegelman, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1639.

- d) Watters *et al.* eligieron hacer un modelo del error en las curvas de trabajo de plasma acoplado por inducción en función de la concentración en lugar de la intensidad. ¿Cuál fue el razonamiento de ellos para hacer esta elección?
- e) Uno de los modelos sugeridos para el error en las curvas de calibración es

$$\sigma(x) = c + dx + ex^2$$

Explique la importancia de cada variable y defina las características de la naturaleza del modelo.

- f) ¿Cómo se calcula $\sigma(x)$ en la práctica?
- g) ¿A qué variables corresponden el ruido de disparo y el ruido fluctuante en la expresión que se muestra en e)?
- h) ¿Qué fuentes de ruido experimental son constantes? ¿Qué variable en la expresión del inciso e) corresponde a estas fuentes (o fuente)?
- i) ¿Cuál es la relación del siguiente modelo alternativo con el modelo en e)?

$$\sigma^2(x) = g + hx + kx^2$$

- j) ¿Cuál es el objetivo de los modelos en e) e i)?
- k) ¿Cuál es la importancia de cada una de las variables $\hat{a}$ y $\hat{b}$?
- l) Los autores concluyeron que “si la heteroscedasticidad se ignora, los intervalos de confianza serán más angostos en el extremo alto y demasiado amplios en el extremo inferior de la curva de calibración del plasma acoplado por inducción. La magnitud de estos efectos depende del esquema de dilución particular que se usó para hacer las soluciones patrón de calibración”. ¿Qué tanto afecta el esquema de dilución para los patrones los resultados del análisis de mínimos cuadrados en las curvas de calibración de plasma acoplado por inducción?
- m) Elabore una hoja de cálculo similar a la que se muestra a continuación en la que se proporcionan datos de la tabla I del trabajo de Watters *et al.* y efectúe un análisis de mínimos cuadrados no ponderado y otro ponderado de los datos. Aplique primero ESTIMACIÓN LINEAL para efectuar el

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Concn.	Intensidad	s_i	s	s				
2	$\mu\text{g}/\mu\text{L}$	(cuentas)	(obs)	(10 reps)	(4 reps)		ESTIMACIÓN LINEAL		
3	0.00	11.33	8.54	7.88	6.97			b	a
4	0.0101	16.60	7.88	7.98	7.03		Valor		
5	0.0251	37.92	9.06	8.12	7.12		Incertidumbre		
6	0.0503	57.00	8.46	8.36	7.28		R / Sy		
7	0.101	149.88	6.13	8.84	7.58		F / dF		
8	0.251	369.24	11.57	10.25	8.50		SSreg/SSres		
9	0.503	763.36	11.94	12.48	10.02				
10	2.51	3688.46	26.24	25.42	22.25				
11	5.03	7431.08	29.12	29.30	37.55				
12									
13	No ponderado	b	a	Ponderado(10)	b	a	Ponderado(4)	b	a
14									
15	$bx + a$	Resid	Resid ²	$bx + a$	Resid	Resid ² / s^2	$bx + a$	Resid	Resid ² / s^2
16									
17	Celda A16=BS\$14*A3+\$C\$14				Celda B14=Estimador inicial de la pendiente				
18	Celda B16=B3-A16				Celda C14=Estimador inicial de la ordenada al origen				
19	Celda C16=B16^2								
20	Celda D16=ES\$14*A3+\$F\$14								
21	Celda F16+E16^2*(1/D3^2)								
22	Celda C25=SUMA(C16:C24)								
23	Celda C26=RAÍZ(C25/(CONTAR(C16:C24)-2))								
24									
25		SS	0.0000		SS	0.0000		SS	0.000
26		s_r	0.0000		s_r	0.0000		s_r	0.0000

análisis no ponderado, y luego efectúe un análisis ponderado con Solver para reducir al mínimo la celda C25 al hacer variar B14 y C14. Compare los resultados obtenidos con ambos métodos. Compare las ventajas de cada método.³²

Repita el análisis para los datos de 10 repeticiones usando las fórmulas que se proporcionan en la documentación de la hoja de cálculo. Las fórmulas que se incluyen en el renglón 16 se deben copiar en los renglones 17 a 24. Se minimiza la celda F25 haciendo variar las celdas E14 y F14 mediante Solver para obtener valores aproximados de la pendiente y de la ordenada al origen. Repita el análisis para los datos de cuatro repeticiones mediante Solver para minimizar la celda I25 haciendo variar las celdas H14 e I14. Compare sus procedimientos y resultados con los de Watters *et al.*, y comente cualquier diferencia. ¿Qué ventaja tiene el análisis de mínimos cuadrados ponderado sobre el análisis sin ponderación?

- n) Añada una sección a su hoja de cálculo de Excel para calcular la media y la desviación estándar de la concentración de un analito dada una cantidad de mediciones de la intensidad de la emisión del plasma acoplado por inducción de la muestra.³³
- o) Existen muchas fuentes comerciales y no comerciales en Internet para añadir a Excel paquetes de programas o funciones que complementan los que ya tiene incorporados. Por ejemplo, Solver es en realidad un añadido o programa de ayuda que es producido por una empresa independiente y que está a la venta en una versión mejorada. Utilice un buscador como Google para hallar los sitios en la red de programadores y vendedores que ofrecen dichos programas de ayuda para ejecutar análisis de mínimos cuadrados ponderados. Uno de dichos vendedores es XLSTAT (www.xlstat.com). Baje la versión de demostración de XLSTAT, instálela en su computadora y efectúe análisis de mínimos cuadrados ponderados y no ponderados con los datos de *n*). Tome en cuenta que tiene que calcular los factores de ponderación a partir de las desviaciones estándar que se dan en el trabajo de investigación, y que usted quizá requiera ampliarlos. Debe calcular columnas en su hoja de cálculo que contengan $1/s^2$, y luego dividir cada celda entre el valor más grande de la columna. Los factores de ponderación necesitan ser sólo proporcionales a la varianza, de modo que puede ampliarlos de cualquier manera que le convenga. Compare los resultados que da XLSTAT con los que obtuvo con su hoja de cálculo, y comente si es fácil usar XLSTAT y su funcionalidad. Este programa de ayuda contiene muchas otras funciones estadísticas y de análisis numérico útiles, y está disponible a un costo modesto para los estudiantes que desean utilizarlo en forma permanente.

³²S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, pp. 68 y 88-92, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

³³D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., p. 197, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

Espectrometría de masas atómica

La espectrometría de masas atómica es una herramienta multifacética y muy utilizada para identificar los elementos presentes en muestras de materia y determinar sus concentraciones. Casi todos los elementos de la tabla periódica se pueden determinar mediante la espectrometría de masas. La espectrometría de masas atómica ofrece numerosas ventajas frente a los métodos espectrométricos ópticos atómicos que ya se estudiaron con profundidad. Entre dichas ventajas están 1) los límites de detección que, para muchos elementos, son tres órdenes de magnitud mejores que en los métodos ópticos; 2) espectros notablemente sencillos que casi siempre son únicos y a menudo se interpretan con facilidad y 3) capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas. Entre las desventajas están 1) el costo del instrumento es de dos a tres veces mayor comparado con los instrumentos ópticos atómicos, 2) la deriva del instrumento puede ser de 5 a 10% por hora y 3) ciertos tipos de interferencia que se estudian más adelante.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

11A ALGUNOS ASPECTOS GENERALES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS ATÓMICA

Un análisis por espectrometría de masas atómica¹ consta de las etapas siguientes: 1) atomización, 2) conversión de una fracción significativa de los átomos formados en la etapa 1 en un flujo de iones (casi siempre positivos de una sola carga), 3) separación de los iones formados en la segunda etapa con base en su relación masa/carga (m/z), donde m es el número de masa del ion en unidades de masa atómica y z es el número de cargas fundamentales,² y 4) conteo del número de iones de cada tipo o medición de la corriente iónica producida cuando los iones formados a partir de la muestra inciden en un detector adecuado. Como la mayoría de los iones formados en la segunda etapa tienen una sola carga, m/z por lo regular es el número de masa del ion. Las etapas 1 y 2 involucran las mismas técnicas que se explicaron en la sección 8C para la espectroscopía óptica atómica. Las etapas 3 y 4 se llevan a cabo en un espectrómetro de masas. Por lo regular, los datos que se obtienen con la espectrometría de masas se presentan en forma de una gráfica de intensidad relativa contra m/z .

11A.1 Masas atómicas en la espectrometría de masas

En primer lugar, vale la pena señalar que las masas atómicas que se utilizan en la bibliografía de espectrometría de masas, y en este capítulo, difieren de las que se manejan en la mayoría de las otras subdisciplinas de la química analítica porque los espectrómetros de masas distinguen la masa de los isótopos, y otros instrumentos analíticos generalmente no lo hacen. Por tanto, se revisan de manera breve algunos términos relacionados con las masas atómicas y moleculares.

Las masas atómicas y moleculares se expresan generalmente en *unidades de masa atómica* (uma) o en *daltons* (Da). El dalton se define en relación con el peso del isótopo de carbono ^{12}C , al cual se le asigna exacta-

¹Para una explicación general de la espectrometría de masa atómica véase a J. R. A. De Laeter, *Applications of Inorganic Mass Spectrometry*, Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2001; C. M. A. Barshick, D. C. A. Duckworth y D. H. A. Smith, *Inorganic Mass Spectrometry: Fundamentals and Applications*, Boulder, CO: netLibrary, 2000. Un estudio general de la espectrometría de masa está en E. A. de Hoffmann y V. A. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 2a. ed., Hoboken, NJ: Wiley, 2002; J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., Nueva York: Raven Press, 1997.

²En rigor, el *número de masa* m no tiene unidades, al igual que z , el número de cargas fundamentales en un ion. La cantidad z , que es un entero, equivale a q/e , donde q es la carga en el ion y e es la carga en el electrón, ambas medidas en las mismas unidades (por ejemplo, coulombs).

mente un peso de 12 uma. Por consiguiente, *la uma, o Da, se define como 1/12 de la masa de un átomo neutro de ^{12}C , es decir*

$$\begin{aligned}\text{masa atómica } ^{12}\text{C} &= \frac{12 \text{ g } ^{12}\text{C/mol } ^{12}\text{C}}{6.022142 \times 10^{23} \text{ átomos } ^{12}\text{C/mol } ^{12}\text{C}} \\ &= 1.992646 \times 10^{-23} \text{ g/átomo } ^{12}\text{C} \\ &= 1.992646 \times 10^{-26} \text{ kg/átomo } ^{12}\text{C}\end{aligned}$$

Entonces, la unidad de masa atómica es

$$\begin{aligned}1 \text{ uma} &= 1 \text{ Da} \\ &= \frac{1}{12} (1.992646 \times 10^{-23} \text{ g}) \\ &= 1.6605387 \times 10^{-24} \text{ g} \\ &= 1.6605387 \times 10^{-27} \text{ kg}\end{aligned}$$

La masa atómica relativa de un isótopo como el $^{35}_{17}\text{Cl}$ se mide entonces respecto a la masa del átomo de referencia $^{12}_6\text{C}$. El cloro 35 tiene una masa que es 2.914071 veces mayor que la masa del isótopo de carbono. Por tanto, la masa atómica del isótopo del cloro es

$$\begin{aligned}\text{masa atómica } ^{35}_{17}\text{Cl} &= 2.914071 \times 12.000000 \text{ Da} \\ &= 34.968853 \text{ Da}\end{aligned}$$

Como una mol de $^{12}_6\text{C}$ pesa 12.000000 g, la masa molar de $^{35}_{17}\text{Cl}$ es de 34.968853 g/mol.³

En espectrometría de masas, a diferencia de otros ámbitos de la química, interesa con frecuencia la *masa exacta m* de determinados isótopos de un elemento o la masa exacta de los componentes que contienen un cierto grupo de isótopos. Por tanto, es necesario poder diferenciar entre las masas de compuestos como

$$\begin{aligned}^{12}\text{C}^1\text{H}_4 \quad m &= (12.000000 \times 1) + (1.007825 \times 4) \\ &= 16.031300 \text{ Da} \\ ^{13}\text{C}^1\text{H}_4 \quad m &= (13.003355 \times 1) + (1.007825 \times 4) \\ &= 17.034655 \text{ Da} \\ ^{12}\text{C}^1\text{H}_3^2\text{H}_1 \quad m &= (12.000000 \times 1) + (1.007825 \times 3) \\ &\quad + (2.014102 \times 1) \\ &= 17.037577 \text{ Da}\end{aligned}$$

En los cálculos anteriores se presentaron las masas de los isótopos con seis cifras decimales. Ciertos tipos de espectrómetros muy modernos tienen esa capacidad de resolución (véase la sección 20C.4) pero, por lo regular, las masas exactas se dan con tres o cuatro cifras a la derecha del punto decimal porque los espec-

trómetros de masas de alta resolución tienen la aptitud de medir con ese nivel de precisión.

En otros contextos se usa el término *masa nominal*, que implica una precisión de un número entero en una medición de masa. Por consiguiente, las masas nominales de los tres isómeros antes citados son 16, 17 y 17 Da, respectivamente.

La *masa atómica química* o *masa atómica promedio* (*A*) de un elemento en la naturaleza viene dado por la ecuación

$$A = A_1p_1 + A_2p_2 + \cdots + A_np_n = \sum_{i=1}^n A_np_n$$

donde $A_1, A_2, \dots, A_n$ son las masas atómicas, en daltons, de los n isótopos de un elemento y $p_1, p_2, \dots, p_n$ son las abundancias fraccionarias de estos isótopos en la naturaleza. Naturalmente, la masa atómica química es la que interesa a los químicos en la mayoría de los casos. La *masa molecular química o promedio* de un compuesto es entonces la suma de las masas atómicas químicas de los átomos que aparecen en la fórmula del compuesto. Por consiguiente, la masa molecular química del CH_4 es $12.01115 + (4 \times 1.00797) = 16.0434$ Da. La masa atómica o molecular expresada sin unidades es el *número de masa*.

11A.2 Relación masa-carga

Otro término que se utiliza a lo largo de este capítulo es la *relación masa-carga* de un ion atómico o molecular. Para un ion ésta es la relación adimensional entre su número de masa y el número de cargas fundamentales z que tiene. Por consiguiente, para $^{12}\text{C}^1\text{H}_4^+$, $m/z = 16.0313/1 = 16.0313$. Para $^{13}\text{C}^1\text{H}_4^{2+}$, $m/z = 17.0346/2 = 8.5173$. Como en la espectrometría de masas la mayoría de los iones presenta una sola carga, el término relación masa-carga se puede acortar y utilizar el término más apropiado de *masa*. Si se habla con rigor, esta simplificación es incorrecta, pero se utiliza mucho en la bibliografía sobre espectrometría de masas.

11A.3 Tipos de espectrometría de masas atómica

En la tabla 11.1 se resumen los tipos más importantes de espectrometría de masas atómica. Al inicio, las espectrometrías de masas con ionización térmica y con fuente de chispa fueron los primeros métodos espectrométricos de masas para ejecutar análisis elemental tanto cualitativo como cuantitativo. Todavía en la actualidad se emplean ambos métodos, aunque opacados por algunos de los otros que se enlistan en la tabla

³La lista de los isótopos de todos los elementos y sus masas atómicas se pueden consultar en varios manuales, como el *Handbook of Chemistry and Physics*, 85a. ed., pp. 11-50 a 11-201, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

TABLA 11.1 Tipos de espectrometría de masas atómica.

Nombre	Acrónimo en inglés	Fuentes de ion atómico	Analizador de masas típico
Plasma acoplado por inducción	ICPMS	Plasma de argón a alta temperatura	Cuadrupolar
Plasma de corriente continua	DCPMS	Plasma de argón a alta temperatura	Cuadrupolar
Plasma inducido por microondas	MIPMS	Plasma de argón a alta temperatura	Cuadrupolar
Fuente de chispa	SSMS	Chispa eléctrica de radiofrecuencia	Doble enfoque
Ionización térmica	TIMS	Plasma calentado con electricidad	Doble enfoque
Descarga luminiscente	GDMS	Plasma de descarga luminiscente	Doble enfoque
Microsonda láser	LMMS	Rayo láser enfocado	Tiempo de vuelo
Ion secundario	SIMS	Bombardeo con iones acelerados	Doble enfoque

11.1, sobre todo por la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento por inducción, EMPAI (ICPMS, por sus siglas en inglés). Observe que las tres primeras entradas de la tabla corresponden a *métodos acoplados*, que son la combinación de dos técnicas instrumentales que proporcionan resultados analíticos mejores que los que se obtienen con cada método por separado. Hay cierta cantidad de métodos acoplados en varias partes de este libro.

Antes de examinar los distintos métodos de atomización y ionización que se incluyen en la tabla, se describe a grandes rasgos el uso de los espectrómetros de masas para separar y medir las especies iónicas.

11B ESPECTRÓMETROS DE MASAS

Un espectrómetro de masas es un instrumento que produce iones y los separa de acuerdo con sus relaciones masa/carga, m/z . La mayor parte de los iones que se estudian tienen una sola carga, de modo que la relación es simplemente el número de masa del ion. Ahora ya se dispone comercialmente de varios tipos de espectrómetros de masas. En este capítulo se describen los tres tipos que se utilizan en espectrometría de masas atómica, a saber, *espectrómetro de masas cuadrupolar*, *espectrómetro de masas de tiempo de vuelo* y *espectrómetro de masas de doble enfoque*. En el capítulo 20 se estudian otros tipos de espectrómetros de masas porque en él se estudia la espectrometría de masas molecular. En la primera columna de la tabla 11.1 se enlistan los tipos de espectrometría de masas atómica en los cuales se aplica por lo regular cada uno de los tres tipos de espectrómetros de masas.

En el diagrama de bloques de la figura 11.1 se muestran los principales componentes de todos los tipos de espectrómetros de masas. El objetivo del sistema de entrada es introducir una cantidad muy pequeña de muestra en la fuente de iones, donde los componentes

de dicha muestra se transforman en iones gaseosos gracias al bombardeo con electrones, fotones, iones o moléculas. Otra manera de lograr la ionización es aplicar energía térmica o eléctrica. La salida de la fuente de iones es un flujo de iones positivos, que es lo más común, o iones negativos gaseosos que son acelerados en el analizador de masas.

La función del analizador de masas es similar a la de un monocromador de un espectrómetro óptico. En el analizador de masas la dispersión depende de la relación masa-carga de los iones del analito y no de la longitud de onda de los fotones.

Al igual que en un espectrómetro óptico, un espectrómetro de masas contiene un transductor que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que pueda ser procesada, almacenada en la memoria de una computadora y mostrada en una pantalla o almacenada en otros medios. A diferencia de la mayoría de los espectrómetros ópticos, los espectrómetros de masas requieren un complejo sistema de vacío para mantener

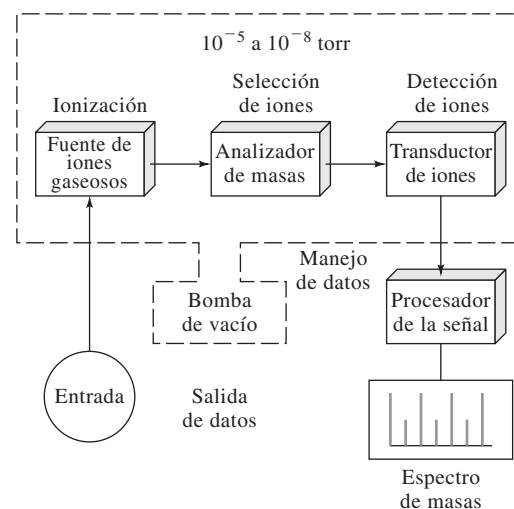


FIGURA 11.1 Componentes de un espectrómetro de masas.

una presión baja en todos los componentes, excepto en los sistemas para procesar la señal y de lectura. La presión baja asegura colisiones no frecuentes en el espectrómetro de masas para producir y conservar iones y electrones libres.

En las secciones siguientes primero se tratan los diferentes sistemas de los transductores que se utilizan en los espectrómetros de masas. Luego se estudian los tres tipos de analizadores de masas que se usan en los espectrómetros de masas atómicas. En las secciones 11C, D y E se proporciona material sobre la naturaleza y operación de las fuentes de iones comunes para los espectrómetros de masas atómicas.

11B.1 Transductores para espectrometría de masas

En el comercio existen distintos tipos de transductores para espectrómetros de masas. El *multiplicador de electrones* es el transductor de elección para la mayoría de los experimentos de rutina.

Multiplicadores de electrones

En la figura 11.2a se ilustra un esquema de un multiplicador de electrones de dinodos discretos diseñado para coleccionar y transformar iones positivos en una señal eléctrica. Este dispositivo se parece mucho a un

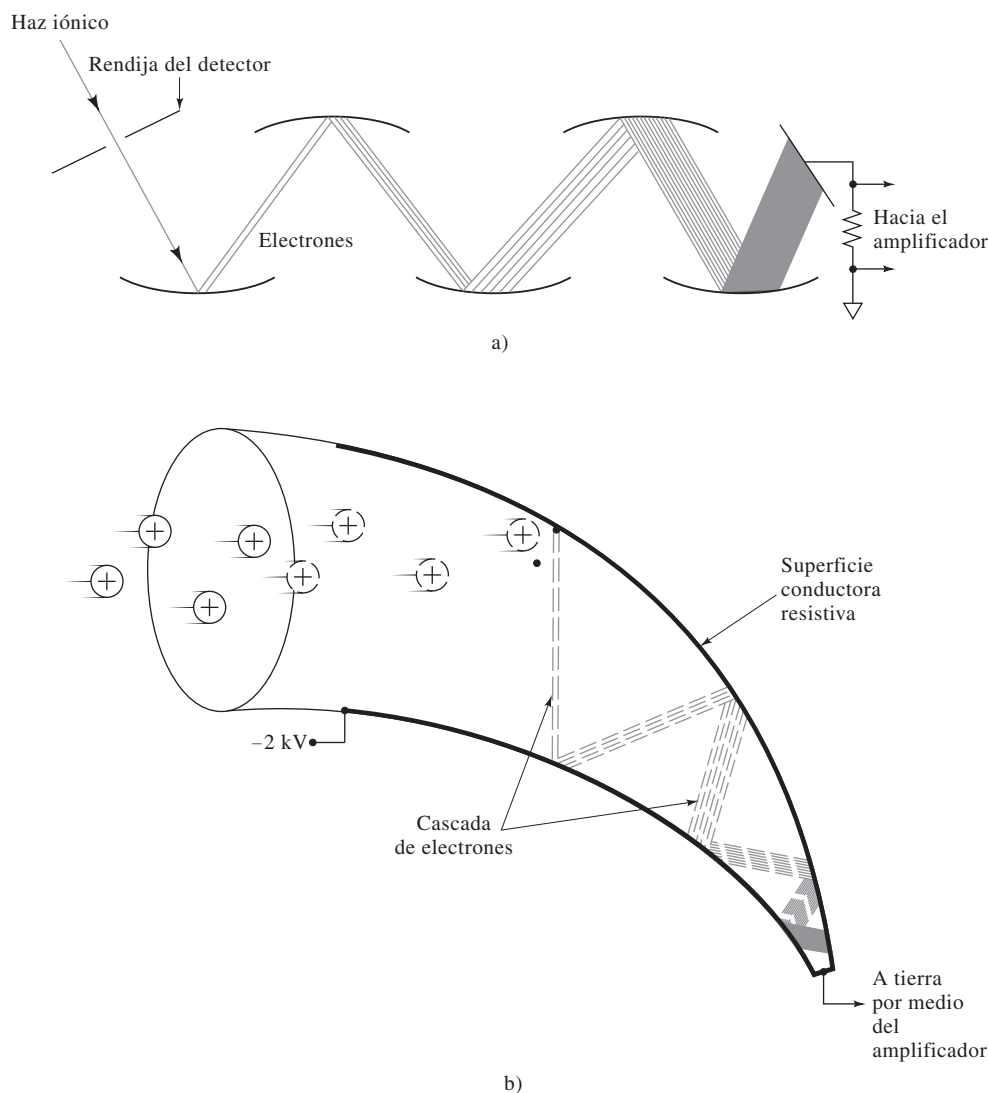


FIGURA 11.2 a) Multiplicador de electrones de dinodo discreto. Los dinodos se conservan con un voltaje que es sucesivamente superior al anterior mediante un divisor de voltaje de varias etapas. b) Multiplicador de electrones de dinodo continuo. (Adaptación a partir de J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., pp. 334-335, Nueva York: Raven Press, 1997. Con autorización.)

transductor fotomultiplicador para radiación ultravioleta-visible en el que cada dinodo se mantiene a un potencial más alto que el anterior. Cuando los iones o electrones energéticos chocan contra las superficies de Cu y Be del cátodo y de los dinodos se emiten ráfagas de electrones. Entonces, éstos son atraídos al siguiente dinodo abajo de la cadena hasta que en el último de ellos aparece una gran cantidad de electrones por cada ion que golpea el cátodo. Hay multiplicadores de electrones con hasta 20 dinodos, que por lo general proporcionan una ganancia de corriente de 10^7 .

La figura 11.2b ilustra un canal multiplicador de electrones de dinodo continuo. Este dispositivo tiene forma de cornucopia y está hecho de vidrio fuertemente dopado con plomo para darle al material una pequeña conductividad. Se aplica un potencial de 1.8 a 2 kV a lo largo del transductor para producir un gradiente de tensión desde uno de los extremos al otro. Los iones que chocan contra la superficie próxima a la entrada expulsan electrones, que luego son atraídos a puntos más lejanos en el tubo con voltaje más alto. Estos *electrones secundarios* se deslizan sobre la superficie haciendo que salgan expelidos más electrones con cada impacto. Los transductores de este tipo producen generalmente ganancias de 10^5 , pero pueden llegar a ser de 10^8 en ciertas aplicaciones.

Por lo regular, los canales multiplicadores de electrones son potentes y confiables, y tienen la aptitud de proporcionar altas ganancias de corriente y tiempos de respuesta en nanosegundos. Estos transductores se instalan directamente detrás de la rendija de salida de un espectrómetro de masas de sector magnético, porque los iones que alcanzan el transductor suelen tener suficiente energía cinética para expulsar electrones desde la primera etapa del dispositivo. Los multiplicadores de electrones también pueden usarse con analizadores de masas que utilizan haces iónicos de baja energía cinética, es decir, cuadrupolos, pero en estas aplicaciones el haz de iones que sale del analizador se acelera a varios miles de electronvolts antes de incidir en la primera etapa.

Copa de Faraday

La figura 11.3 es un esquema de un colector de Faraday en forma de copa. El transductor está alineado de manera que los iones que salen del analizador choquen contra el electrodo del colector. Este último está rodeado por una jaula que impide que escapen los iones reflejados y los electrones secundarios expelidos. El electrodo colector está inclinado respecto a la trayectoria de los iones entrantes, de forma que las partículas que golpeen o abandonen el electrodo sean reflejadas desde la entrada hacia la copa. El electrodo

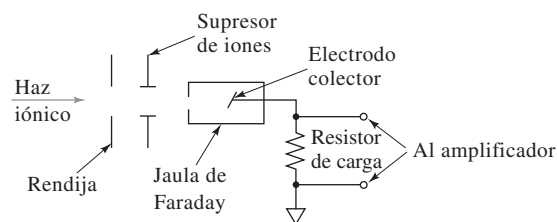


FIGURA 11.3 Detector de copa de Faraday. El potencial en las placas supresoras de iones se ajusta para reducir al mínimo la respuesta diferencial en función de la masa.

colector y la jaula están conectados a tierra mediante una resistencia grande. La carga de los iones positivos que inciden en la placa es neutralizada por un flujo de electrones procedentes de tierra a través de la resistencia. La caída de voltaje resultante en la resistencia se aumenta por medio de un amplificador de alta impedancia. La respuesta de este transductor es independiente de la energía, masa y naturaleza química del ion. La copa de Faraday es barata y sencilla, desde el punto de vista mecánico y eléctrico. Su principal desventaja es la necesidad de un amplificador de alta impedancia, el cual restringe la velocidad a la que se puede efectuar el barrido del espectro (véase la sección 3B.4). Además, el transductor de copa de Faraday es menos sensible que el multiplicador de electrones porque no proporciona amplificación interna.

Transductores en serie

La analogía entre los espectrómetros ópticos y los espectrómetros de masas abarca los sistemas de detección. Como ya se ha visto, los transductores en serie han innovado la espectrometría óptica para sistemas en los cuales la radiación electromagnética dispersada se enfoca en un plano o superficie curva. Un transductor en serie colocado en el plano focal de un espectrómetro de masas (véase figura 11.11) proporciona varias ventajas importantes comparado con la detección de un solo canal. La más importante es la detección simultánea de varios elementos de resolución. Otros tienen un ciclo de trabajo mayor, mejor precisión al usar mediciones de relación y patrones internos, y detección mejorada de señales transitorias rápidas.

Placas de microcanales. Un tipo de transductor en serie para la espectrometría de masas es el detector electroóptico de iones que se ilustra en la figura 11.4a.⁴ El elemento clave en este tipo de detector es el multiplicador de electrones de microcanal, o placa microcanal, al cual se le llama intensificador de imágenes en

⁴ C. E. Giffen, H. G. Boettger y D. D. Norris, *Int. J. Mass Spectrom. Ion. Phys.*, **1974**, *15*, p. 437.

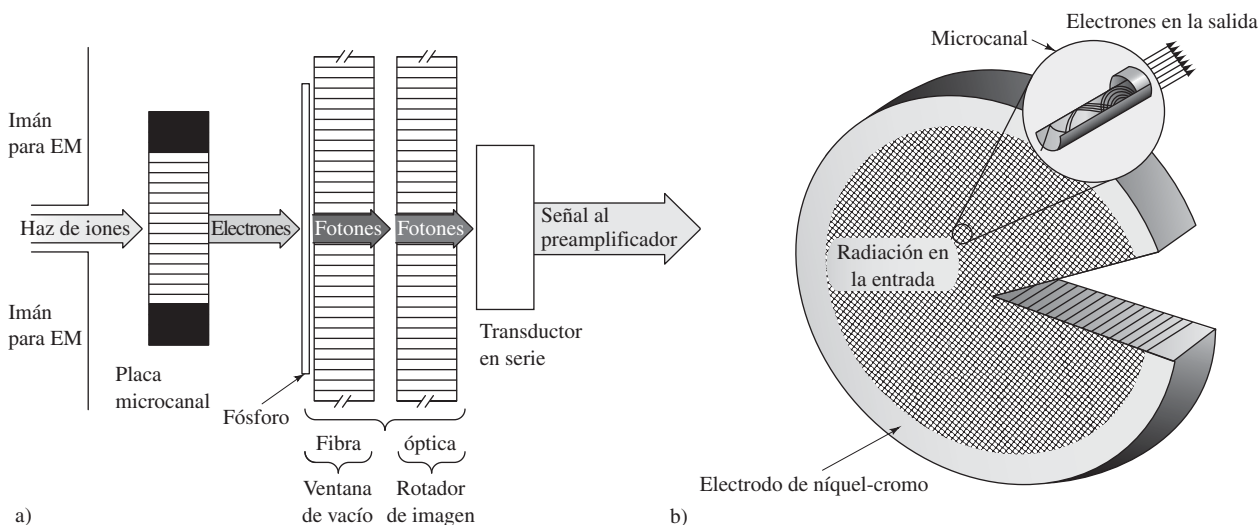


FIGURA 11.4 a) Detector electroóptico de iones. Los iones inciden en la placa de microcanal, la cual genera una cascada de electrones que choca contra la pantalla fosforescente. La radiación que sale de la pantalla pasa al transductor en serie por medio de fibra óptica, y el transductor convierte entonces la señal óptica en una señal eléctrica para continuar con el proceso. (Reimpreso con autorización de J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., pp. 334-335, Nueva York: Raven Press, 1997.) b) Placa de microcanal. Los minúsculos canales, que están orientados con un pequeño ángulo a partir de la normal de la superficie del acomodo, son multiplicadores de electrones individuales. Las partículas que inciden en la superficie interna de un canal forman una cascada a través de él y producen alrededor de 1000 electrones por cada partícula que entra. (Diagrama cortesía de Photonis, Inc.)

algunas aplicaciones ópticas. El diseño y principios fundamentales de operación de la placa microcanal se ilustran en la figura 11.4b. La placa consta de una configuración de minúsculos tubos con diámetro de 6 mm, hecha de vidrio de plomo. En ambos lados del arreglo se depositan unos electrodos metálicos y se aplica un voltaje de casi 1500 V entre los extremos de los canales. Cada tubo actúa como un multiplicador de electrones de modo que por cada partícula que choca contra la pared interior de un canal son expelidos 1000 electrones desde cada extremo del mismo. Si se requiere una ganancia mayor, se pueden colocar en cascada dos o más placas microcanal para proporcionar señales apropiadas al experimento.

En el detector electroóptico de iones de la figura 11.4a se ha colocado una pantalla fosforescente detrás de la placa microcanal de modo que la cascada de electrones produzca un destello de luz que se dirige mediante fibra óptica a un detector óptico en serie. Los datos reunidos a partir del detector proporcionan entonces resolución bidimensional de iones que aparecen en el plano focal de un espectrómetro de masas.

Microtransductor de Faraday en serie. Recientemente se introdujo un nuevo transductor para espectrometría de masas que promete detectar en forma simultánea iones en el plano focal de los espectrómetros de masas

del tipo de Mattauch-Herzog y otras aplicaciones similares.⁵ En la figura 11.5 se ilustra una imagen del prototipo de la copa de Faraday. El dispositivo contiene electrodos de Faraday de oro conectados a amplificadores capacitivos de transimpedancia. Cada amplificador integra la carga en el electrodo y el voltaje de salida se conmuta por medio de un multiplexor al sistema de datos para que se efectúe la conversión de señal analógica en digital. Los elementos en la imagen son de 145 μm de ancho, pero en principio pueden medir 10 μm de ancho. El sistema de detección es de 5% de exactitud y 0.007% de desviación estándar relativa en mediciones de patrones de relación de isótopos, límites de detección tan pequeños que miden tan solo décimas a centésimas de parte por mil billones y un intervalo dinámico lineal de más de siete órdenes de magnitud. El potencial del sistema de detección ha sido evaluado en experimentos con plasma acoplado por inducción así como en cromatografía de gases/es-

⁵ A. K. Knight IV, R. P. Sperline, G. M. Hieftje, E. Young, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal y M. B. Denton, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2002**, 215, p. 131; J. H. Barnes IV, G. D. Schilling, G. M. Hieftje, R. P. Sperline, M. B. Denton, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2004**, 15, pp. 769-776; J. H. Barnes IV, G. D. Schilling, R. P. Sperline, M. B. Denton, E. T. Young, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal, G. M. Hieftje, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, pp. 2531-2536; J. H. Barnes IV et al., *J. Anal. At. Spectrom.*, **2004**, 19, pp. 751-756; G. D. Schilling et al., *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 4319.

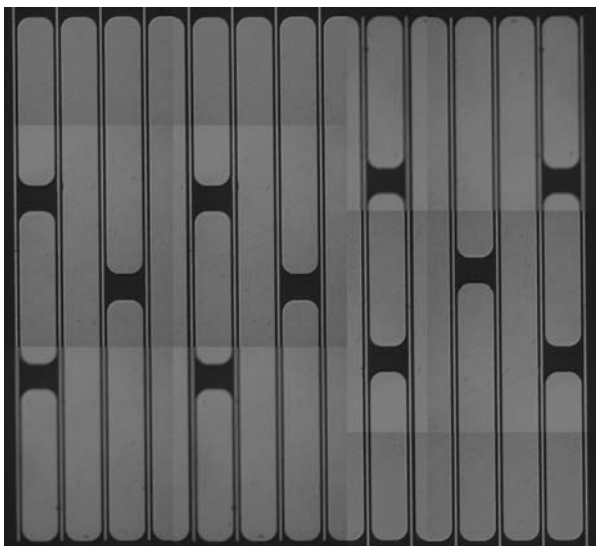


FIGURA 11.5 Un microtransductor de Faraday en serie para iones. Los elementos del transductor miden 5, 2.45 y 1.60 mm de longitud y 145 μm de ancho con separación de 10 μm . Hay también un electrodo de guarda de 10- μm entre cada elemento. (Reimpreso de A. K. Knight IV, R. P. Sperline, G. M. Hieftje, E. Young, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal y M. B. Denton, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2002**, 215, p. 131. Copyright 2002 Wiley.)

pectrometría de masas. Una versión reciente de 128 elementos del transductor mostró un intervalo dinámico de más de siete órdenes de magnitud, poder de resolución de hasta 600 y exactitud de relación de isótopos de 0.2% y precisión de 0.018%. La configuración de copa de Faraday es útil en particular en la detección simultánea de iones en experimentos en los que se estudian especies transitorias con características de desempeño similares a las de los transductores de un solo canal más modernos.

Otros tipos de sistemas de detección

Los detectores tipo centelleo están constituidos de fósforo cristalino disperso en una fina lámina de aluminio que se instala sobre la ventana de un tubo fotomultiplicador. Cuando los iones (o los electrones que se producen cuando los iones inciden sobre el cátodo) chocan contra el fósforo, producen destellos de luz que detecta el fotomultiplicador. Una versión especializada de este tipo de dispositivo es el detector Daly, que consiste en un cátodo aluminizado en forma de perilla, denominada perilla de Daly, que se mantiene a un voltaje negativo muy alto opuesto a un transductor de centelleo. Los iones del analito chocan contra el cátodo, con lo cual se producen electrones secundarios que

son atraídos luego a la superficie de un transductor de centelleo. El detector de Daly tiene la ventaja de que todos los componentes importantes del sistema, excepto la perilla, están fuera de la cámara de vacío, por lo que se les puede dar servicio sin perturbarla. El detector es muy útil sobre todo para las especies de masas muy grandes.⁶

Igual que en la espectroscopía óptica, en la que durante muchos años se utilizaron placas y películas fotográficas como transductores de fotones, las emulsiones fotográficas son sensibles a los iones energéticos, y por eso fueron los transductores originales y por un tiempo los únicos para la espectrometría de masas. Este tipo de detección está muy bien adaptado para la observación simultánea de un amplio intervalo de valores m/z en instrumentos que enfocan iones en un plano (figura 11.11). A medida que los detectores electrónicos evolucionaron, la detección fotográfica se volvió muy rara. Sin lugar a dudas, las aplicaciones oscuras todavía requieren registro fotográfico de los espectros de masas, pero con el surgimiento de los transductores para la espectrometría de masas y la eliminación del aburrido trabajo de revelado de películas o placas, es probable que desaparezca este método.

11B.2 Analizador de masas cuadrupolar

En la figura 11.6 se muestra el analizador de masas cuadrupolar que es el tipo más común de espectrómetro de masas atómicas. Este instrumento es más compacto, más barato y más potente que cualquier otro tipo de espectrómetro de masas. También presenta la ventaja de su elevada velocidad de barrido, de manera que se puede obtener un espectro de masas completo en menos de 100 ms.⁷

La parte principal de un instrumento cuadrupolar son las cuatro barras cilíndricas paralelas, que originalmente eran hiperbólicas, que conforman los electrodos. Las barras opuestas están conectadas eléctricamente: un par está conectado al polo positivo de una fuente variable cd y el otro par se conecta a la terminal negativa. Además, a cada par de barras se les aplican voltajes variables de corriente alterna de radiofrecuencia, que están desfasados 180° . Para obtener un espectro de masas con este dispositivo, los iones se aceleran en el espacio entre las barras mediante una diferencia de potencial de 5 a 10 V. Entre tanto, los voltajes de corriente directa y alterna en las barras se incrementan de manera simultánea mientras se mantiene constante su relación. En cualquier momento, todos los iones excepto los que tengan un determinado valor de m/z



Clases interactivas: aprenda más acerca de los transductores para espectrometría de masa.

⁶J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., pp. 336-337, Nueva York: Raven Press, 1997.

⁷P. E. Miller y M. B. Denton, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. 617.

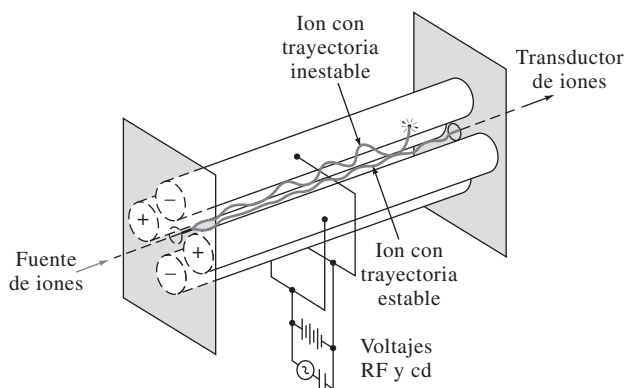


FIGURA 11.6 Espectrómetro de masas cuadrupolo.

chocan contra las barras y se convierten en moléculas neutras. Por tanto, sólo los iones cuyo valor de m/z esté dentro de un intervalo limitado de valores llegan a al transductor. Por lo regular, los instrumentos cuadrupolares separan con facilidad los iones cuya masa difiere en una unidad.

Observe que un espectrómetro de masas cuadrupolo es más parecido a un fotómetro óptico de filtros de banda variable que a un espectrómetro óptico en el que la red dispersa de manera simultánea un espectro de radiación electromagnética. Por esta razón el dispositivo recibe a veces el nombre de filtro de masas en lugar de analizador de masas.

Trayectorias de los iones en un cuadrupolo

Para comprender la capacidad de filtración de un cuadrupolo, es necesario considerar el efecto de los voltajes de corriente continua y de corriente alterna en la trayectoria de los iones a medida que atraviesan el canal entre las barras.⁸ Primero ponga atención en el par de barras positivas que se muestran en la figura 11.7 en el plano xz . Cuando no existe un voltaje de corriente continua, los iones que están en el canal tienden a unirse en el centro de éste durante el semiciclo positivo de corriente alterna y tienden a separarse durante la mitad negativa. Este comportamiento se muestra en los puntos A y B de la figura. Si durante el semiciclo negativo un ion choca contra la barra, la carga positiva se neutraliza y la molécula resultante será expelida. El que un ion positivo choque o no contra la barra depende de su velocidad de movimiento a lo largo del eje z , su relación masa-carga y la frecuencia y magnitud de la señal de corriente alterna.

⁸El estudio de los filtros de masa cuadrupolares que sigue se basa principalmente en P. E. Miller y M. B. Denton, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. 617. Refiérase también a R. E. Marchand y R. J. Hughes, *Quadrupole Storage Mass Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1989; J. J. Leary y R. L. Schmidt, *J. Chem. Educ.*, **1996**, 73, p. 1142.

Ahora consideremos el efecto de un potencial positivo cd que se superpone a una señal ca. De acuerdo con la física newtoniana, la cantidad de movimiento de los iones con la misma energía cinética es directamente proporcional a la raíz cuadrada de su masa. Por tanto, es más difícil desviar un ion más pesado que uno más ligero. Si un ion presente en el canal es pesado o la frecuencia del voltaje de corriente alterna es grande, el ion no responderá en forma categórica al voltaje alterno y estará influenciado en gran medida por el voltaje de corriente continua. En estas circunstancias el ion tiende a permanecer en el espacio entre las barras. En cambio, si el ion es ligero o la frecuencia es baja, puede chocar contra la barra y ser eliminado durante la excursión negativa del voltaje de corriente alterna. Por consiguiente, como se puede ver en la figura 11.8a, el par positivo de barras forma un filtro de masa pasaalta para iones positivos que se desplazan por el plano xz .

Enfóquese ahora en el par de barras que se mantienen a un voltaje negativo cd. En ausencia de un campo ca, todos los iones positivos tienden a ser arrastrados hacia las barras, donde serán eliminados. En el caso de los iones más ligeros este movimiento se puede compensar mediante la excursión del potencial de corriente alterna. Por consiguiente, como se muestra en la figura 11.8b, las barras del plano yz funcionan como un filtro pasabajos.

Para que un ion se desplace a través del cuadrupolo hasta el detector, debe tener una trayectoria estable en los planos xz y yz . Entonces, el ion debe ser lo suficientemente pesado para que no lo elimine el filtro de masa alta en el plano xz y debe ser suficientemente ligero para que no lo elimine el filtro de masa baja en el plano yz . Por tanto, como se muestra en la figura 11.8c, el cuadrupolo total transmite una banda de iones que tiene un intervalo limitado de valores de m/z . El centro de esta banda se puede hacer variar ajustando los voltajes de corriente continua y de corriente alterna.

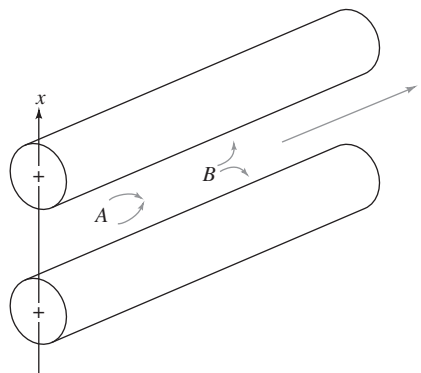


FIGURA 11.7 Funcionamiento de un cuadrupolo en el plano xz . A: los iones se enfocan en el eje z ; B: los iones son atraídos hacia las barras x .

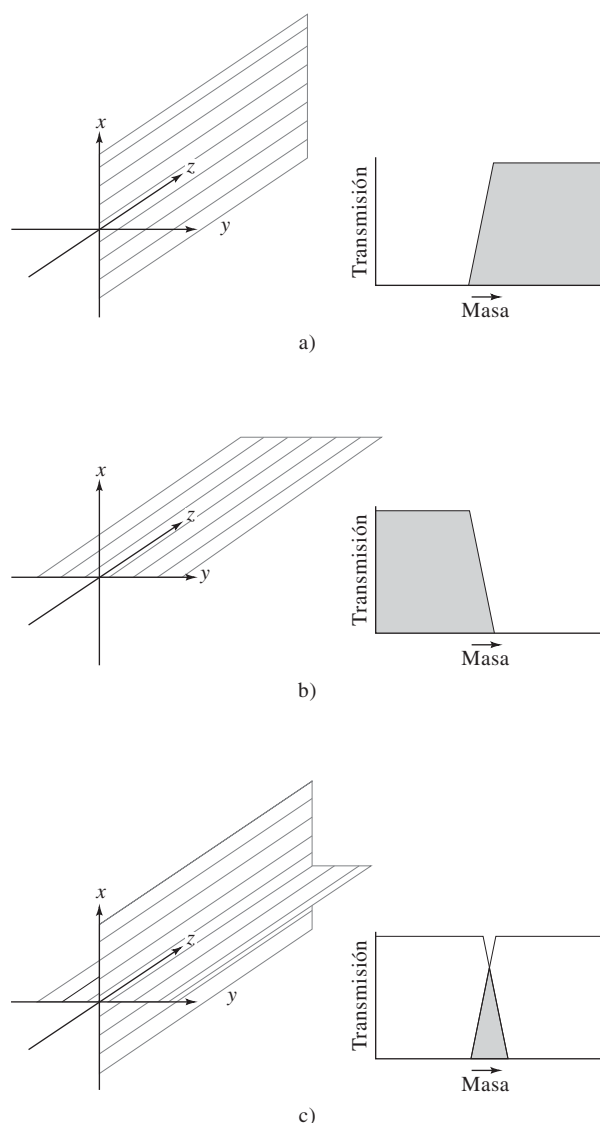


FIGURA 11.8 El cuadrupolo funciona como a) un filtro pasaaltas de masas en el plano xz , b) un filtro pasabajas de masas en el plano yz y c) un filtro de banda estrecha cuando operan los filtros pasaaltas y pasabajas. (Reproducción con autorización de P. E. Miller y M. B. Denton, *J. Chem. Educ.*, **1986**, 63, p. 619. Figuras 6, 7 y 8. Copyright 1986 Journal of Chemical Education.)

Barrido con un filtro cuadrupolar

Las ecuaciones diferenciales que se necesitan para describir el comportamiento de los iones de diferente masa en un cuadrupolo son complejas y difíciles de tratar analíticamente, además están fuera del objetivo de este libro. Dichas ecuaciones revelan que las oscilaciones de las partículas cargadas en un cuadrupolo per-

tenecen a dos categorías: 1) aquellas cuyas oscilaciones son finitas y 2) aquellas cuyas oscilaciones crecen de manera exponencial y se aproximan al infinito. Las variables que aparecen en estas ecuaciones son la relación masa-carga, el voltaje de corriente continua, la frecuencia y magnitud del voltaje de corriente alterna y la distancia entre las barras. La resolución del cuadrupolo se determina por la relación entre los voltajes de corriente alterna y continua, y llega a ser máxima cuando esta relación es ligeramente inferior a 6. Entonces, los espectrómetros cuadrupolares funcionan con una relación de voltajes constante de este valor.

Para hacer el barrido de un espectro de masas con un instrumento cuadrupolar, los voltajes de corriente alterna V y de corriente continua U se incrementan de manera simultánea desde cero hasta un valor máximo mientras se mantiene su relación un poco por debajo de 6. Los cambios en el voltaje durante un barrido característico se muestran en la figura 11.9. Las dos líneas rectas divergentes muestran la variación en los dos voltajes de corriente continua en función del tiempo. El tiempo para un solo barrido es de unos pocos milisegundos. En tanto que los potenciales de corriente continua varían de cero a alrededor de ± 250 V, los voltajes de corriente alterna aumentan en forma lineal desde cero hasta casi 1500 V. Observe que los dos voltajes de corriente continua están desfasados 180° .

Varios fabricantes de instrumentos comercializan espectrómetros de masas cuadrupolares con intervalos de hasta 3000 a 4000 m/z . Estos instrumentos separan con facilidad iones que difieren por una unidad en su masa. Por lo general los instrumentos cuadrupolares están equipados con una abertura circular en vez de una rendija (véase la figura 11.6) por la que se introduce la muestra en la región dispersante. La abertura proporciona una cantidad de muestra mucho mayor

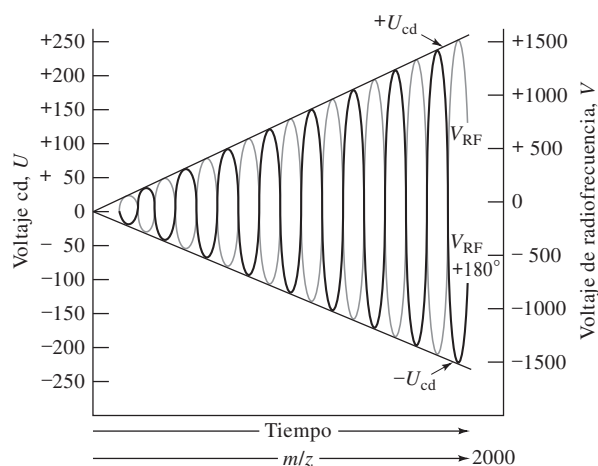


FIGURA 11.9 Relaciones de voltaje durante un barrido de masas con un analizador cuadrupolar.



Simulación: aprenda más acerca de los **analizadores de masas cuadrupolares**.

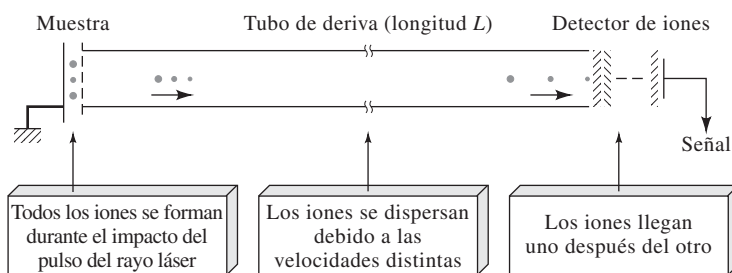


FIGURA 11.10 Principio de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo. Un grupo apretado de iones producido por una sonda láser es acelerado hacia el tubo de deriva, donde se produce la separación. (Tomado de A. H. Verbueken, F. J. Bruynseels, R. Van Grieken y F. Adams, en *Inorganic Mass Spectrometry*, p. 186, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, eds., Nueva York: Wiley, 1988. Con autorización.)

que la que pueden tolerar los instrumentos de sector magnético, en los cuales la resolución es inversamente proporcional a la anchura de la rendija.

11B.3 Analizadores de masas de tiempo de vuelo

En los instrumentos de tiempo de vuelo, los iones positivos se producen de manera periódica al bombardear la muestra con impulsos cortos de electrones, iones secundarios o fotones generados por láser. Estos impulsos suelen tener frecuencias de 10 a 50 kHz y un tiempo de vida de 0.25 ms. Los iones que se producen de esta manera son acelerados después mediante un pulso de campo eléctrico de 10^3 a 10^4 V que tiene la misma frecuencia que el pulso de ionización, pero retrasada. Las partículas aceleradas pasan al *tubo de deriva* de casi un metro de longitud que no está sometido a ningún campo (figura 11.10). Debido a que todos los iones que entran en el tubo tienen idealmente la misma energía cinética, sus velocidades dentro de aquél deben ser inversamente proporcionales a sus masas, y las partículas más ligeras llegan al detector antes que las más pesadas. Los tiempos de vuelo característicos son de microsegundos para un tubo de vuelo de 1 m.⁹ Las ecuaciones que rigen la espectrometría de masas de tiempo de vuelo se proporcionan en la sección 20C-3.

Por lo regular, el transductor en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo es un multiplicador de electrones cuya señal de salida se despliega en las placas de desviación vertical de un osciloscopio, mientras el barrido horizontal se sincroniza con los pulsos del acelerador. En la pantalla del osciloscopio aparece casi de manera instantánea la imagen del espectro de masas. Como los tiempos de vuelo característicos son del orden de microsegundos, se necesitan componentes elec-

trónicos muy rápidos para la adquisición digital de los datos. Las variaciones en la energía de los iones y en las posiciones iniciales de los mismos causan el ensanchamiento de los picos que restringen la resolución obtenida.

Desde el punto de vista de la resolución y la reproductibilidad, los instrumentos equipados con analizadores de masas de tiempo de vuelo no son tan satisfactorios como los que utilizan separadores magnéticos o cuadrupolares. Por ejemplo, los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo con plasma acoplado por inducción proporcionan un orden de magnitud más deficiente en sensibilidad y en límites de detección que los sistemas cuadrupolares similares.¹⁰ Sin embargo, algunas ventajas compensan en parte estas limitaciones, como la sencillez, la robustez, la facilidad de llegar a la fuente de iones, un intervalo de masas virtualmente ilimitado y rapidez en la adquisición de datos. En la actualidad, varios fabricantes ofrecen instrumentos de tiempo de vuelo, pero se utilizan menos que los espectrómetros de masas cuadrupolares.

11B.4 Analizadores de doble enfoque

De acuerdo con la figura 11.11, un espectrómetro de masas de doble enfoque contiene dos dispositivos para enfocar un haz de iones: un *analizador electrostático* y un *analizador de sector magnético*. En este instrumento, los iones que proceden de una fuente son acelerados a través de una rendija en un campo electrostático curvo que concentra un haz de iones que se hallan en una estrecha banda de energías cinéticas hacia una rendija que conduce a un campo magnético curvo. En este campo, los iones más ligeros se desvían más y los iones más pesados se desvían menos. Los iones dispersados chocan contra una placa fotográfica y, por tan-

⁹W. N. Delgass y R. G. Cooks, *Science*, **1987**, 235, p. 545.



Simulación: aprenda más acerca de los **analizadores de masas de tiempo de vuelo**.

¹⁰Para revisar los principios y las aplicaciones de los analizadores de masa que se utilizan en la espectrometría de masa de tiempo de vuelo con plasma acoplado por inducción, refiérase a R. J. Ray y G. M. Hieftje, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2001**, 16, pp. 1206-1216.

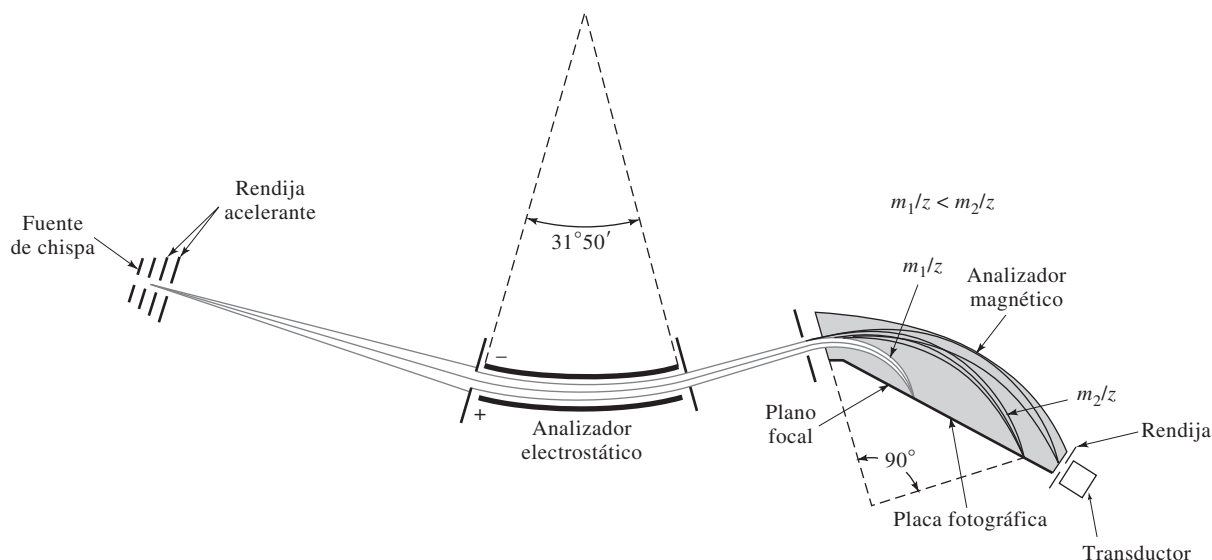


FIGURA 11.11 Espectrómetro de masas de doble enfoque tipo Mattauch-Herzog. Se ha logrado una resolución $>10^5$ con instrumentos basados en este diseño.

to, quedan registrados. Un estudio detallado de cómo funcionan los analizadores electrostáticos y magnéticos se halla en la sección 20C.3. Como se muestra en la tabla 11.1, los analizadores de este tipo se utilizan en varios tipos de espectrometría de masas atómica.

11C ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON PLASMA ACOPLADO POR INDUCCIÓN

Desde principios de los años ochenta la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción se ha perfeccionado hasta convertirse en una de las técnicas más importantes para el análisis elemental, debido a sus bajos límites de detección para la mayoría de los elementos, su alto grado de selectividad y sus razonablemente buenas precisión y exactitud.¹¹ En estas aplicaciones, una antorcha de plasma acoplado por inducción funciona como atomizador e ionizador. La introducción de la muestra en forma de solución se realiza mediante un nebulizador ordinario o ultrasónico. En el caso de sólidos, se puede emplear una de las otras técnicas de introducción de la muestra que se analizaron en la sección 8C.2, como la ablación por

chispa o por rayo láser o la descarga luminiscente. Desde 1983 se encuentran en el mercado versiones comerciales de instrumentos para estas distintas técnicas. En ellos se hace un muestreo de los iones metálicos positivos producidos con una antorcha ordinaria de plasma acoplado por inducción mediante una interfase de vacío diferencial unida a un analizador de masas casi siempre cuadrupolar. Los espectros producidos de esta manera, que son mucho más sencillos que los espectros ópticos comunes de plasma acoplado por inducción, consisten en una serie sencilla de picos de isótopos por cada elemento presente. Tales espectros se utilizan para identificar los elementos que existen en la muestra y para la determinación cuantitativa. Por lo regular, los análisis cuantitativos se basan en curvas de calibración, en las cuales se grafica la relación entre el conteo de iones del analito y el conteo para un patrón interno en función de la concentración. Los análisis también se pueden ejecutar mediante la técnica de dilución isotópica, que se describe con detalle en la sección 32D.

11C.1 Instrumentos para espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción

En la figura 11.12 se muestra un esquema de los componentes de un equipo de espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción.¹² Una parte decisiva del instrumento es la interfase que une la antorcha de plasma acoplado por inducción, la cual funciona a presión atmosférica, con el espectrómetro

¹¹Para tener descripciones detalladas de esta técnica refiérase a R. A. Thomas, *Practical Guide to ICP-MS*, vol. 33, Nueva York: Dekker, 2003; H. E. Taylor, *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: Practices and Techniques*, San Diego, CA: Elsevier, 2001; *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, A. E. Montaser, ed. Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 1998; K. E. Jarvis, A. L. Gray y R. S. Houk, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Nueva York: Chapman & Hall, 1992.



Simulación: aprenda más acerca de los **analizadores de masas de doble enfoque**.

¹²Si desea revisar los instrumentos disponibles, refiérase a K. Cottingham, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 35A.

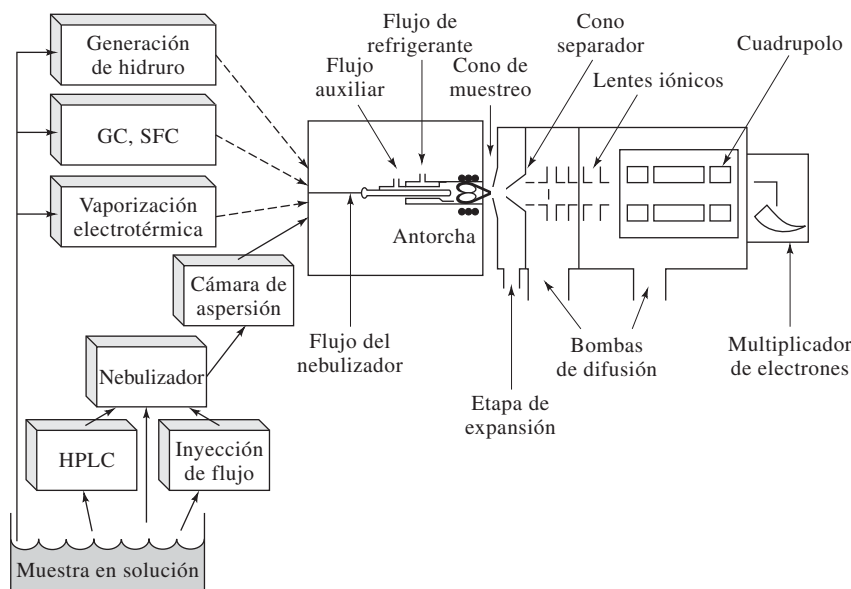


FIGURA 11.12 Esquema de un equipo para espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción. Las líneas discontinuas señalan la introducción de muestras gaseosas; las líneas continuas indican la introducción de muestras líquidas. HPLC = cromatografía para líquidos de alta resolución, SFC = cromatografía de fluidos supercríticos. (Tomado de N. P. Vela, L. K. Olson y J. A. Caruso, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 585A, figura 1, p. 587A. Copyright 1993 American Chemical Society.)

de masas que requiere una presión inferior a 10^{-4} torr. Esta unión se efectúa mediante un acoplador de interfase de vacío diferencial que consta de un cono de muestreo hecho de níquel y enfriado con agua que tiene un pequeño orificio (<1.0 mm) en el centro. El plasma caliente pasa por este orificio a una región que se mantiene a una presión de alrededor de 1 torr por medio de una bomba mecánica. En esta región se produce una expansión rápida del gas, cuyo resultado es el enfriamiento. Una fracción del gas presente en esta región pasa a través de un pequeño agujero hacia un segundo cono denominado separador (*skimmer*, en inglés) y hacia una cámara que se mantiene a la presión del espectrómetro de masas. Aquí los iones positivos se separan de los electrones y de las especies moleculares mediante un potencial negativo, y son acelerados y concentrados mediante una lente magnética de iones hacia el orificio de entrada de un analizador de masas cuadrupolar.

Entre las especificaciones de desempeño de los espectrómetros de masas atómica que hay en el comercio y que están equipados con una antorcha de plasma acoplado por inducción están un intervalo de masas de 3 a 300, que tienen la capacidad de separar iones que se diferencian en m/z por tan sólo una unidad y un in-

tervalo dinámico de seis órdenes de magnitud. Más de 90% de los elementos de la tabla periódica se determinan mediante un espectrómetro de masas de plasma acoplado por inducción. Se logran tiempos de medida de 10 s por elemento, con límites de detección de 0.1 a 10 nanogramos por mililitro (ng/ml) para la mayoría de los elementos. Se han dado a conocer desviaciones estándar relativas de 2 a 4% para concentraciones en las regiones medias de las curvas de calibración.

En épocas recientes la ablación por rayo láser ha sido reconocida como un método para la introducción de las muestras sólidas con una mínima preparación en el caso de la espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción.¹³ En esta técnica, que se ilustra en la figura 11.13, un rayo láser pulsante se enfoca sobre algunos micrómetros cuadrados de un sólido y se obtienen densidades de potencia de 10^{12} W/cm². Dicha radiación de intensidad elevada vaporiza con rapidez la mayor parte de los materiales, incluso los refractarios. Luego, un flujo de argón conduce la muestra vaporizada hacia la antorcha de plasma acoplado por inducción, donde tienen lugar la atomización y la ionización. A continuación, el plasma resultante pasa al espectrómetro de masas. Los instrumentos de este tipo son adecuados en particular para el análisis semi-



Clases interactivas: aprenda más acerca de los **espectrómetros de masas con plasma acoplado por inducción.**

¹³ Véase B. Hattendorf, C. Latkoczy y D. Gunther, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 341A; A. Montaser *et al.*, en *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, A. Montaser, ed., Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 1998, pp. 194-218.

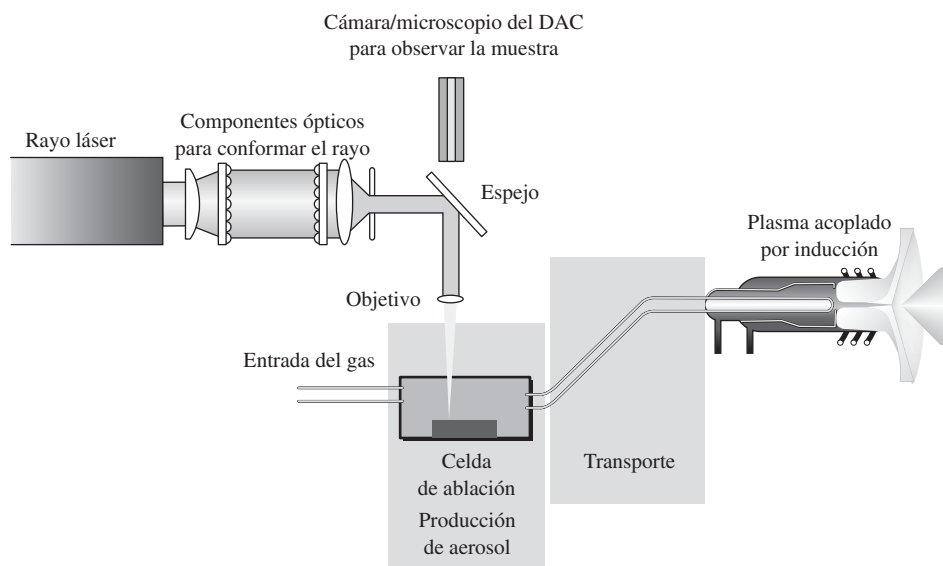


FIGURA 11.13 Sistema de introducción de la muestra mediante ablación por rayo láser en la espectrometría de masas. El dispositivo es similar a los instrumentos más comunes en el comercio para el análisis de elementos resuelto desde el punto de vista espacial. DAC = dispositivo de acoplamiento de carga. (Reimpreso de B. Hattendorf, C. Latkoczy y D. Gunther, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 341A, figura 1, p. 342A. Copyright 2003 American Chemical Society.)

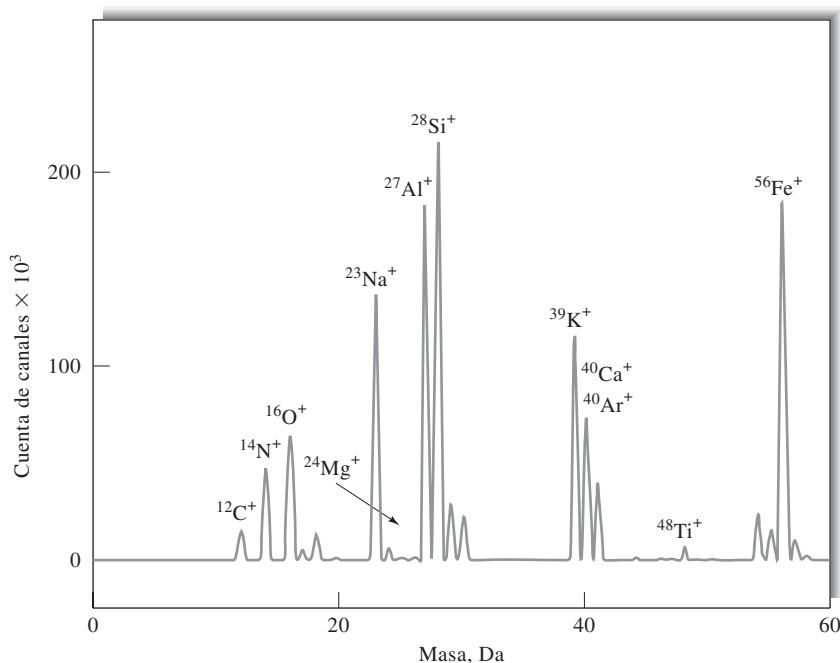


FIGURA 11.14 Espectro de una muestra de roca patrón obtenido por ablación mediante rayo láser/espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción. Componentes principales (%): Na, 5.2; Mg, 0.21; Al, 6.1; Si, 26.3; K, 5.3; Cu, 1.4; Ti, 0.18; Fe, 4.6. (Tomado de *Inorganic Mass Spectrometry*, F. Adams, R. Gijbek y R. Van Grieken, eds., p. 297, Nueva York: Wiley, 1988. Con autorización.)

cuantitativo (o para el análisis cuantitativo si se puede usar el patrón interno) de muestras que son difíciles de descomponer o disolver, como los materiales geológicos, aleaciones, vidrios, gemas, productos agrícolas,

partículas en suspensión de los medios urbanos y suelos. En la figura 11.14 se presenta un espectro de masas de una muestra de roca patrón obtenido por ablación por láser/espectrometría de masas atómica con plasma

acoplado por inducción. Para obtener este espectro la roca se trituró hasta obtener un polvo fino y se le dio la forma de una pastilla pequeña mediante presión. Luego de la ablación con el rayo láser, se introdujo el vapor resultante en la antorcha de plasma acoplado por inducción por medio de un flujo de un gas inyector y en ella se produjo la ionización. Los iones gaseosos se analizaron después en un espectrómetro de masas cuadrupolar.

Los límites de detección para la ablación por rayo láser en la espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por inducción dependen de una gran cantidad de variables experimentales, como las variables del instrumento, así como el tipo y calidad de la muestra, pero los límites característicos están por debajo del nivel del microgramo por gramo. En ciertas condiciones experimentales, en el caso de ciertos elementos como talio y uranio, los límites de detección están en el orden del nanogramo por gramo. Son comunes las desviaciones estándar en el orden de un porcentaje bajo. Una de las principales ventajas de la ablación mediante láser es que el haz se puede dirigir a varios lugares de la muestra para proporcionar espectros de masa con resolución espacial.

En el mercado existen accesorios que permiten el uso de la mayoría de las fuentes de iones que se citan en la tabla 11.1 junto con una antorcha de plasma acoplado por inducción.

11C.2 Espectros de masas atómicas e interferencias

Una de las ventajas de utilizar la detección espectrométrica de masas con plasma acoplado por inducción en comparación con la detección óptica es que los espectros de masas suelen ser mucho más sencillos y fáciles de interpretar que los correspondientes espectros ópticos. Esta propiedad es válida sobre todo para elementos como las tierras raras, que muestran miles de líneas de emisión. En la figura 11.15 se muestra esta ventaja para una disolución que contiene cerio. La figura 11.15a corresponde al espectro óptico de emisión de una solución que contiene 100 ppm de cerio; la gráfica inferior es el espectro de masas de una disolución que tiene una concentración de 10 ppm del mismo elemento. El espectro óptico del cerio contiene una docena o más de líneas intensas de cerio y cientos de líneas débiles; todas ellas están sobrepuestas sobre el complejo espectro del fondo. El fondo óptico está compuesto por bandas moleculares de contaminantes atmosféricos, como NH, OH, N₂ y H₂, y un espectro continuo correspondiente a la recombinación del argón y otros iones con los electrones. En cambio, el espectro de masas del cerio, que se muestra en la figura 11.15b, es más sencillo, consta de dos picos de isótopo para el ¹⁴⁰Ce⁺

y para el ¹⁴²Ce⁺ y un pequeño pico para el ¹⁴⁰Ce²⁺ con doble carga, que se localiza en una $m/z = 70$. Observe que el fondo de este espectro consta tan sólo de pocas especies iónicas moleculares, y todas ellas aparecen en valores de m/z iguales o inferiores a 40.

Espectros como el de la figura 11.15b hicieron pensar a los primeros investigadores en el campo de la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción que era un método sin interferencias. Desafortunadamente, esta esperanza no se concretó en estudios posteriores, porque algunas veces se encuentran graves problemas de interferencia en la espectrometría de masas atómica como sucede también en la espectroscopía óptica atómica. Los efectos de la interferencia en la espectroscopía de masas atómica son de dos grandes tipos: interferencias espectroscópicas e interferencias no espectroscópicas. Estas últimas son similares a los efectos de matriz que se producen en los métodos ópticos de absorción y de emisión y casi siempre se pueden resolver mediante alguno de los métodos que se describieron en los dos capítulos anteriores.

Interferencias espectroscópicas

Las interferencias espectroscópicas ocurren cuando una especie iónica que está en el plasma tiene los mismos valores de m/z que un ion del analito. Dichas interferencias pueden ser de cuatro tipos: 1) iones isobáricos, 2) iones poliatómicos, 3) iones con doble carga y 4) iones de óxidos refractarios.¹⁴

Interferencias isobáricas. Las especies isobáricas son dos elementos que poseen isótopos cuya masa es sustancialmente la misma. En el caso de la espectrometría de masas atómica con un espectrómetro de masas cuadrupolar, las especies isobáricas son isótopos cuya masas difiere en menos de una unidad. Con instrumentos de elevada resolución se pueden tolerar diferencias más pequeñas.

La mayoría de los elementos de la tabla periódica tienen uno, dos o incluso tres isótopos que carecen de traslape isobárico. Una excepción es el indio, que tiene dos isótopos estables, el ¹¹³In⁺ y el ¹¹⁵In⁺. El primero se superpone con el ¹¹³Cd⁺ y el segundo con el ¹¹⁵Sn⁺. Lo más frecuente es que haya interferencia isobárica con el isótopo más abundante y, por tanto, con el más sensible. Por ejemplo, el pico muy intenso del ⁴⁰Ar⁺ (véase figura 11.15b) se traslapa con el pico del isótopo

¹⁴Para contar con un estudio exhaustivo de las interferencias en la espectrometría de masa con plasma acoplado por inducción, refiérase a H. E. Taylor, *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: Practices and Techniques*, San Diego, CA: Elsevier, 2001; G. Horlick y A. Montaser en *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, A. Montaser, ed., cap. 7, Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 1998; K. E. Jarvis, A. L. Gray y R. S. Houk, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, cap. 5, Nueva York: Blackie, 1992.

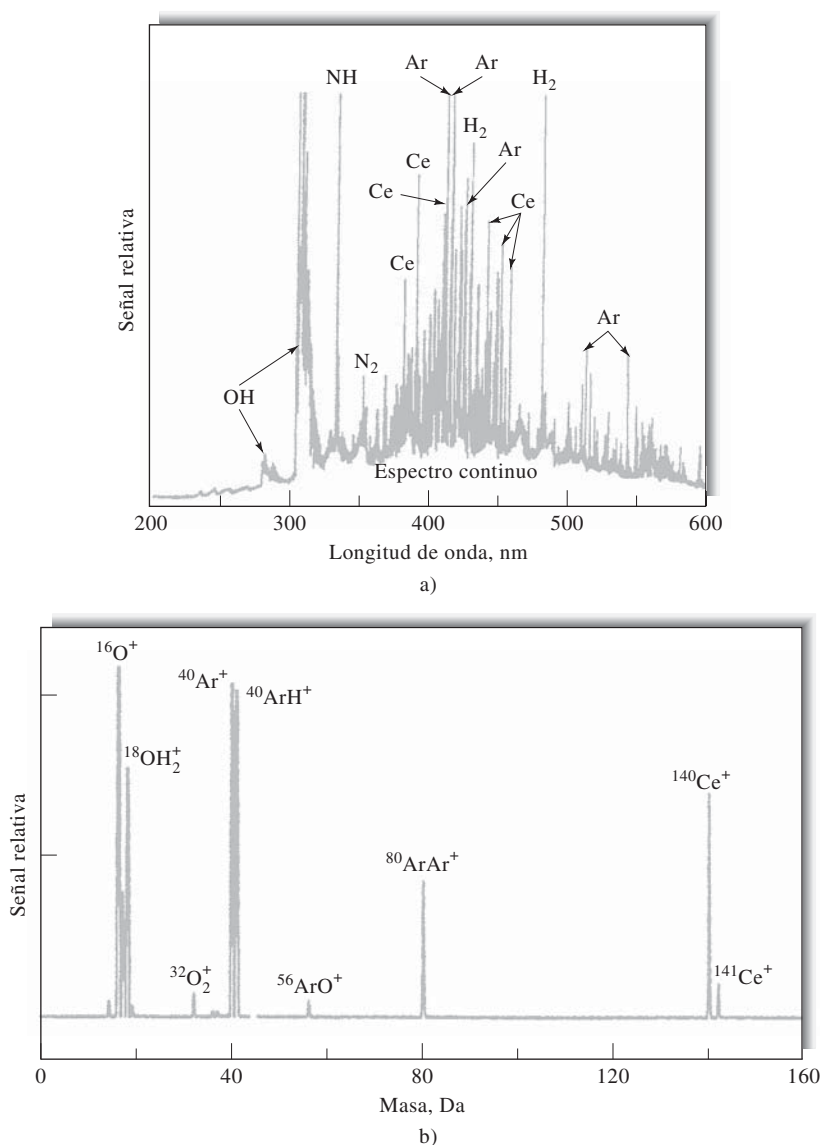


FIGURA 11.15 Comparación de a) un espectro óptico de plasma acoplado por inducción para 100 ppm de cerio y b) un espectro de masas de plasma acoplado por inducción para 10 ppm de cerio.

más abundante del calcio $^{40}\text{Ca}^+$ (97%), lo cual requiere el uso del segundo isótopo más abundante $^{40}\text{Ca}^+$ (2.1%). Otro ejemplo es el isótopo más abundante del níquel, $^{58}\text{Ni}^+$, que presenta un traslape isobárico con el $^{58}\text{Fe}^+$. Esta interferencia se puede corregir midiendo el pico del $^{56}\text{Fe}^+$. A partir de la relación de la abundancia natural del isótopo $^{56}\text{Fe}^+$ frente al isótopo $^{58}\text{Fe}^+$, se puede calcular la contribución de Fe al pico a una m/z 58 y efectuar la corrección. Las correcciones de este problema se pueden llevar a cabo mediante un programa de computación adecuado, debido a que los traslapes o superposiciones isobáricas se predicen con exactitud a partir de las tablas de abundancia. Algunos instrumentos actuales son capaces de efectuar dichas correcciones en forma automática.

Interferencias de iones poliatómicos. Una interferencia que suele ser más grave que la que causan los elementos isobáricos es la que surge a partir de especies poliatómicas formadas por interacciones entre las especies del plasma y las especies de la matriz o de la atmósfera que pueden formar diversos iones moleculares que causarían interferencia. Ésta se observa con frecuencia en valores de m/z inferiores a 82. La presencia de varias de estas especies se muestra en la figura 11.15b. Entre los posibles interferentes están $^{40}\text{Ar}^+$, $^{40}\text{ArH}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$, $^{16}\text{OH}_2^+$, $^{16}\text{OH}^+$, $^{14}\text{N}^+$ y otros más. Algunos de ellos pueden causar graves problemas. Ejemplos de interferencias poliatómicas importantes son $^{14}\text{N}_2^+$ con $^{28}\text{Si}^+$, NOH^+ con $^{31}\text{P}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$ con $^{32}\text{S}^+$, $^{40}\text{ArO}^+$ con $^{56}\text{Fe}^+$ y $^{40}\text{Ar}_2^+$ con $^{80}\text{Se}^+$. Algunas de estas in-

terferencias pueden corregirse con un blanco. En otras, se puede utilizar un isótopo diferente del analito.

Interferencia de especies óxido e hidróxido. El tipo de interferencia más importante en espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción corresponde a los óxidos e hidróxidos formado a partir del propio analito, de los componentes de la matriz, del disolvente y de los gases del plasma. Algunos de estos óxidos aparecen en la figura 11.15b. Las interferencias más importantes de este tipo surgen con los óxidos e hidróxidos de los analitos y de los componentes de la matriz. Casi todas estas especies tienden a formar iones MO^+ y MOH^+ donde M representa el analito o el elemento de la matriz. Existe la posibilidad de que los picos de estas especies se superpongan con el pico de uno de los iones del analito. Por ejemplo, los iones de óxido con una sola carga de los cinco isótopos del titanio que aparecen de forma natural tienen masas de 62, 63, 64, 65 y 66. Los picos de estos iones tienen la posibilidad de interferir con los picos del analito del $^{62}Ni^+$, $^{63}Cu^+$, $^{64}Zn^+$, $^{65}Cu^+$ y $^{66}Zn^+$. Otro ejemplo son los problemas potenciales que crean el óxido y el hidróxido de los isótopos de calcio en la determinación de varias especies metálicas, y que se muestran en la tabla 11.2.

Reducir la formación de óxidos e hidróxidos en los plasmas es el objetivo de muchas de las investigaciones actuales. La formación de los óxidos depende de variables experimentales como el caudal del inyector, la potencia de radiofrecuencia, el espaciamiento del separador de muestreo, el tamaño del orificio de la muestra, la composición de los gases del plasma, la eliminación del oxígeno y la eficacia para eliminar el disolvente. Todas estas variables se pueden ajustar para evitar de

TABLA 11.2 Óxido e hidróxido de calcio y otros interferentes potenciales en la región de masa relacionados con la determinación de Ni.

<i>m/z</i>	Elemento ^a	Interferencias
56	Fe (91.66)	^{40}ArO , ^{40}CaO
57	Fe (2.19)	$^{40}ArOH$, $^{40}CaOH$
58	Ni (67.77), Fe (0.33)	^{42}CaO , $NaCl$
59	Co (100)	^{43}CaO , $^{42}CaOH$
60	Ni (26.16)	$^{43}CaOH$, ^{44}CaO
61	Ni (1.25)	$^{44}CaOH$
62	Ni (3.66)	^{46}CaO , Na_2O , NaK
63	Cu (69.1)	$^{46}CaOH$, $^{40}ArNa$
64	Ni (1.16), Zn (48.89)	$^{32}SO_2$, $^{32}S_2$, ^{48}CaO
65	Cu (30.9)	^{33}S , ^{32}S , $^{33}SO_2$, $^{48}CaOH$

Tomado de M. A. Vaughan y D. M. Templeton, *Appl. Spectrosc.*, **1990**, *44*, p. 1685. Con autorización.

^aPorcentaje de abundancia natural entre paréntesis.

manera específica los problemas de traslape de hidróxidos y óxidos.

Efectos de la matriz

En la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción, los efectos de la matriz llegan a ser evidentes a concentraciones concomitantes superiores a 500 a 1000 mg/mL. Estos efectos suelen reducir la señal del analito, aunque en ciertas condiciones experimentales se observa un aumento de dicha señal. El efecto de la matriz es bastante general ya que una concentración elevada de casi cualquier elemento concomitante ocasiona dicho efecto. En general, se le puede reducir al mínimo utilizando disoluciones más diluidas, alterando el procedimiento de introducción de la muestra o separando las especies que lo provocan. Los efectos también se eliminan en gran medida mediante el uso de un patrón interno apropiado, es decir, con la introducción de un elemento patrón interno que tenga casi la misma masa y potencial de ionización que el analito.

11C.3 Aplicaciones

La espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción se puede utilizar para la determinación cualitativa, semicuantitativa y cuantitativa de uno o más elementos en muestras de materia.

Aplicaciones cualitativas y semicuantitativas

Dado que la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción se adapta con facilidad a los análisis multielementales, se adecua a la caracterización rápida y al análisis semicuantitativo de varios tipos de materiales complejos que aparecen en la naturaleza o que son fabricados. En general, los límites de detección son mejores que los del plasma acoplado por inducción de emisión óptica y compite con los límites de detección de la espectroscopía de absorción atómica electrotérmica.

Los espectros de masas atómicos son más sencillos y fáciles de interpretar que los espectros de emisión ópticos. Esta propiedad es muy importante para muestras que contienen tierras raras y otros metales pesados, como el hierro, que producen espectros de emisión complejos. En la figura 11.15b se ilustra esta ventaja. Esta sencillez en los espectros se observa también en la figura 11.16, que muestra el espectro de masas atómicas de una mezcla de 14 elementos de las tierras raras que tienen un intervalo de número de masa atómico de 139 a 175. El espectro de emisión óptico para esta mezcla sería tan complejo que su interpretación sería tediosa, requeriría mucho tiempo y tal vez fuera imposible.

El análisis semicuantitativo de uno o más de los componentes en una mezcla como la de la figura 11.16 es posible si se mide la corriente o la intensidad del

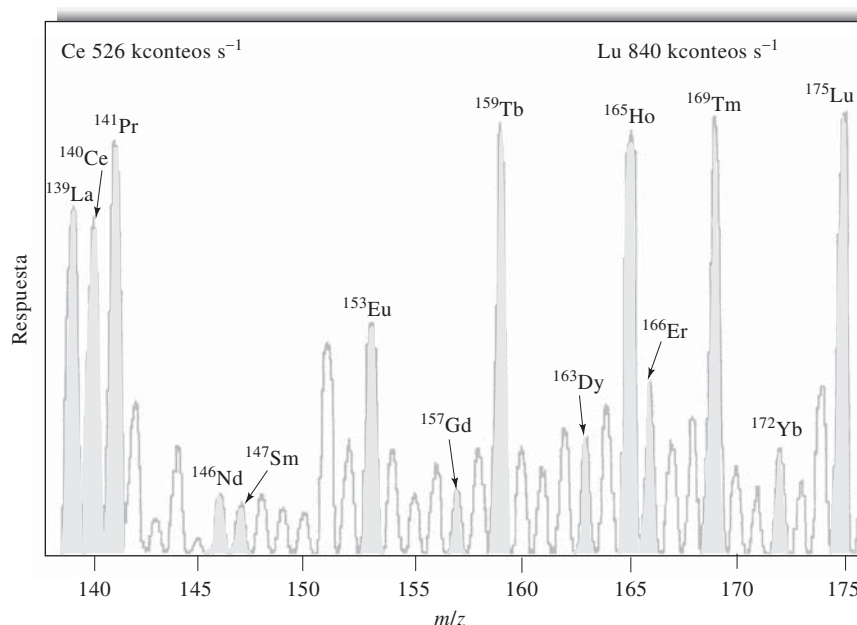


FIGURA 11.16 Espectro obtenido con espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción de elementos de las tierras raras. Las disoluciones contienen 1 mg/mL de cada elemento. (Tomado de K. E. Jarvis, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1989**, 4, p. 563. Con autorización.)

pico del ion en una solución que tenga una concentración conocida del elemento en cuestión. La concentración del analito en la muestra se calcula entonces suponiendo que la corriente del ion es proporcional a la concentración. Las concentraciones calculadas por medio de este procedimiento rudimentario pero sencillo llegan a exactitudes de hasta $\pm 100\%$ relativo.

Límites de detección

Uno de los principales atractivos de la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción radica en

sus límites de detección más bajos que los de la detección óptica. En muchos casos dichos límites son iguales y, a veces, sobrepasan a los que se pueden obtener con los métodos de absorción atómica electrotérmica. La técnica de la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción ofrece las grandes ventajas de la rapidez y de la capacidad de estudiar varios elementos. En la figura 11.17 se comparan los límites de detección para ciertos elementos con espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción contra los de la espectroscopía de emisión óptica con plasma aco-

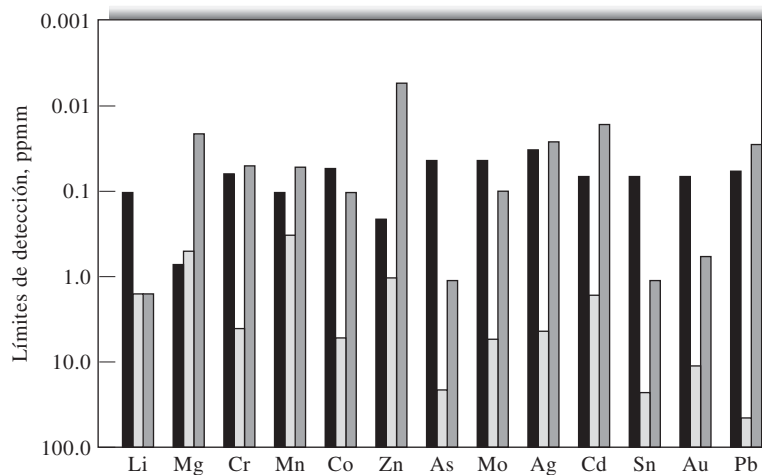


FIGURA 11.17 Límites de detección de algunos elementos seleccionados para espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (barras negras) comparados con los de la espectroscopía de absorción atómica electrotérmica con plasma acoplado por inducción (barras gris claro) y con la espectroscopía de absorción atómica electrotérmica (barras gris oscuro), graficados en escala logarítmica para concentraciones de ppmm (o mg/L). Como los límites de detección con espectroscopía de absorción atómica electrotérmica se expresan de manera inherente en unidades de masa (pg), se han transformado a concentración suponiendo un volumen de muestra de 20 μL . (Tomado de M. Selby y G. M. Hieftje, *Amer. Lab.*, **1987** (8), p. 20. Con autorización.)

plado por inducción y contra los de la espectroscopía de absorción atómica electrotérmica. Estos datos son característicos para la mayoría del resto de los elementos de la tabla periódica. En general, los límites para la detección espectrométrica de masas varían entre 0.02 y 0.7 ppmm (partes por mil millones), y la mayoría de los elementos están en el intervalo de 0.02 a 0.1 ppmm.

Análisis cuantitativos

El método cuantitativo que más se utiliza con espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción contiene un conjunto de patrones para preparar una curva de calibración. Si las soluciones incógnita están lo suficientemente diluidas —menos de 2000 $\mu\text{g/mL}$ de sólidos disueltos totales—, por lo regular es adecuado usar patrones únicos en solución acuosa. Para concentraciones elevadas de elementos de la matriz, se intenta igualar los que están presentes en las muestras con los de los patrones. Para compensar la deriva del instrumento, las inestabilidades y los efectos de la matriz, se introduce un patrón interno tanto en los patrones como en las muestras. El patrón interno es un elemento que está ausente de las muestras y cuya masa atómica y potencial de ionización están cerca de los de los

analitos. A menudo se utilizan dos elementos como patrones internos, el indio y el rodio. Ambos producen iones en la parte central del intervalo de masa (^{115}In , ^{113}In y ^{103}Rh) y no están presentes en forma natural en las muestras. Por lo general, las graficas log/log de la corriente iónica, el conteo de iones o las relaciones entre las intensidades de la muestra y las del patrón interno son lineales en varios órdenes de magnitud de concentración. En la figura 11.18 se muestran las curvas de calibración para la determinación de varios elementos de las tierras raras. Se observa una relación lineal entre la cuenta del pico y la concentración a lo largo de cuatro órdenes de magnitud de la concentración.

En la tabla 11.3 se proporcionan los resultados característicos obtenidos para el análisis cuantitativo de elementos traza en una muestra de agua natural de la Oficina Nacional de Patrones (NBS, por sus siglas en inglés), ahora llamado Instituto Nacional de Patrones y Tecnología (NIST, por sus siglas en inglés). Observe que las concentraciones están en ng/mL . Los 13 análisis se completaron en un tiempo de tan sólo 15 min. Los resultados muestran una marcada concordancia con los datos de la muestra patrón en la mayoría de los elementos.

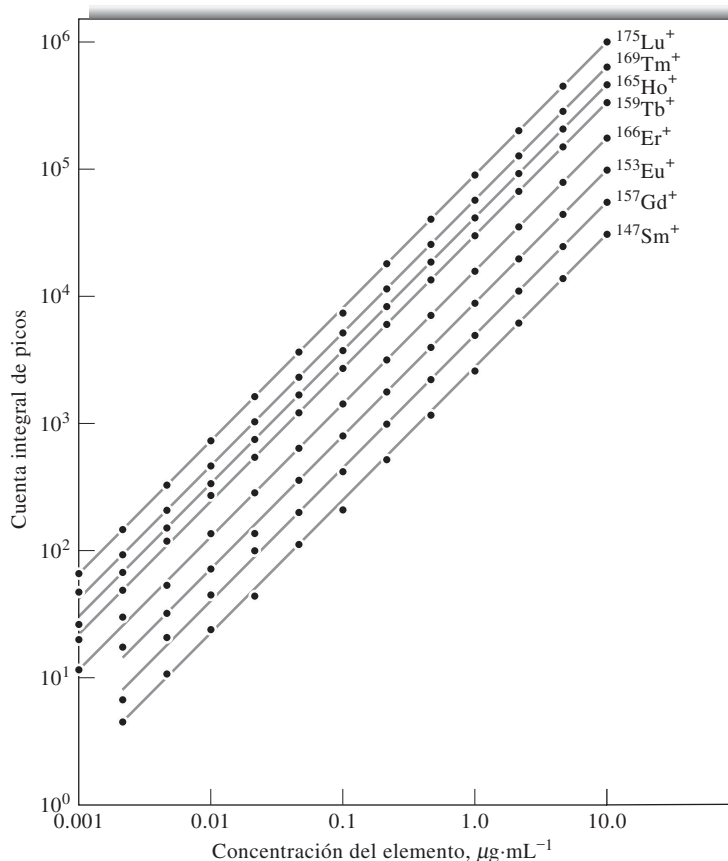


FIGURA 11.18 Curvas de calibración de espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción para distintos elementos de las tierras raras.

TABLA 11.3 Determinación cuantitativa de elementos traza en una muestra patrón de agua.

Elemento	Ion	NBS ^a	EMPAI ^a	
			Media ^b	DER (%) ^b
Berilio	⁹ Be ⁺	19	21	20
Vanadio	⁵¹ V ⁺	54	52	6
Cromo	⁵² Cr ⁺	17	18	12
Magnesio	⁵⁵ Mn ⁺	32	34	5
Cobalto	⁵⁹ Co ⁺	19	21	7
Zinc	⁶⁶ Zn ⁺	69	57	11
Arsénico	⁷⁵ As ⁺	77	76	5
Estroncio	⁸⁸ Sr ⁺	243	297	7
Molibdeno	⁹⁸ Mo ⁺	97	134	9
Plata	¹⁰⁷ Ag ⁺	2.8	3.5	16
Cadmio	¹¹⁴ Cd ⁺	10	13	22
Bario	¹³⁸ Ba ⁺	47	74	17
Plomo	²⁰⁸ Pb ⁺	27	31	8

^aConcentración en ng/ml.^bCon base en 10 determinaciones.

Para análisis cuantitativos más exactos, se puede utilizar el método de dilución isotópica. Esta técnica se basa en la medición del cambio de la relación entre las intensidades de la señal de dos isótopos de un elemento que resultan de agregar una cantidad conocida (*spike*, en inglés) de una solución patrón que está enriquecida con uno de dichos isótopos. Los principios y las relaciones matemáticas que relacionan la concentración del analito con la *adición* y el cambio en la relación de la señal se describen con detalle en la sección 32D, que trata del empleo de esta técnica con isótopos radiactivos. Las ventajas del método de dilución isotópica son una mejora en la exactitud e inmunidad a una amplia variedad de interferencias químicas y físicas. Su principal limitación es el tiempo que se requiere para realizar este tipo de análisis.

Mediciones de la relación isotópica

Son muy importantes en diversos campos de la ciencia y la medicina. Por ejemplo, los arqueólogos y los geólogos utilizan los datos para establecer la edad de los artefactos y de los distintos tipos de depósitos. Los químicos y quienes realizan análisis clínicos utilizan los materiales enriquecidos isotópicamente como marcadores en distintos tipos de estudios. Los resultados de ellos se basan en las mediciones de la relación isotópica. Antes, las medidas de las relaciones isotópicas se basaban en la atomización y la ionización térmicas, en las que la muestra se descomponía, atomizaba e ionizaba en uno o más filamentos calentados con electricidad. Los iones así obtenidos se dirigían a un espectrómetro de masas de doble enfoque, donde se medían las rela-

ciones isotópicas. Estas mediciones consumían mucho tiempo pero eran bastante precisas, con una desviación estándar relativa (DER) del orden de 0.01%. En la actualidad las relaciones isotópicas se determinan con frecuencia por medio de espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción, en el que las medidas se pueden terminar casi siempre en 5 o 10 minutos. Sin embargo, la precisión en este caso es menor, por un factor que varía de 10 a 100. En muchas ocasiones, una reproducibilidad de este orden es perfectamente satisfactoria.

11D ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON FUENTE DE CHISPA

La espectrometría de masas atómica con fuente de chispa¹⁵ se introdujo por primera vez en los años treinta del siglo xx como una herramienta general para el análisis de trazas de varios elementos e isótopos. Pero fue hasta 1958 cuando apareció el primer espectrómetro de masas con fuente de chispa en el mercado. Tras un periodo de rápido perfeccionamiento en los años sesenta, el uso de esta técnica decayó ante la aparición de la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción y alguno de los otros métodos espectrométricos de masas que se estudiaron en este capítulo. En la actualidad, la espectrometría de masas con fuente de chispa todavía tiene aplicación en muestras que no se disuelven ni se analizan fácilmente mediante plasma acoplado por inducción.

En la espectrometría de masas con fuente de chispa, los componentes atómicos de la muestra se transforman en iones gaseosos para el análisis de masas mediante una chispa de radiofrecuencia de elevado potencial (~30 kV), la chispa se aloja en una cámara de vacío adyacente al analizador de masas. La cámara está equipada con un sistema separado de bombeo de alta velocidad que reduce con rapidez la presión interna a unos 10⁻⁸ una vez que se efectúan los cambios en la muestra. Con frecuencia, la muestra actúa como uno o ambos electrodos. Otra posibilidad es mezclar la muestra con grafito y cargarla en un electrodo con forma de copa. Los iones positivos gaseosos formados en el plasma de la chispa se extraen de dentro del analizador mediante un voltaje de corriente continua.

Una fuente de chispa produce iones con una amplia gama de energías cinéticas. Por consiguiente, se requieren espectrómetros de masas de doble enfoque, equipos caros, para analizar las masas de los iones. Por lo general se utilizan los del tipo Mattauch-Herzog que se ilustra en la figura 11.11. Se han diseñado instrumentos con fuente de chispa modernos para utilizar

¹⁵Véase G. Ramendik, J. Verlinden y R. Gijbels, en *Inorganic Mass Spectrometry*, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, eds., cap. 2, Nueva York: Wiley, 1988.

tanto sistemas de detección fotográficos como eléctricos. Este último se basa en los multiplicadores de electrones que se analizaron en la sección 11B.1. Cuando los multiplicadores de electrones se utilizan con espectrómetros de masas de doble enfoque, se explora el espectro variando el campo magnético del analizador magnético. Por lo general, la resolución de estos espectrómetros utilizados con fuentes de chispa es de órdenes de magnitud superiores a los de los instrumentos cuadrupolares que se utilizan con plasma acoplado por inducción. Por consiguiente, la interferencia isobárica es significativamente menor. Por ejemplo, en la determinación de hierro en una matriz de silicato, como en muestras de rocas o vidrios, hay una interferencia potencial del silicio. En este caso, la determinación corresponde al pico del $^{56}\text{Fe}^+$ ($m/z = 55.93494$), pero también se observa un pico detectable de $^{28}\text{Si}_2^+$ ($m/z = 55.95386$). El poder de resolución de la mayor parte de los espectrómetros de doble enfoque es suficiente para separar estos picos, en tanto que con un instrumento cuadrupolar se produciría una interferencia isobárica por el dímero del silicio.

11D.1 Espectros

Al igual que en los espectros de masas con plasma acoplado por inducción, los espectros de masas con fuente de chispa son mucho más sencillos que los espectros de emisión atómica, y constan de un pico principal para cada isótopo de un elemento y de algunas líneas débiles correspondientes a iones con cargas múltiples y especies ionizadas de óxidos e hidróxidos. La presencia de estos otros iones origina posibles interferencias como las que aparecen en espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción.

11D.2 Aplicaciones cualitativas

La espectrometría de masas de fuente de chispa es una herramienta importante para los análisis cualitativos y semicuantitativos. Todos los elementos de la tabla periódica desde el ^7Li hasta el ^{238}U se pueden identificar mediante una única excitación. Al variar los parámetros de la adquisición de datos es posible determinar el orden de la magnitud de las concentraciones de los componentes principales de una muestra, así como los componentes cuya concentración se encuentre en la escala de nanogramos por mililitro (ng/ml). La interpretación de los espectros requiere habilidad y experiencia, debido a la presencia de especies con múltiples cargas, especies poliméricas y iones moleculares.

11D.3 Aplicaciones cuantitativas

Una chispa de radiofrecuencia no es una fuente que se pueda reproducir durante periodos cortos. Por consiguiente, es necesario integrar las señales de salida de

una chispa para periodos que oscilan entre varios segundos y cientos de segundos si se quieren obtener datos cuantitativos satisfactorios. El sistema de detección debe tener la aptitud de integrar la señal electrónica, sea con los componentes físicos o con los programas. Además de la integración, es una práctica común mejorar la reproducibilidad mediante la relación entre la señal del analito y la de un patrón interno como variable analítica. A menudo, uno de los elementos principales de la matriz de la muestra se elige como patrón; otra opción es añadir una cantidad fija de un compuesto puro a cada muestra y a cada patrón utilizado en la calibración. En este último caso, la sustancia que actúa como patrón interno no debe estar presente en las muestras. Con estas precauciones, la desviación estándar relativa oscila entre porcentajes bajos hasta 20% como máximo.

Las ventajas de la espectrometría de masas con fuente de chispa son su elevada sensibilidad, la posibilidad de aplicarla a una amplia variedad de matrices de muestra, el gran intervalo dinámico lineal de la señal de salida, con frecuencia de varios órdenes de magnitud, y la gran variedad de elementos que se pueden detectar y medir de manera cuantitativa.

11E ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON DESCARGA LUMINISCENTE

Como se indicó en la sección 8C.2, una fuente de descarga luminiscente se utiliza como dispositivo de atomización para varios tipos de espectroscopía atómica.¹⁶ Además de atomizar las muestras, también produce una nube de iones positivos del analito a partir de muestras sólidas. Este dispositivo está constituido por un sencillo sistema cerrado de dos electrodos que contiene argón a una presión de 0.1 a 10 torr. Se alimenta a través de los electrodos un potencial de 5 a 15 kV proveniente de una fuente de alimentación pulsante de corriente continua, lo cual ocasiona la formación de iones positivos de argón, los cuales se aceleran hacia el cátodo. Éste se fabrica con la muestra, o bien, la muestra se deposita sobre un cátodo metálico inerte. Como sucede en la lámpara de cátodo hueco (sección 9B.1), los átomos de la muestra son expelidos desde el cátodo hasta la zona situada entre los dos electrodos, donde se convierten en iones positivos al chocar con electrones o con iones positivos de argón. Los iones del analito son conducidos al espectrómetro de masas mediante un vacío diferencial. Después, los iones se filtran en un analizador cuadrupolar o son dispersados con un analizador magnético de sectores para su identificación.

¹⁶ Véase R. K. Marcus y J. A. C. Broekaert, *Glow Discharge Plasmas in Analytical Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 2003; W. W. Harrison, en *Inorganic Mass Spectrometry*, cap. 3, F. Adams, R. Gijbels y R. Van Grieken, eds., Nueva York: Wiley, 1988.

Como se mencionó, las fuentes de descarga luminiscente se utilizan a menudo con antorchas de plasma acoplado por inducción. La descarga luminiscente actúa como atomizador y la antorcha de plasma como ionizador.

La fuente de descarga luminiscente parece ser más estable que la fuente de chispa y es más barata tanto en la adquisición como en el mantenimiento. En particular es muy útil para el análisis directo de muestras sólidas. En la actualidad existen en el mercado espectrómetros de masas cuadrupolares y de doble enfoque con fuentes de descarga luminiscente.

11F OTROS MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS DE MASAS

En los últimos 25 años la ciencia y la técnica de la espectrometría de masas han crecido de manera vertiginosa. En las dos últimas secciones de este capítulo se tratan muy brevemente dos fascinantes pero muy importantes adelantos en este campo floreciente.

11F.1 Espectrometría de masas con acelerador

Surgió hace poco una variación del método de la relación de isótopos que se llama *espectrometría de masas con acelerador*. En esta técnica el elemento blanco se separa primero químicamente de la muestra antes de colocarlo en el portamuestra del instrumento de espectrometría. Luego, el elemento muestra se bombardea con iones de cesio para extraer el elemento del analito en la forma de iones negativos. Entonces, los iones del analito son acelerados en un tubo por medio de la aplicación de una diferencia de potencial positiva de varios millones de voltios, pasan después por un dispositivo donde se les quitan electrones para transformarlos en iones positivos y se les vuelve a acelerar en el tubo para dirigirlos hacia un potencial común donde las velocidades de los iones se aproximan a un bajo porcentaje de la velocidad de la luz. Por medio de una serie de filtros de masa electrostáticos y magnéticos, el haz de iones que contiene todos los isótopos del

elemento del analito se divide en otros rayos que contienen el isótopo de interés, por lo general inestable, y otros isótopos. Un detector separado cuenta cada uno de los isótopos. Por ejemplo, en la datación con carbono, se puede separar un solo núcleo de ^{14}C y contarlo en presencia de 10^{15} núcleos de ^{13}C y ^{12}C .

Aunque existen muy pocas instalaciones para realizar la espectrometría de masas con acelerador en todo el mundo, la técnica es valiosa para determinar la concentración de un isótopo inestable en presencia de una cantidad enorme de un segundo isótopo estable, sobre todo en la datación con radiocarbono y en la determinación de núclidos producidos a partir de la interacción de rayos cósmicos con fuentes terrestres y extraterrestres. Entre estos núclidos están ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{36}Cl , ^{41}Ca y ^{129}I .¹⁷

11F.2 Métodos para el análisis elemental de superficies

En ciertas áreas de la ciencia y de la ingeniería, la composición elemental de una capa superficial de un sólido cuyo espesor es desde unos cuantos angstroms hasta unas decenas de ellos es de mucho mayor interés que la composición elemental global. Entre los campos donde la composición superficial es muy importante están la catálisis heterogénea, los estudios de corrosión y adhesión, el establecimiento de las propiedades de fragilidad y los estudios de comportamiento y funcionalidad de las membranas biológicas.

A menudo se utilizan dos métodos espectrométricos de masas atómicas para determinar la composición elemental de superficies sólidas: la espectrometría de masas de ion secundario y la espectrometría de masas con microsonda de láser. Estas técnicas se estudian con detalle en las secciones 21D.1 y 21D.3.

¹⁷Se pueden conseguir varias descripciones interesantes de las instalaciones de espectrometría de masas con acelerador en internet si se busca espectrometría de masas con acelerador o *accelerator mass spectrometry*.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

- 11.1 ¿Qué tipos de espectrómetros de masas se utilizan en la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción? ¿Cuáles son sus diferencias?
- 11.2 ¿Qué función tiene la antorcha de plasma acoplado por inducción en la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción?
- 11.3 ¿Qué representan las ordenadas y las abscisas en un espectro de masas atómicas ordinario?
- 11.4 ¿Por qué la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción se ha convertido en un método analítico importante y muy utilizado?

- 11.5** Describa la interfase entre la antorcha de plasma acoplado por inducción y el espectrómetro de masas en un instrumento de espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción.
- 11.6** ¿Cómo se utilizan los rayos láser como medio de muestreo de sólidos en la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción?
- 11.7** ¿Qué tipo de interferencias se producen en la espectrometría de masas atómica?
- 11.8** ¿Por qué se utiliza con frecuencia un patrón interno en los análisis cuantitativos por espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción?
- 11.9** Explique cómo se emplea la técnica de dilución isotópica en la espectrometría de masas atómica.
- 11.10** Explique cómo se lleva a cabo la espectrometría de masas de descarga luminiscente. ¿Cuáles son las ventajas de esta técnica?
- 11.11** ¿Qué es la espectrometría de masas de ion secundario? ¿Qué tipo de información proporciona este método?

Problema de reto

- 11.12** Lezius describió el espectrómetro de masas B de tiempo de vuelo, presentó los fundamentos teóricos del instrumento y proporcionó los primeros resultados experimentales.¹⁸

- ¿Qué es un espectrómetro de masas B de tiempo de vuelo?
- Explique cómo funciona el instrumento.
- ¿En qué tipo de experimentos es útil el instrumento?
- Defina el término *energía de encendido*.
- La *velocidad de deflexión* $\dot{x}$ de un ion en el tubo de vuelo es

$$\dot{x} = \frac{qdB}{m}$$

donde $q = ze$ y B y m tienen su significado común, y d , que se muestra en la figura 1 del trabajo, es el ancho de la región del campo magnético. La velocidad de deflexión es el componente de la velocidad perpendicular a la trayectoria inicial de vuelo del ion. Deduzca esta expresión. ¿Qué es lo interesante respecto a la velocidad de deflexión?

- Demuestre que la deflexión x del ion perpendicular a la trayectoria inicial de vuelo del ion está dada por

$$x = (l + d/2) \frac{qdB}{mv \cos \alpha}$$

donde l es la distancia que recorre un ion en su dirección inicial a lo largo del eje del espectrómetro después de que abandona la región del campo magnético y v es su velocidad a lo largo de la trayectoria que sufrió deflexión. ¿Por qué son importantes las distancias x y l en el experimento de tiempo de vuelo B?

- El tiempo de vuelo t_{MD} de un ion para recorrer la distancia l desde que sale del campo magnético es igual a

$$t_{MD} = \frac{1}{\sqrt{\frac{2E_{tot}}{m} - \dot{x}^2}}$$

¿Qué es E_{tot} ? Hay un error en la ecuación 6 del documento. Encuentre y explique en qué consiste el error.

- Con ayuda de la ley de la conservación de la energía deduzca la expresión en g).
- En el caso de ángulos pequeños de deflexión, $\cos \alpha \approx 1$. ¿Cuáles son las consecuencias de esta condición para los iones con la misma carga y masa?
- Busque algunos valores comunes para E_{tot} , l y v , y mediante Excel calcule valores representativos de t_{MD} para un intervalo real de valores de m . Trace una gráfica de t_{MD} contra m .

¹⁸M. Lezius, *J. Mass Spectrom.*, **2002**, 37, p. 305.

Espectroscopía atómica de rayos X

La espectroscopía de rayos X, al igual que la espectroscopía óptica, se basa en la medida de la emisión, absorción, difusión, fluorescencia y difracción de la radiación electromagnética. Los métodos de fluorescencia de rayos X y absorción de rayos X son muy utilizados para la determinación cualitativa y cuantitativa de todos los elementos de la tabla periódica con números atómicos superiores al del sodio. Con la ayuda de un equipo especial también se pueden determinar los elementos con números atómicos comprendidos entre 5 y 10.



En todo el capítulo este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

12A PRINCIPIOS FUNDAMENTALES

Los rayos X son radiación electromagnética de longitud de onda corta que se produce cuando se desaceleran los electrones de alta energía o por transiciones de electrones que están en los orbitales internos de los átomos.¹ Los valores de las longitudes de onda de los rayos X están entre aproximadamente 10^{-5} Å a 100 Å; pero la espectroscopía de rayos X ordinaria se limita a la región de casi 0.1 Å a 25 Å ($1 \text{ Å} = 0.1 \text{ nm} = 10^{-10} \text{ m}$).

12A.1 Emisión de rayos X

Para fines analíticos, los rayos X se obtienen de cuatro maneras: 1) por bombardeo de un blanco metálico con un haz de electrones de elevada energía, 2) por exposición de una sustancia a un haz primario de rayos X con el objetivo de generar un haz secundario de fluorescencia de rayos X, 3) al usar una fuente radiactiva cuyo proceso de desintegración produce una emisión de rayos X,² y 4) a partir de una fuente de radiación sincrotrón. Sólo algunos laboratorios en Estados Unidos tienen las instalaciones para generar rayos X a partir de radiación de sincrotrón.³ Por esta razón, sólo se considerarán las tres primeras fuentes.

Las fuentes de rayos X, al igual que los emisores de radiación ultravioleta y visible, producen a menudo tanto espectros continuos como de líneas; ambos son importantes en análisis. La radiación continua se denomina también *radiación blanca* o *bremssstrahlung*. Este término significa radiación que surge del retardo de las partículas; por lo general, esta radiación es un continuo espectral.

Espectros continuos de fuentes de haces de electrones

En un tubo de rayos X los electrones que se producen en un cátodo caliente son acelerados hacia un ánodo

¹ Un análisis más extenso sobre la teoría y las aplicaciones analíticas de los rayos X se encuentra en B. E. Beckhoff, B. E. Kanngießer, N. E. Langhoff, R. E. Wedell, eds., *Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis*, Nueva York: Springer, 2005; R. E. Van Grieken y A. A. Markowicz, eds., *Handbook of X-Ray Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 2002; R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1999; R. Jenkins, R. W. Gould y D. Gedcke, *Quantitative X-Ray Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1995; B. Dziunikowski, *Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Analysis*, Nueva York: Elsevier, 1989.

² Con frecuencia, a la radiación electromagnética que producen las fuentes radiactivas se le llama *radiación gamma*. La radiación gamma es indistinguible de la radiación de rayos X.

³ La alta intensidad y la naturaleza colimada de los haces provenientes de una fuente de sincrotrón favorece las aplicaciones que no se pueden lograr con las otras tres fuentes de rayos X. Para una revisión de las aplicaciones de los rayos X inducidos por sincrotrón refiérase a K. W. Jones y B. M. Gordon, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, p. 341A; para un análisis sobre el uso de la fluorescencia de rayos X de reflectancia total inducida por radiación del sincrotrón véase K. Baur, S. Brennan, P. Pianetta y R. Opila, *Anal. Chem.*, **2002**, *74*, p. 608A.

metálico (el *blanco*) mediante una alta diferencia de potencial de 100 kV; cuando los electrones chocan con el ánodo, una parte de la energía del haz de electrones se convierte en rayos X. En ciertas condiciones sólo se obtiene un espectro continuo como el que se muestra en la figura 12.1; en otras, un espectro de líneas se superpone al continuo (véase figura 12.2).

El espectro continuo de rayos X que se muestra en las dos figuras se caracteriza por un límite de longitud de onda corta muy bien definido (λ_0), que depende del voltaje de aceleración V pero es independiente del material que constituye el blanco. Por consiguiente, la λ_0 (0.35 Å) del espectro producido con un blanco de molibdeno a 35 kV (figura 12.2) es idéntica a la λ_0 de un blanco de tungsteno al mismo voltaje (figura 12.1).

La radiación continua proveniente de una fuente de haz de electrones es el resultado de las colisiones entre los electrones que conforman el haz y los átomos del material del blanco. En cada choque, el electrón se desacelera y se produce un fotón de energía de rayos X. La energía del fotón es igual a la diferencia entre las energías cinéticas del electrón antes y después del choque. Por lo general, los electrones de un haz se desaceleran en una serie de colisiones; la pérdida de energía cinética resultante es diferente de choque en choque. Por consiguiente, las energías de los fotones de rayos X emitidos varían en forma continua dentro de un intervalo grande. La máxima energía generada del fotón corresponde a la desaceleración instantánea del electrón hasta una energía cinética nula en un único choque. Para tal hecho, es factible escribir

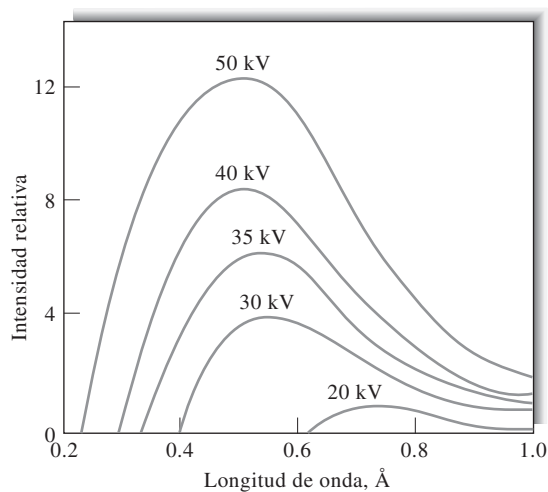


FIGURA 12.1 Distribución de radiación continua de un tubo de rayos X con un blanco de tungsteno. Los números sobre las curvas indican los voltajes de aceleración.

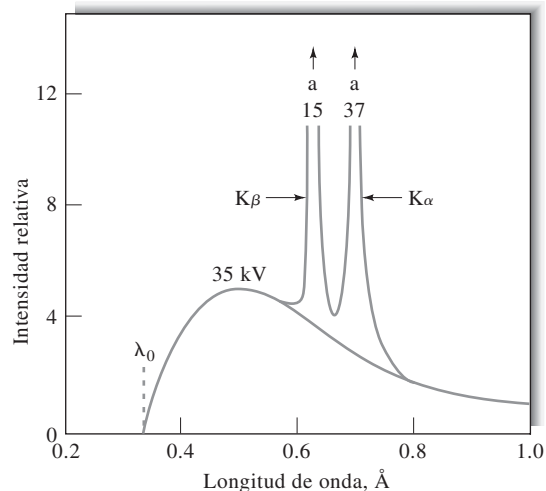


FIGURA 12.2 Espectro de línea para un rayo X con un blanco de molibdeno.

$$h\nu_0 = \frac{hc}{\lambda_0} = Ve \quad (12.1)$$

donde Ve , el producto del voltaje de aceleración y la carga del electrón, es la energía cinética de todos los electrones del haz; h es la constante de Planck; c es la velocidad de la luz. El parámetro ν_0 es la frecuencia máxima de la radiación que se puede producir a un potencial V y λ_0 es el límite inferior de la longitud de onda de la radiación. Esta relación se conoce como la *ley de Duane-Hunt*. Vale la pena hacer notar que la ecuación 12.1 proporciona un medio directo para determinar de manera exacta la constante de Planck. Al sustituir las constantes por sus valores numéricos y reordenar, la ecuación 12.1 se transforma en

$$\lambda_0 = 12\,398/V \quad (12.2)$$

donde λ_0 y V tienen unidades de angstroms y volts, respectivamente.

Espectros de línea de fuentes de haces de electrones

Tal como se muestra en la figura 12.2, el bombardeo de un blanco de molibdeno produce líneas de emisión intensas alrededor de 0.63 y 0.71 Å; en el intervalo de longitudes de onda más largo, comprendido entre 4 y 6 Å, se produce una serie de líneas adicionales sencillas.

El comportamiento de emisión del molibdeno es característico de todos los elementos cuyos números atómicos son superiores a 23; es decir, los espectros de línea de rayos X son extraordinariamente sencillos si se comparan con la emisión ultravioleta y constan de dos series de líneas. El grupo de longitud de onda más

TABLA 12.1 Las longitudes de onda en angstroms de las líneas de emisión más intensas de algunos elementos característicos.

Ele- mento	Número atómico	Serie K		Serie L	
		α_1	β_1	α_1	β_1
Na	11	11.909	11.617	—	—
K	19	3.742	3.454	—	—
Cr	24	2.290	2.085	21.714	21.323
Rb	37	0.926	0.829	7.318	7.075
Cs	55	0.401	0.355	2.892	2.683
W	74	0.209	0.184	1.476	1.282
U	92	0.126	0.111	0.911	0.720

corta se llama serie K y el otro serie L.⁴ Los elementos con números atómicos inferiores a 23 producen sólo una serie K. En la tabla 12.1 se muestran las longitudes de onda de los espectros de emisión de algunos elementos.

Una segunda característica de los espectros de rayos X es que el voltaje de aceleración mínimo necesario para la excitación de las líneas de cada elemento aumenta con el número atómico. Por consiguiente, el espectro de línea para el molibdeno (número atómico = 42) desaparece si el potencial de excitación es inferior a 20 kV. Tal como se ve en la figura 12.1, el bombardeo de tungsteno (número atómico = 74) no produce líneas en la región de 0.1 incluso a 1.0 Å, incluso a 50 kV. Sin embargo, si el voltaje se incrementa a 70 kV, las líneas K características aparecen a 0.18 y 0.21 Å.

En la figura 12.3 se ilustra la relación lineal entre la raíz cuadrada de la frecuencia para una línea dada (K o L) y el número atómico del elemento causante de la radiación. Esta relación fue descubierta por H. G. J. Moseley en 1914.⁵

⁴En el caso de los elementos más pesados, se encuentran otras series de líneas (M, N, etcétera) en longitudes más largas. Sus intensidades son bajas y se les utiliza poco. La designación K y L proviene de las palabras alemanas *kurtz* y *lang* para longitudes de onda corta y larga. Las designaciones alfabéticas adicionales se añadieron después para las líneas de longitudes de onda progresivamente más largas.

⁵Henry Gwyn Jeffreys Moseley (1887-1915) descubrió esta importante relación, que ahora se llama ley de Moseley, mientras trabajaba con Ernest Rutherford en la Universidad de Manchester. Sus estudios revelaron que había saltos o huecos en la sucesión de números atómicos en 45, 61, 72, 75 y 87, los cuales ahora están ocupados por los elementos tecnecio, prometio o prometio, hafnio, renio y francio, todos descubiertos posteriormente o producidos en forma artificial. Al estallar la Segunda Guerra Mundial, Moseley se enlistó en el cuerpo de los Ingenieros Reales y lo mató un francotirador cuando estuvo en Gallipoli. Se supone que su trágica muerte fue la causa de que se prohibiera a los científicos británicos ir a combate. Si no hubiera muerto quizá habría recibido el Premio Nobel por abrir nuevos horizontes en la investigación. En *The Biographical Dictionary of Scientists*, 3a. ed., Nueva York: Oxford, 2000, hay más detalles acerca de la vida y el trabajo de Moseley.

Los espectros de línea de rayos X son el resultado de transiciones electrónicas en los orbitales atómicos más internos. La serie K de longitud de onda corta se produce cuando los electrones de alta energía que proceden del cátodo sacan electrones de los orbitales mas cercanos al núcleo de los átomos del blanco. La colisión da lugar a la formación de iones excitados que después emiten cuantos de radiación X cuando los electrones provenientes de los orbitales externos sufren transiciones hacia el orbital que ha quedado vacío. Como se muestra en la figura 12.4, las líneas de la serie K surgen a causa de las transiciones electrónicas entre los niveles energéticos más altos y la capa K. La serie L de líneas se produce cuando el segundo nivel cuántico principal pierde un electrón, ya sea por la expulsión de un electrón proveniente del cátodo o por la transición de un electrón L a un nivel K que produce un cuanto de radiación K. Es importante resaltar que la escala de energías de la figura 12.4 es logarítmica. Por tanto, la diferencia de energía entre los niveles L y K es mucho más grande que entre los niveles M y L. Entonces, las líneas K aparecen a longitudes de onda más cortas. También es importante señalar que las diferencias de energía entre las transiciones designadas como α_1 y α_2 al igual que entre las β_1 y β_2 son tan pequeñas que sólo se observan líneas sencillas en todos los espectrómetros, excepto en los de más alta resolución (véase figura 12.2).

El diagrama de niveles de energía de la figura 12.4 se puede aplicar a cualquier elemento que tenga electrones suficientes para permitir el número de transiciones mostrado. Las diferencias de energía entre los

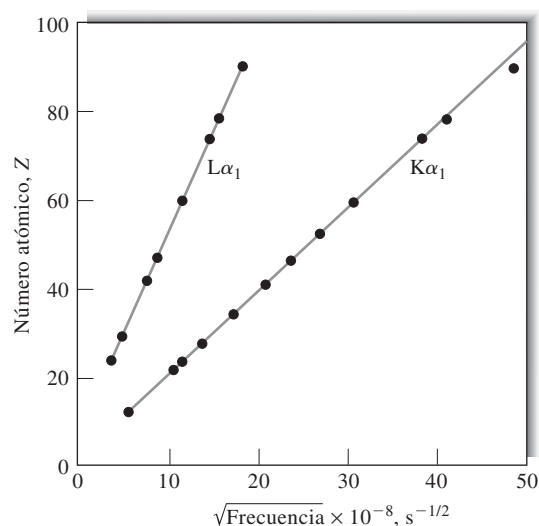


FIGURA 12.3 Relación entre frecuencia de emisión de rayos X y el número atómico de las líneas K α_1 y L α_1 .

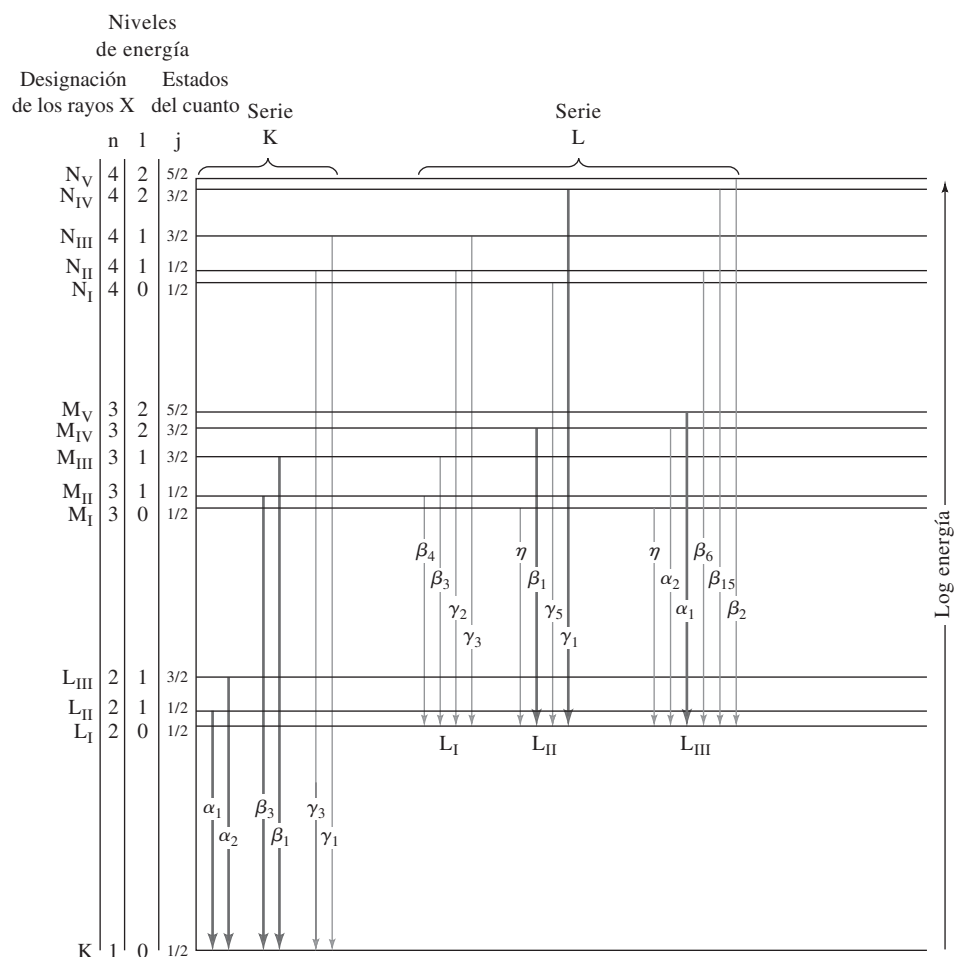


FIGURA 12.4 Diagrama parcial de niveles de energía en el que se pueden ver transiciones comunes que producen rayos X. Las líneas más intensas están señaladas mediante flechas más gruesas.

niveles se incrementa regularmente con el número atómico debido al aumento de carga del núcleo; por esta razón, la radiación de la serie K aparece a longitudes de onda más cortas para los elementos más pesados (véase tabla 12.1). El efecto de la carga del núcleo se refleja también en el aumento del voltaje mínimo que se requiere para estimular la aparición de los espectros de estos elementos.

Es importante hacer notar que para todos los elementos, menos los más ligeros, las longitudes de onda de las líneas características son independientes de sus estados físicos o químicos, porque las transiciones causantes de estas líneas requieren electrones que no forman parte del enlace. Por consiguiente, la posición de las líneas $K\alpha$ del molibdeno es la misma sin importar si el blanco es el metal puro, su sulfuro o su óxido.

Espectros de líneas de fuentes fluorescentes

Otro medio útil para producir un espectro de líneas es irradiar el elemento o uno de sus compuestos con radiación continua procedente de un tubo de rayos X. Este proceso se estudia en una sección posterior.

Espectros de fuentes radiactivas

A menudo la radiación de rayos X se produce como consecuencia de un proceso de desintegración radiactiva. Los *rayos gamma*, que son indistinguibles de los rayos X, se producen en las reacciones intranucleares. Muchos procesos de emisión α y β (véase sección 32A.2) dejan un núcleo en un estado excitado; entonces, dicho núcleo libera uno o más cuantos de rayos gamma cuando regresa a su estado fundamental. También la *captura de electrones* o *captura K* produce

TABLA 12.2 Fuentes radioisotópicas comunes para espectroscopía de rayos X.

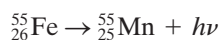
Fuente	Proceso de desintegración	Vida media	Tipo de radiación	Energía, keV
$^3_1\text{H-Ti}^a$	β^-	12.3 años	Continuo Rayos X Ti-K	3–10 4–5
$^{55}_{26}\text{Fe}$	EC ^b	2.7 años	Rayos X Mn-K	5.9
$^{57}_{27}\text{Co}$	EC	270 días	Rayos X Fe-K Rayos γ	6.4 14, 122, 136
$^{109}_{48}\text{Cd}$	EC	1.3 años	Rayos X Ag-K Rayos γ	22 88
$^{125}_{53}\text{I}$	EC	60 días	Rayos X Te-K Rayos γ	27 35
$^{147}_{61}\text{Pm-Al}$	β^-	2.6 años	Continuo	12–45
$^{210}_{82}\text{Pb}$	β^-	22 años	Rayos X Bi-L Rayos γ	11 47

^aTritio absorbido en titanio metálico no radiactivo.

^bEC = Captura de electrones.

radiación X. En este proceso, el núcleo captura un electrón K (lo menos común es que sea un electrón L o uno M), y se forma el elemento de número atómico inmediatamente inferior. Como resultado de la captura K, tienen lugar transiciones electrónicas hacia el orbital vacío y se observan los espectros de líneas de rayos X del nuevo elemento recién formado. La vida media de los procesos de captura K oscila desde pocos minutos hasta varios miles de años.

Los isótopos radiactivos producidos artificialmente proporcionan una fuente muy sencilla de radiación monoenergética para ciertas aplicaciones analíticas. El ejemplo más conocido es el del hierro 55, el cual experimenta una reacción de captura K con una vida media de 2.6 años:



La línea resultante $K\alpha$ del manganeso en casi 2.1 Å ha demostrado ser una fuente útil tanto para métodos de fluorescencia como de absorción. En la tabla 12.2 se enumeran algunas fuentes de radioisótopos comunes en espectroscopía de rayos X.

12A.2 Espectros de absorción

Cuando un haz de rayos X se hace pasar a través de una fina película de materia, por lo general su intensidad o potencia disminuye como efecto de la absorción y la difusión. El efecto de la difusión para todos los elementos, excepto los más ligeros, suele ser pequeño y se puede despreciar en las regiones de longitud de onda donde tiene lugar una absorción apreciable. Como se muestra en la figura 12.5, el espectro de absorción de

un elemento, al igual que su espectro de emisión, es sencillo y consta de pocos picos bien definidos. Una vez más las longitudes de onda de los picos son características del elemento e independientes de su estado químico.

Una peculiaridad de los espectros de absorción de rayos X es la aparición de discontinuidades definidas, llamadas *bordes de absorción*, a longitudes de onda inmediatamente superiores a las del máximo de absorción.

El proceso de absorción

La absorción de un cuanto de rayos X produce la expulsión de uno de los electrones más internos de un átomo, lo cual da como resultado la producción de un ion excitado. En este proceso, la energía total de la radiación $h\nu$ se divide entre la energía cinética del electrón (el *fotoelectrón*) y la energía potencial del ion excitado. La mayor probabilidad de absorción se produce cuando la energía del cuanto es exactamente igual a la necesaria para sacar un electrón a la periferia del átomo (es decir, cuando la energía cinética del electrón expulsado se acerca a cero).

El espectro de absorción del plomo, que se ilustra en la figura 12.5, presenta cuatro picos, a saber, el primero está en 0.14 Å. La energía del cuanto correspondiente a esta longitud de onda es exactamente igual a la que se requiere para expulsar el electrón de mayor energía K del elemento. A longitudes de onda un poco superiores la energía de la radiación es insuficiente para lograr expulsar un electrón K, y hay un descenso brusco de la absorción. A longitudes de onda más cortas que 0.14 Å, la probabilidad de interacción entre el electrón y la radiación disminuye en forma

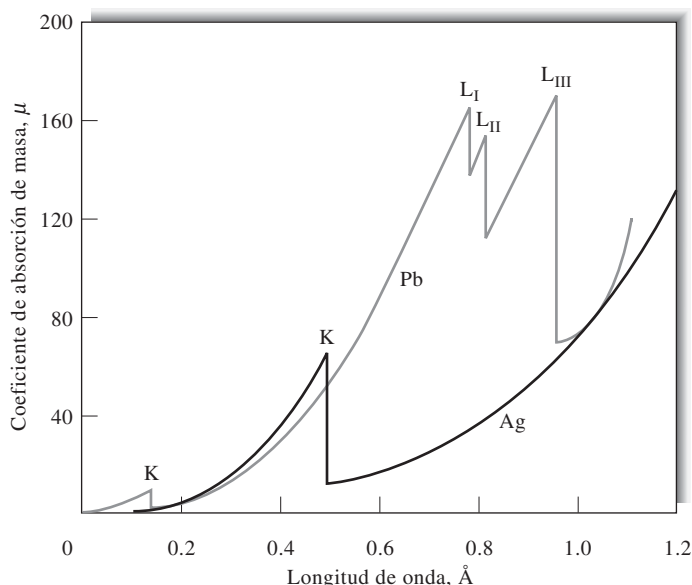


FIGURA 12.5 Espectro de absorción de rayos X para el plomo y la plata.

gradual, lo cual ocasiona una disminución suave de la absorción. En esta región la energía cinética del fotoelectrón expulsado aumenta de manera continua al disminuir la longitud de onda.

Los picos adicionales que aparecen a longitudes de onda más largas corresponden a la expulsión de un electrón del plomo de los niveles de energía L. Existen tres grupos de niveles L cuyas energías difieren ligeramente (véase figura 12.4); por eso se observan tres picos. Otro grupo de picos, que surgen de la expulsión de electrones M, se localiza a longitudes de onda aun más largas.

En la figura 12.5 también se muestra el borde de absorción K para la plata, que tiene lugar a 0.485 Å. La longitud de onda más larga del pico de la plata refleja el número atómico más bajo de este elemento comparado con el plomo.

Coeficiente de absorción de masa

La ley de Beer es aplicable tanto a los procesos de absorción de rayos X como a otros tipos de radiación electromagnética; por consiguiente, se puede plantear

$$\ln \frac{P_0}{P} = \mu x$$

donde x es el espesor de la muestra en centímetros y P y P_0 son las potencias de los haces transmitido e incidente. La constante μ se denomina *coeficiente de ab-*

sorción lineal y es característico del elemento así como el número de sus átomos que están en la trayectoria del haz. Una manera más adecuada de escribir la ley de Beer es

$$\ln \frac{P_0}{P} = \mu_M \rho x \quad (12.3)$$

donde ρ es la densidad de la muestra y μ_M es el *coeficiente de absorción de masa*, un parámetro que es *independiente* del estado físico y químico del elemento. Así, el coeficiente de absorción de masa del bromo tiene el mismo valor tanto para el HBr gaseoso como para el bromato de sodio sólido. Note que el coeficiente de absorción de masa tiene unidades de cm^2/g .

Los coeficientes de absorción de masa son funciones aditivas de las fracciones en peso de los elementos contenidos en una muestra. Por consiguiente,

$$\mu_M = W_A \mu_A + W_B \mu_B + W_C \mu_C + \cdots \quad (12.4)$$

donde μ_M es el coeficiente de absorción de masa de una muestra que contiene fracciones en peso W_A , W_B , y W_C de los elementos A, B y C. Los términos μ_A , μ_B , y μ_C son los respectivos coeficientes de absorción de masa para cada elemento. En muchos manuales, monografías, trabajos de investigación y en la red hay tablas de coeficientes de absorción de masa de los elementos a varias longitudes de onda.⁶

⁶Por ejemplo, J. H. Hubbell, *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **1982**, 33, p. 1269 y <http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/cover.html>.



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **fluorescencia y la absorción de rayos X**.

12A.3 Fluorescencia de rayos X

La absorción de rayos X produce iones excitados electrónicamente que vuelven a su estado fundamental mediante transiciones en las que intervienen electrones de los niveles de mayor energía. Entonces, se produce un ion excitado con una capa K vacante cuando el plomo absorbe radiación de longitudes de onda más corta que $0.14 \text{ \AA}$ (figura 12.5); después de un breve periodo, el ion vuelve a su estado fundamental mediante una serie de transiciones electrónicas que se caracterizan por la emisión de radiación X (fluorescencia) de longitudes de onda idénticas a las que resultaron de la excitación producida por el bombardeo de electrones. Sin embargo, las longitudes de onda de las líneas de fluorescencia son siempre algo mayores que las correspondientes a un borde de absorción, porque la absorción requiere que se expulse por completo al electrón (es decir, la ionización), y en la emisión hay transiciones de un electrón desde un nivel de energía superior dentro del ion. Por ejemplo, el borde de absorción K para la plata tiene lugar a $0.485 \text{ \AA}$, pero las líneas de emisión K para el elemento tienen longitudes de onda de 0.497 y $0.559 \text{ \AA}$. Cuando se va a excitar la fluorescencia por medio de la radiación procedente de un tubo de rayos X, el potencial de trabajo debe ser suficientemente grande para que la longitud de onda de corte λ_0 (ecuación 12.2) sea más corta que el borde de absorción del elemento cuyo espectro será excitado. Por tanto, para generar las líneas K de la plata, el potencial del tubo necesitaría ser (ecuación 12.2)

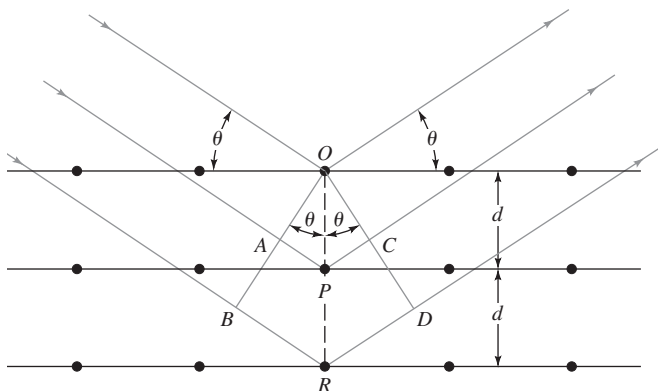
$$V \geq \frac{12\,398 \text{ V} \cdot \text{\AA}}{0.485 \text{ \AA}} = 25\,560 \text{ V o bien, } 25.6 \text{ kV}$$

12A.4 Difracción de rayos X

Al igual que con los otros tipos de radiación electromagnética, cuando la radiación X atraviesa una mues-



Simulación: aprenda más acerca de la **difracción de los rayos X**.



tra de materia, el vector eléctrico de la radiación interactúa con los electrones de los átomos de la materia para producir difusión. Cuando los rayos X son difundidos por el entorno ordenado de un cristal, hay interferencias tanto constructivas como destructivas entre los rayos dispersados porque las distancias entre los centros de difusión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. La difracción es el resultado.

Ley de Bragg

Cuando un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal formando un ángulo θ , una porción del haz es difundida por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra la segunda capa de átomos donde, de nuevo, una fracción es difundida, y la que queda pasa a la tercera capa (figura 12.6), y así sucesivamente. El efecto acumulativo de esta difusión producida por los centros con separaciones regulares del cristal es la difracción del haz, de la misma forma que la radiación visible se difracta en una red de reflexión (sección 7C.2). Los requisitos para la difracción de rayos X son, a saber, 1) que la separación entre las capas de átomos sea aproximadamente la misma que la longitud de onda de la radiación y 2) que los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de una manera muy regular.

En 1912, W. L. Bragg estudió la difracción de rayos X por medio de cristales, como muestra la figura 12.6. En este caso, un haz angosto de radiación choca contra la superficie del cristal a un ángulo θ ; la difusión tiene lugar como consecuencia de la interacción de la radiación con los átomos localizados en O , P y R . Si la distancia

$$AP + PC = n\lambda$$

donde n es un número entero, la radiación difundida está en fase en OCD , y el cristal parecerá reflejar la radiación X. Pero

$$AP = PC = d \sin \theta \quad (12.5)$$

FIGURA 12.6 Difracción de rayos X por medio de un cristal.

donde d es la distancia interplanar del cristal. Por consiguiente, las condiciones para que tenga lugar una interferencia constructiva del haz a un ángulo θ son

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (12.6)$$

La ecuación 12.6 es la *ecuación de Bragg* y es fundamental. Hay que señalar que los rayos X parecen ser reflejados por el cristal sólo si el ángulo de incidencia cumple con la condición

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

En todos los demás ángulos se producen interferencias destructivas.

12B COMPONENTES DE LOS INSTRUMENTOS

La absorción, emisión, fluorescencia y difracción de los rayos X tienen aplicación en química analítica. Los instrumentos que se usan en estas aplicaciones están constituidos por componentes cuyas funciones son análogas a las de los que se emplean en las mediciones en espectroscopía óptica. Entre los componentes están una fuente, un dispositivo encargado de limitar los valores de longitud de onda de la radiación incidente, un portamuestras, un detector de radiación o transductor, un procesador de la señal y un sistema de lectura. Los detalles de estos componentes son muy distintos de sus homólogos ópticos. Sin embargo, sus funciones son las mismas y las maneras en que se pueden combinar para formar instrumentos son muy parecidas a las que se muestran en la figura 7.1.

Como sucede con los instrumentos ópticos, tanto los fotómetros de rayos X como los espectrofotómetros, los primeros con filtros y los segundos con monocromadores, tienen la capacidad de transmitir radiación de la longitud de onda deseada a partir de la fuente. Además, se dispone de un tercer método para obtener información de ciertas partes de un espectro de rayos X. En este caso, la separación se logra en forma electrónica con dispositivos que discriminan entre varias partes de un espectro con base en la *energía* y no en la *longitud de onda* de la radiación. Por consiguiente, los instrumentos de rayos X se describen a menudo como *instrumentos que dispersan la longitud de onda* o *instrumentos que dispersan la energía*, lo cual depende del método mediante el cual descompongan el espectro.

12B.1 Fuentes

Se utilizan tres tipos de fuentes en los instrumentos de rayos X: tubos, radioisótopos y fuentes secundarias de fluorescencia.

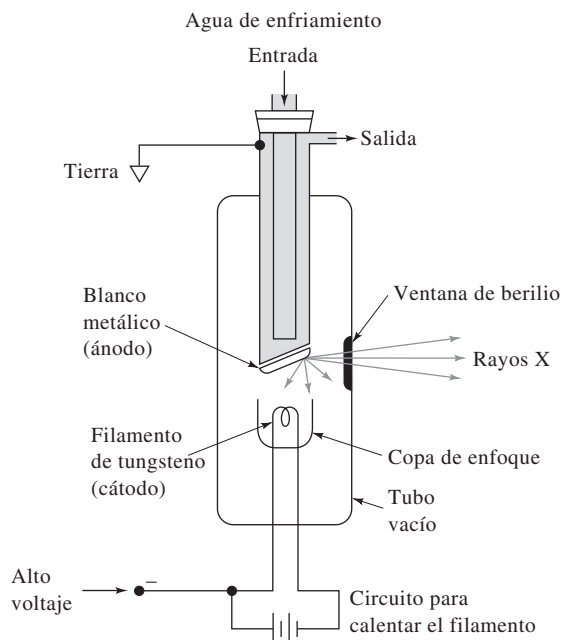


FIGURA 12.7 Esquema de un tubo de rayos X.

Tubo de rayos X

La fuente más común de rayos X para el trabajo analítico es el tubo de rayos X, al que a veces se le llama *tubo de Coolidge*, el cual puede ser de varias formas. En la figura 12.7 se ilustra el esquema de un diseño. Una fuente de rayos X es un tubo al alto vacío en el cual está instalado un cátodo de filamento de tungsteno y un ánodo. Por lo general este último es un bloque grande de cobre con un blanco metálico depositado o incrustado sobre la superficie del bloque. Entre los materiales que se usan como blanco están metales como tungsteno o wolframio, cromo, cobre, molibdeno, rodio, escandio, plata, hierro y cobalto. Hay circuitos separados que se utilizan para calentar el filamento y para acelerar los electrones hacia el blanco. El circuito de calentamiento proporciona los medios para controlar la intensidad de los rayos emitidos, en tanto que el voltaje de aceleración determina su energía o longitud de onda. En el caso del trabajo cuantitativo, ambos circuitos tienen que funcionar con alimentaciones estables que controlen la corriente o el voltaje a 0.1% relativo.

La producción de rayos X mediante bombardeo de electrones es un proceso con muy poca eficiencia. Menos de 1% de la energía eléctrica se transforma en energía radiante, y el resto se disipa como calor. El resultado es que, hasta hace relativamente poco tiempo, se requería agua para enfriar los ánodos de los tubos de rayos X. Con el equipo moderno, el enfriamiento ya es innecesario porque los tubos funcionan con una

energía muy inferior a la que se requería entonces. Esta reducción en la energía necesaria se facilitó gracias a la mayor sensibilidad de los transductores modernos de rayos X.

Radioisótopos

Se ha usado una variedad de sustancias radiactivas como fuentes en los métodos de fluorescencia o de absorción de rayos X (véase tabla 12.2). En general, el radioisótopo está encapsulado para evitar que contamine el laboratorio y está protegido para que absorba radiación sólo en ciertas direcciones.

Muchas de las mejores fuentes radiactivas proporcionan espectros de líneas sencillas; otros proporcionan un continuo (véase tabla 12.2). Debido a la forma de las curvas de absorción de rayos X, un radioisótopo dado será apropiado para excitar la fluorescencia o para estudios de absorción de un cierto número de elementos. Por ejemplo, una fuente que produce una línea en la región comprendida entre 0.30 y 0.47 Å es adecuada para los estudios de fluorescencia y de absorción que se relacionen con el borde de absorción K de la plata (véase figura 12.5). La sensibilidad mejora a medida que la longitud de onda de la línea emitida por la fuente se aproxima al borde de absorción. Desde este punto de vista, el yodo 125 con una línea a 0.46 Å es ideal para determinar la plata.

Fuentes fluorescentes secundarias

En algunas aplicaciones, el espectro de fluorescencia de un elemento que ha sido excitado mediante la radiación de un tubo de rayos X sirve como fuente en estudios de absorción y fluorescencia. Este montaje tiene la ventaja de eliminar el continuo emitido por una fuente primaria. Por ejemplo, un tubo de rayos X con un blanco de tungsteno (figura 12.1) se podría utilizar para excitar las líneas $K\alpha$ y $K\beta$ del molibdeno (figura 12.2). El espectro de fluorescencia resultante sería entonces similar al de la figura 12.2 con la diferencia de que faltaría el continuo.

12B.2 Filtros para rayos X

En muchas aplicaciones se requiere utilizar un haz de rayos X con longitudes de onda de valores restringidos. Con este objetivo, al igual que en la región visible, se utilizan tanto filtros como monocromadores.

En la figura 12.8 se ilustra una técnica común para producir un haz relativamente monocromático que se utiliza como filtro. En este caso, la línea $K\beta$ y la mayor parte de la radiación continua emitida por un blanco de molibdeno se elimina mediante un filtro de circonio con espesor de casi 0.01 cm. Entonces se puede disponer de la línea $K\alpha$ pura para fines analíticos. Se han desarrollado otras combinaciones blanco-filtro de este

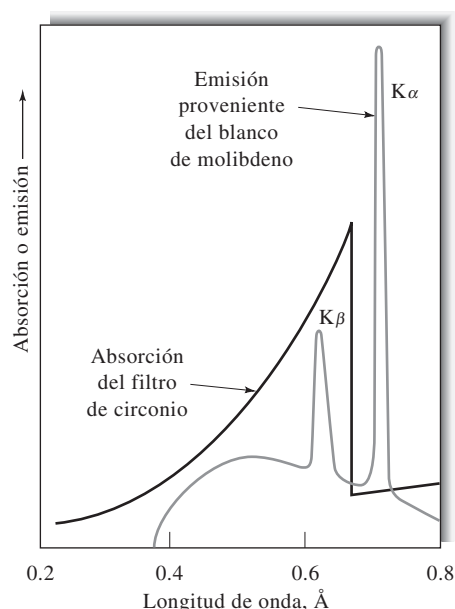


FIGURA 12.8 Uso de un filtro para producir radiación monocromática.

tipo, y cada una de ellas aísla una de las líneas intensas del elemento que se utiliza como blanco. La radiación monocromática producida de esta manera se utiliza ampliamente al estudiar la difracción de rayos X. La elección de las longitudes de onda que se pueden usar en esta técnica está limitada por el número, relativamente pequeño, de combinaciones blanco-filtro que existen.

También es posible filtrar el continuo proveniente de un tubo de rayos X mediante finas tiras de metal. Al igual que con los filtros de vidrio que se emplean para la radiación visible, se transmiten bandas relativamente anchas con una atenuación importante de las longitudes de onda deseadas.

12B.3 Monocromadores para rayos X

En la figura 12.9 se muestra los componentes esenciales de un espectrómetro de rayos X. El monocromador consta de un par de colimadores del haz que tienen la misma finalidad que las rendijas en un instrumento óptico. Hay también un elemento dispersor. Este último es un monocristal instalado sobre un *goniómetro* o placa giratoria que permite variar y determinar en forma precisa el ángulo θ formado por la cara del cristal y el haz incidente colimado. A partir de la ecuación 12.6 es evidente que para un ángulo dado, establecido con el goniómetro, sólo se difractan algunas longitudes de onda (λ , $\lambda/2$, $\lambda/3$, ..., λ/n , donde $\lambda = 2d \sin \theta$).

Para obtener un espectro es necesario que el colimador del haz de salida y el detector estén colocados sobre un segundo soporte que gire al doble de la velo-

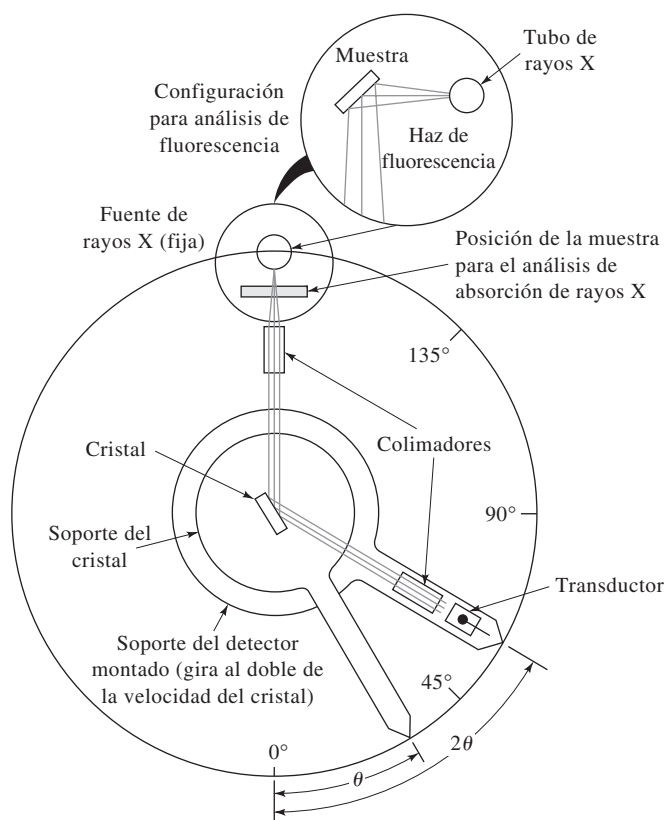


FIGURA 12.9 Detector y monocromador de rayos X. Observe que el ángulo del detector respecto al haz (2θ) duplica el de la cara del cristal. En el caso de análisis de absorción, la fuente es un tubo de rayos X y la muestra se localiza en el haz como se ilustra. En el caso de las mediciones de la emisión, la muestra se convierte en una fuente de fluorescencia de rayos X como se muestra en el inserto.

cidad que el primero; es decir, cuando el cristal gira un ángulo θ , el detector debe desplazarse en forma simultánea a un ángulo 2θ . Es evidente que la separación interplanar d del cristal debe conocerse con precisión (ecuación 12.6). Muchos de los modernos monocromadores de rayos X tienen incorporado un motor controlado mediante una computadora para activar en forma independiente el cristal y el detector sin una conexión mecánica basada en engranes. Estas unidades tienen la capacidad de barrer a velocidades altas (casi $240^\circ/\text{min}$). Algunos instrumentos pueden efectuar un barrido giratorio, en el que el monocromador puede girar a la región de longitud de onda de interés (casi $1400^\circ/\text{min}$) y luego barrer lentamente los picos de los analitos.

Por lo regular, los colimadores de los monocromadores de rayos X constan de una serie de láminas o tubos de metal muy cercanos entre sí que absorben todos los haces de radiación excepto los paralelos.

La radiación X superior a casi $2 \text{ \AA}$ es absorbida por los componentes de la atmósfera. Por tanto, cuando se necesitan longitudes de onda más grandes se suministra un flujo continuo de helio a través del compartimiento de la muestra y del monocromador. Como opción, se puede generar vacío en estas áreas.

En un monocromador equipado con un cristal plano, la pérdida de intensidad es alta porque hasta 99% de la radiación es lo suficientemente divergente como para ser absorbida en los colimadores. Se puede lograr un incremento de la intensidad, por lo menos de un factor de diez, utilizando superficies cristalinas curvas que consiguen no sólo la difracción, sino también enfocar el haz divergente de la fuente sobre el colimador de salida.

Como se ilustra en la tabla 12.1, la mayoría de las líneas de rayos X importantes desde el punto de vista analítico se encuentran en la región comprendida entre alrededor de 0.1 y $10 \text{ \AA}$. Pero los datos de la tabla 12.3 hacen concluir que un solo cristal no dispersa de modo satisfactorio la radiación en todo este intervalo. Entonces, se tiene que instalar un monocromador de rayos X con al menos dos, pero de preferencia más cristales intercambiables.

El intervalo de los valores de longitud de onda útiles de un cristal está determinado por las separaciones d de la red cristalina y los problemas asociados con la detección de la radiación cuando 2θ tiende a cero o a 180° . Cuando el monocromador se fija a un ángulo 2θ que es muy inferior a 10° , la cantidad de radiación policromática que se dispersa en la superficie llega a ser

TABLA 12.3 Propiedades comunes de los cristales de difracción.

Cristal	Separación en la red cristalina d , Å	Longitudes de onda, ^a Å		Dispersión, %Å	
		$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{mín}}$	at $\lambda_{\text{máx}}$	at $\lambda_{\text{mín}}$
Topacio	1.356	2.67	0.24	2.12	0.37
LiF	2.014	3.97	0.35	1.43	0.25
NaCl	2.820	5.55	0.49	1.02	0.18
EDDT ^b	4.404	8.67	0.77	0.65	0.11
ADP ^c	5.325	10.50	0.93	0.54	0.09

^aCon base en el supuesto de que el intervalo de valores medibles es de 2θ de 160° para $\lambda_{\text{máx}}$ a 10° para $\lambda_{\text{mín}}$.

^bEDDT = etilendiamina *d*-tartrato.

^cADP = Fosfato diácido de amonio.

prohibitivamente elevada. En general, no se pueden medir valores de 2θ mayores de alrededor de 160° porque la ubicación de la fuente impide colocar el detector en este ángulo (véase figura 12.9). Los valores mínimo y máximo de λ de la tabla 12.3 se determinaron con estas limitaciones.

En la tabla 12.3 se puede ver que un cristal con gran separación en la red cristalina como el del fosfato diácido de amonio tiene valores de longitud de onda mucho mayores que un cristal en el cual este parámetro es pequeño. La ventaja de valores grandes de d se compensa con la consecuente dispersión menor. Este efecto se ve al derivar la ecuación 12.6, con lo cual se obtiene

$$\frac{d\theta}{d\lambda} = \frac{n}{2d \cos \theta}$$

En este caso $d\theta/d\lambda$, una medida de la dispersión, es inversamente proporcional a d . La tabla 12.3 proporciona datos de dispersión para distintos cristales a sus longitudes de onda máximas y mínimas. La baja dispersión del fosfato diácido de amonio impide su uso en la región de longitudes de onda cortas; en estos casos se debe usar un cristal como el topacio o el fluoruro de litio.

12B.4 Transductores de rayos X y procesadores de señal

Los primeros equipos de rayos X utilizaban emulsiones fotográficas para detectar y medir la radiación. Por cuestiones de comodidad, velocidad y precisión, los instrumentos modernos están equipados con detectores que convierten la energía radiante en una señal eléctrica. Se usan tres tipos de transductores: *transductores de gas*, *contadores de centelleo* y *transductores semicon-*

ductores. Antes de tratar cada una de las funciones de estos dispositivos, vale la pena hablar del *conteo de fotones*, un método para procesar la señal que se utiliza a menudo en los transductores de rayos X así como en detectores de radiación procedente de una fuente radiactiva (capítulo 32). Como ya se mencionó (sección 7F.1), el conteo de fotones también se utiliza en espectroscopía ultravioleta y visible.

Conteo de fotones

A diferencia de los distintos detectores fotoeléctricos que se han considerado hasta este punto, los detectores de rayos X funcionan como *contadores de fotones*. En esta modalidad de trabajo se producen pulsos de carga individuales, como cuantos de radiación, que absorbe el transductor y que son contados. Luego, la potencia del haz se registra en forma digital como el número de conteos por unidad de tiempo. El conteo de fotones requiere tiempos de respuesta rápidos del transductor y del procesador de la señal para que la llegada de los fotones individuales se pueda detectar y registrar con exactitud. Además, la técnica es aplicable sólo en haces de intensidad relativamente baja. Cuando la intensidad del haz aumenta, los pulsos de los fotones comienzan a traslaparse y sólo se puede medir la corriente estable que representa un valor promedio de los pulsos por segundo. Si el tiempo de respuesta del transductor es largo, se produce el traslape de pulsos a intensidades de fotones relativamente bajas. A medida que el tiempo de respuesta se hace más corto, el transductor es más capaz de detectar fotones individuales sin que se traslapen los pulsos.⁷

En el caso de fuentes de radiación débiles, el conteo de fotones proporciona datos más precisos de intensidad que los obtenidos al medir corrientes promedio. La mejora se puede atribuir al hecho de que los pulsos de la señal son casi siempre mayores que los que provienen del ruido de fondo de la fuente, del transductor y de los componentes electrónicos. La separación de la señal del ruido se logra con un *discriminador de alturas de los pulsos*, dispositivo electrónico que se estudia en la sección 12B.5.

La cuenta de fotones se utiliza al trabajar con rayos X porque, a menudo, la potencia de las fuentes disponibles es baja. Además, la cuenta de fotones permite obtener espectros sin utilizar monocromador. Esta propiedad se trata en la sección destinada a los sistemas dispersores de energía.

Transductores de gas

Cuando la radiación X pasa a través de un gas inerte, como el argón, xenón o criptón, se producen interac-



Ejercicio: aprenda más acerca de los **espectrómetros de rayos X**.

⁷E. J. Darland, G. E. Leroi y C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, p. 714.

ciones que originan un gran número de iones gaseosos positivos y de electrones (pares iónicos) por cada cuanto de rayos X. Hay tres tipos de transductores de radiación X denominados *cámaras de ionización*, *contadores proporcionales* y *tubos Geiger*, que se basan en el aumento de conductividad que resulta de este fenómeno.

En la figura 12.10 se muestra el esquema de un transductor de gas característico. La radiación entra en la cámara a través de una ventana transparente de mica, berilio, aluminio o Mylar. Cada fotón de rayos X que interactúa con un átomo de argón causa la pérdida de uno de sus electrones externos. Este *fotoelectrón* posee una elevada energía cinética, que es igual a la diferencia entre la energía del fotón de rayos X y la energía de enlace del electrón en el átomo de argón. El fotoelectrón pierde entonces el exceso de energía cinética al ionizar a varios cientos de átomos del gas. Como consecuencia de la influencia de un voltaje aplicado, los electrones móviles migran hacia el ánodo de filamento central, mientras que los cationes, que se mueven más despacio, se dirigen hacia el cátodo cilíndrico de metal.

En la figura 12.11 se muestra el efecto del voltaje aplicado en la cantidad de electrones que alcanza el ánodo de un transductor de gas por cada fotón de rayos X que entra. En el diagrama se indican tres regiones de voltaje características. A voltajes inferiores a V_1 , la fuerza de aceleración sobre los pares iónicos es baja y la velocidad a la que se separan las especies positivas y negativas es insuficiente para evitar la recombinación parcial. Como consecuencia, la cantidad de electrones que alcanza el ánodo es menor que la producida inicialmente por la radiación que entra.

En la *región de la cámara de ionización* entre V_1 y V_2 , la cantidad de electrones que alcanza el ánodo es razonablemente constante y representa el número total formado por un único fotón.

En la *región de conteo proporcional* entre V_3 y V_4 , la cantidad de electrones aumenta con rapidez con el voltaje aplicado. Este aumento es resultado de la producción de pares iónicos secundarios a causa de los

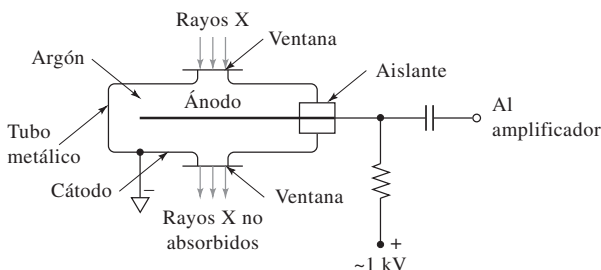


FIGURA 12.10 Corte transversal de un detector de gas.

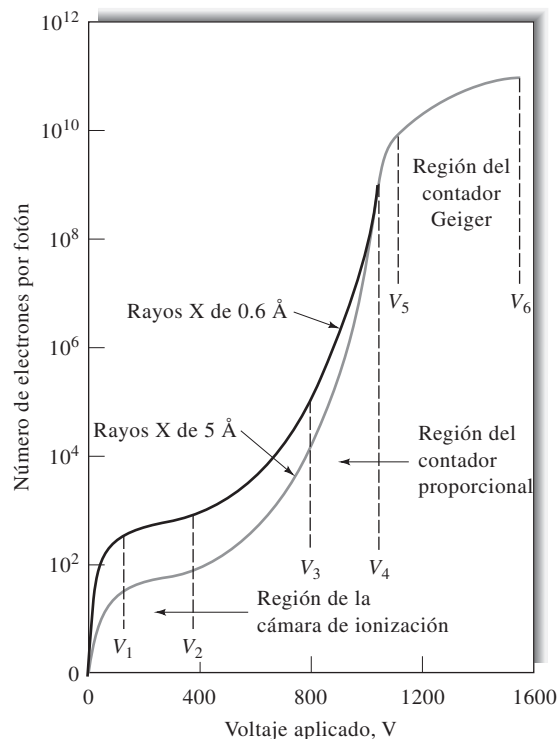


FIGURA 12.11 Amplificación gaseosa de varios tipos de detectores de gas.

choques entre los electrones acelerados y las moléculas de gas. En estas condiciones se amplifica la corriente iónica (*amplificación gaseosa*).

En el *intervalo Geiger* de V_5 a V_6 , la amplificación del pulso eléctrico es enorme, pero está limitada por la carga espacial positiva creada por el movimiento más rápido de los electrones que se alejan de los iones positivos, más lentos. Debido a este efecto, la cantidad de electrones que alcanza el ánodo es independiente del tipo de radiación que llega y de su energía, pero sí está gobernada por la forma del tubo y la presión del gas en éste.

En la figura 12.11 se muestra también que la radiación más energética de $0.6 \text{ \AA}$ produce un número mayor de electrones que los rayos X de longitud de onda más larga de $5 \text{ \AA}$. Por consiguiente, el tamaño del pulso (es decir, su altura) es mayor para rayos X de alta frecuencia que para rayos X de baja frecuencia.

Tubo Geiger

El tubo Geiger es un transductor de gas que opera en la región de potencial comprendida entre V_5 y V_6 de la figura 12.11. En este caso, la amplificación gaseosa es superior a 10^9 . Cada fotón produce un alud de electrones y cationes, por lo que las corrientes resultantes son grandes y relativamente fáciles de detectar y medir.

La conducción de la corriente eléctrica a través de una cámara que opera en la región Geiger, así como en la región proporcional, no es continua porque la carga espacial que se mencionó antes interrumpe el flujo de electrones hacia el ánodo. El efecto neto es un pulso de corriente momentáneo seguido de un intervalo durante el cual el tubo no conduce. Antes de que reinicie la conducción, esta carga espacial se tiene que disipar con la migración de los cationes hacia las paredes de la cámara. Durante el *tiempo muerto*, en el que el tubo no es conductor, es imposible que se dé una respuesta a la radiación; por tanto, el tiempo muerto representa el límite inferior en el tiempo de respuesta del tubo. El tiempo muerto de un tubo Geiger oscila entre 50 y 200 μs .

Por lo general, los tubos Geiger están llenos de argón; también está presente una pequeña concentración de un *gas de extinción orgánico*, a menudo alcohol o metano, para reducir al mínimo la producción de electrones secundarios cuando los cationes chocan contra las paredes de la cámara. El tiempo de vida de un tubo está limitado a unos 10^8 a 10^9 conteos, que es cuando el gas se agota.

Con un tubo Geiger la intensidad de la radiación se determina mediante el conteo de los pulsos de corriente. El dispositivo se puede aplicar a todos los tipos de radiación-X y nuclear. Sin embargo, carece del amplio intervalo de conteo de otros detectores debido a su tiempo muerto relativamente largo. Este hecho limita su uso en los espectrómetros de rayos X. Las aplicaciones cuantitativas de los transductores de tubo Geiger disminuyeron, pero es frecuente encontrarlos todavía en los instrumentos portátiles.

Contadores proporcionales

El contador proporcional es un transductor lleno de gas que funciona en la región de potencial entre V_3 y V_4 de la figura 12.11. En esta región, el pulso producido por un fotón se amplifica por un factor de 500 a 10 000, pero el número de iones positivos producido es tan pequeño que el tiempo muerto es de sólo 1 μs . En general, los pulsos de un tubo contador proporcional se tienen que amplificar antes de ser contados.

La cantidad de electrones por pulso, que es proporcional a la *altura del pulso*, producida en la región proporcional, depende directamente de la energía y, por tanto, de la *frecuencia* de la radiación que llega. Un contador proporcional se puede hacer sensible a un intervalo restringido de frecuencias de rayos X mediante un *analizador de alturas de pulso*, el cual cuenta un pulso sólo si su amplitud está dentro de ciertos límites. De hecho, un analizador de alturas de pulsos permite seleccionar en forma electrónica la radiación; su función es parecida a la de un monocromador.

Los contadores proporcionales se han utilizado mucho como detectores en los espectrómetros de rayos X.

Cámaras de ionización

Las cámaras de ionización trabajan en el intervalo de potencial comprendido entre V_1 y V_2 de la figura 12.11. En este caso, las corrientes son pequeñas (10^{-13} a 10^{-16} casi siempre), y relativamente independientes del voltaje aplicado. Las cámaras de ionización no son útiles en la espectrometría de rayos X debido a que carecen de sensibilidad. Sin embargo, se usan en las mediciones radioquímicas, que se tratan en el capítulo 32.

Contadores de centelleo

La luminiscencia que se produce cuando la radiación choca con una sustancia luminiscente, también llamada luminóforo o centelleador, representa uno de los métodos más antiguos para detectar radiactividad y rayos X, y todavía se usa ampliamente en ciertos tipos de mediciones. En sus primeras aplicaciones, la técnica consistía en el conteo manual de los destellos que resultaban cuando fotones individuales o partículas radioquímicas chocaban contra una pantalla de sulfuro de zinc. Geiger se dio cuenta de lo fastidioso que era contar los destellos uno por uno, por lo que decidió crear los transductores de gas, que no sólo eran más prácticos y más confiables, sino también más sensibles a la radiación. La invención del tubo fotomultiplicador (sección 7E.2) y la mejor calidad de los centelleadores dieron nueva vida a la técnica, por lo que el contador de centelleo es otra vez uno de los métodos importantes para detectar radiación.

El *detector de centelleo* moderno que más se utiliza consta de un cristal transparente de yoduro de sodio que se ha activado mediante la introducción de yoduro de talio al 0.2%. A menudo, al cristal se le da forma de cilindro de unos 7.5 a 10 cm en cada dimensión. Una de las superficies planas está situada enfrente del cátodo de un tubo fotomultiplicador. Conforme la radiación incidente atraviesa el cristal, en primer lugar pierde su energía en el centelleador; esta energía se libera después en forma de fotones de radiación fluorescente. Se producen varios miles de fotones con una longitud de onda de alrededor a 400 nm por cada partícula primaria o fotón, en un tiempo de casi 0.25 μs , que se conoce como tiempo muerto. Por consiguiente, el tiempo muerto de un contador de centelleo es muy pequeño en comparación con el de un detector de gas.

Los destellos de luz producidos en un cristal centelleador se transmiten al fotocátodo de un tubo fotomultiplicador y luego se convierten en pulsos eléctricos que se pueden amplificar y contar. Una característica importante de los centelleadores es que el número de fotones que se produce en cada destello es proporcio-

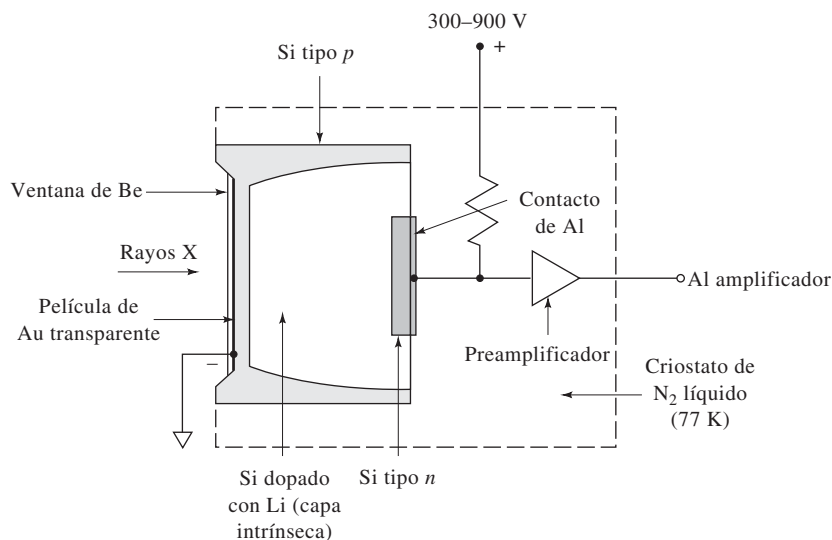


FIGURA 12.12 Corte transversal vertical de un detector de silicio dopado con litio para rayos X y radiación de fuentes radiactivas.

nal a la energía de la radiación entrante. Por tanto, la incorporación de un analizador de altura de pulsos para vigilar la salida de la señal de un contador de centelleo constituye la base de los fotómetros dispersores de energía que se estudian más adelante.

Además de los cristales de yoduro de sodio se utiliza un cierto número de centelleadores orgánicos como estilbeno, antraceno y terfenilo. En su forma cristalina, tienen tiempos de desintegración de 0.01 y 0.1 μ s. Se han perfeccionado también centelleadores orgánicos líquidos, y su uso ofrece ventajas porque absorben menos radiación que los sólidos. Un ejemplo de un centelleador líquido es una disolución de *p*-terfenilo en tolueno.

Transductores semiconductores

Los transductores semiconductores se han vuelto muy importantes como detectores de rayos X. A estos dispositivos se les denomina a veces *detectores de silicio dopados con litio* o *de difusión de litio*, Si(Li), o *detectores de germanio dopados con litio*, Ge(Li).

En la figura 12.12 se ilustra un tipo de detector dopado con litio, cuyo principal componente es una fina lámina de silicio cristalino. En el cristal existen tres capas, a saber, una capa semiconductor tipo *p* que se coloca frente a la fuente de rayos X, una zona *intrínseca* central y una capa tipo *n*. La superficie más externa de la capa tipo *p* se reviste con una fina cubierta de oro que permite la conexión eléctrica; a menudo, se cubre también con una fina ventana de berilio que es transparente a los rayos X. La señal de salida se recoge en una capa de aluminio que recubre el silicio tipo *n*; después se le dirige a un preamplificador con una ganancia de alrededor de 10. Con frecuencia, el preamplificador es un transistor de efecto de campo que constituye una parte del detector.

Un detector dopado con litio se consigue por depósito de vapor de litio sobre la superficie de un cristal de silicio impuro-*p*. Cuando el cristal se calienta de 400°C a 500°C, el litio se difunde hacia el interior del cristal. Puesto que el litio pierde electrones con facilidad, su presencia convierte la región tipo *p* en tipo *n*. Mientras se mantiene la temperatura elevada, se aplica un voltaje de corriente continua en el cristal para provocar la retirada de los electrones de la capa de litio y de los huecos de la capa tipo *p*. La corriente en la unión *pn* ocasiona la migración, o deriva, de iones litio en la capa *p* y la formación de la capa intrínseca donde los iones litio reemplazan a los huecos perdidos por conducción. Cuando el cristal se enfría, la capa central tiene una elevada resistencia relativa respecto a las otras capas porque los iones litio en este medio son menos móviles que los huecos desplazados.

Las funciones de la capa intrínseca en un detector de silicio son análogas a las del argón en un detector de gas. Al principio, la absorción de un fotón da lugar a la formación de un fotoelectrón muy energético, el cual pierde su energía cinética al pasar varios miles de electrones del silicio a la banda de conducción, lo que da como resultado un marcado aumento de la conductividad. Cuando se aplica un potencial en el cristal, la absorción de cada fotón produce un pulso de corriente. Al igual que en los detectores proporcionales, el tamaño del pulso es directamente proporcional a la energía de los fotones absorbidos. Sin embargo, a diferencia de los detectores proporcionales, no hay amplificación secundaria del pulso.

Tal como se muestra en la figura 12.12, el detector y el preamplificador de un detector dopado con litio deben estar térmicamente estabilizados a la temperatura del nitrógeno líquido (77 K) para reducir el ruido electrónico a un nivel tolerable. Los detectores originales

de Si(Li) tenían que ser enfriados en forma continua porque a temperatura ambiente los átomos de litio se pueden difundir en el silicio, con lo que se degradaría el funcionamiento del detector. Los detectores de Si(Li) modernos sólo necesitan enfriamiento durante su uso.

El germanio se utiliza en lugar del silicio en detectores dopados con litio que son útiles sobre todo para percibir radiación de longitud de onda inferior a $0.3 \text{ \AA}$; deben tener enfriamiento en todo momento. Los detectores de germanio que no requieren ser dopados con litio están fabricados con germanio muy puro, reciben el nombre de detectores de germanio intrínseco y necesitan enfriamiento sólo durante su uso.

Distribución de las alturas de los pulsos en los transductores de radiación X

Para entender las propiedades de los espectrómetros que dispersan la energía es importante darse cuenta de que aunque el transductor absorbe fotones sucesivos de rayos X de idéntica energía, el tamaño de los pulsos de corriente que resultan no es exactamente el mismo. Las variaciones producto de la expulsión de los fotoelectrones y la posterior generación de electrones de conducción son procesos aleatorios que siguen las leyes de la probabilidad. Por consiguiente, hay una distribución gaussiana de las alturas de los pulsos alrededor de un valor medio. La anchura de esta distribución varía de un tipo de transductor a otro, y los detectores semiconductores son los que proporcionan bandas de pulsos notablemente más angostas. Esta propiedad es la que ha hecho que los detectores dopados con litio sean tan importantes en la espectroscopía de rayos X con dispersión de energía.

12B.5 Procesadores de señal

La señal que proviene del preamplificador de un espectrómetro de rayos X se alimenta a un amplificador lineal de respuesta rápida cuya ganancia puede variar por un factor de hasta 10 000. Como resultado se obtienen unos pulsos de voltaje del orden de los 10 V.

Selectores de alturas de pulsos

La mayor parte de los espectrómetros de rayos X más modernos (tanto los que dispersan longitudes de onda como energía) están equipados con *discriminadores* que eliminan los pulsos de alrededor de 0.5 V (después de la amplificación). De esta manera se reduce de manera significativa el ruido del amplificador y del transductor. Algunos instrumentos poseen *selectores de altura de pulso* o *discriminadores de ventana*, que son circuitos electrónicos que rechazan no sólo los pulsos

con alturas inferiores a un nivel mínimo predeterminado, sino también los superiores a un nivel máximo preestablecido. Es decir, eliminan todos los pulsos excepto los que quedan dentro de un *canal* o *ventana* limitada de alturas de pulso.⁸

Los instrumentos de dispersión cuentan con un equipo de selectores de altura de pulsos para rechazar el ruido y suplir al monocromador en la función de separar la línea del analito de la radiación más energética y de orden superior que se difracta a los mismos parámetros del cristal.

Analizadores de alturas de pulso

Los analizadores de alturas de pulso están constituidos por uno o más selectores de altura de pulso que se configuran de tal manera que proporcionan espectros de energía. Por lo regular, el analizador de un solo canal tiene un intervalo de voltaje de unos 10 V o superior con una ventana de 0.1 a 0.5 V que se puede ajustar manual o automáticamente para barrer todo el intervalo de voltaje y suministrar datos para un espectro de dispersión de energías. Los analizadores multicanal casi siempre contienen algunos miles de canales separados, cada uno de los cuales actúa como un solo canal que corresponde a una ventana de potencial diferente. La señal de cada canal se acumula luego en el espacio de la memoria del analizador correspondiente a la energía de dicho canal, lo cual facilita el conteo simultáneo y el registro del espectro completo.

Escaladores y contadores

A veces, para obtener velocidades de conteo adecuadas, la señal de salida del detector de rayos X se reduce, es decir, se busca disminuir la cantidad de pulsos dividiéndola entre algún múltiplo de diez o de dos, dependiendo de si el circuito es un dispositivo de décadas o binario. En la sección 4C.4 se describió en forma breve el escalador electrónico. El conteo de los pulsos escalados se lleva a cabo por medio de contadores electrónicos como los que se describieron en las secciones 4C.2 y 4C.3.

12C MÉTODOS DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Aunque es posible obtener un espectro de emisión de rayos X si se incorpora la muestra en la zona del blanco de un tubo de rayos X, esta técnica no es nada conveniente para muchos tipos de materiales. En su lugar, la excitación se consigue irradiando la muestra con un haz de rayos X procedente de un tubo de rayos X o de una fuente radiactiva. Con esta técnica, los elementos de la muestra se excitan como consecuencia de la ab-



Ejercicio: aprenda más acerca de los **transductores de rayos X**.

⁸Si desea un análisis sobre la forma de la señal, refiérase a la sección 4C.1.

sorción del haz primario y emiten sus propios rayos X fluorescentes característicos. Por esta razón, este procedimiento se denomina correctamente método de *fluorescencia de rayos X* o *método de emisión de rayos X*. Se trata de una herramienta eficaz para las determinaciones cuantitativas rápidas de todos los elementos, excepto los más ligeros. Además, se le usa para la identificación cualitativa de elementos cuyos números atómicos son mayores que el del oxígeno (>8) y a menudo se usa para los análisis elementales semicuantitativos o cuantitativos.⁹ Una ventaja particular de dicho método es que no se tiene que destruir la muestra, en comparación con la mayoría de las otras técnicas de análisis elemental.

12C.1 Instrumentos

Diversas combinaciones de los componentes de los instrumentos que se trataron en la sección anterior originan los dos tipos principales de espectrómetros: instrumentos de fluorescencia de rayos X *dispersores de longitudes de onda* y los de fluorescencia de rayos X *dispersores de energía*.¹⁰

Instrumentos dispersores de longitudes de onda

Los instrumentos que dispersan las longitudes de onda siempre contienen tubos como fuente debido a las enormes pérdidas de energía que hay cuando el haz de rayos X es colimado y dispersado en las distintas longitudes de onda que lo componen. Las fuentes radiactivas producen fotones de rayos X a una velocidad menor que 10^{-4} en comparación con un tubo de rayos X; la atenuación que añade el monocromador generaría un haz difícil o imposible de detectar y medir con exactitud.

Los instrumentos que dispersan longitudes de onda son de dos tipos, de *un solo canal* o *secuencial* y *multicanal* o *simultáneo*. El espectrómetro que se muestra en la figura 12.9 es un instrumento secuencial que se puede utilizar con facilidad para el análisis por fluorescencia de rayos X. En este tipo de instrumento, el tubo de rayos X y la muestra están acomodados tal y como se muestra en el inserto que aparece en la parte superior de la figura. Los instrumentos de un solo canal pueden ser manuales o automáticos. Los primeros proporcionan resultados satisfactorios en la determinación cuantitativa de algunos elementos. Para esta aplicación, el cristal y el transductor se colocan formando ángulos adecuados (θ y 2θ) y el conteo se lleva a cabo de forma continua hasta que se hayan acumu-

lado suficientes cuentas para dar resultados precisos. Los instrumentos automáticos son mucho más adecuados para el análisis cualitativo, que requiere el barrido de un espectro completo. En estos aparatos, los movimientos del cristal y del detector están sincronizados y la señal de salida de este último está conectada a un sistema de adquisición de datos.

Los espectrómetros de un solo canal más modernos están equipados con dos fuentes de rayos X. Por lo regular, una tiene un blanco de cromo para las longitudes de onda más largas y la otra un blanco de tungsteno para las más cortas. En el caso $\lambda > 2 \text{ \AA}$, es necesario eliminar el aire que haya entre la fuente y el detector mediante una bomba de vacío o por desplazamiento con un flujo continuo de helio. En este tipo de instrumento la dispersión de cristales tiene que ser también fácil. Los instrumentos de un solo canal cuestan más de 50 000 dólares.

Los instrumentos multicanal de dispersión son equipos grandes y caros ($>\$150\,000$ dólares) que permiten detectar y determinar de manera simultánea hasta 24 elementos. En estos aparatos los canales individuales constan de un cristal adecuado y de un detector, y están distribuidos en forma radial alrededor de la fuente de rayos X y del portamuestra. Los cristales para todos o para la mayoría de los canales están fijos, formando un ángulo apropiado respecto a una determinada línea del analito; en algunos instrumentos se pueden mover uno o más cristales para permitir un barrido del espectro.

En un instrumento multicanal, cada transductor contiene su propio amplificador, un selector de alturas de pulso, un escalador y un contador o integrador. Estos instrumentos están equipados con una computadora que controla el instrumento, la organización de los datos y el despliegue de los resultados analíticos. Una determinación de 20 o más elementos se puede terminar en pocos segundos o pocos minutos.

Los instrumentos multicanal se usan ampliamente para determinar diversos componentes en materiales industriales como aceros, otras aleaciones, cementos, minerales y productos del petróleo. Tanto los instrumentos de un solo canal como los de múltiples canales tienen la aptitud de manipular muestras en forma de metales, sólidos pulverizados, películas evaporadas, líquidos puros o disoluciones. Si es necesario, los materiales se colocan en una cubeta con una ventana de Mylar o de celofán.

Instrumentos dispersores de energía

Tal como se muestra en la figura 12.13a, un espectrómetro de fluorescencia de rayos X que dispersa la energía consta de una fuente policromática, que puede ser un tubo de rayos X o un material radiactivo, un portamuestras, un detector semiconductor y diversos com-

⁹Véase R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1999.

¹⁰Revise los más recientes instrumentos de fluorescencia de rayos X en P. J. Potts, A. T. Ellis, P. Kregsamerc, C. Strelic, C. Vanhoofd, M. Weste, y P. Wobraushekc, *J. Anal. Atomic Spectrometry*, **2005**, 20, p. 1124.

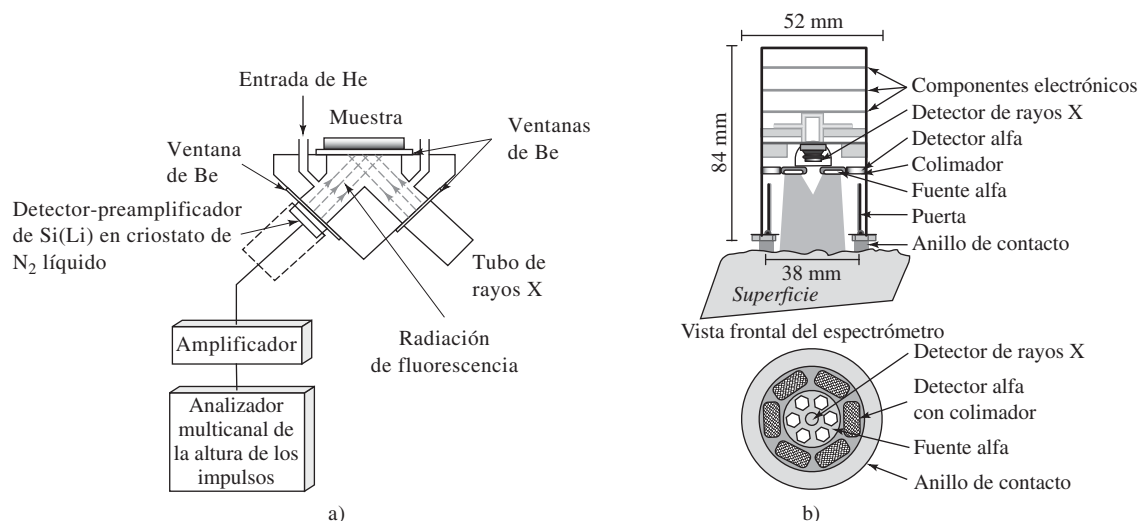


FIGURA 12.13 Espectrómetro de fluorescencia de rayos X dispersor de energía. La excitación mediante rayos X desde a) un tubo de rayos X y b) una sustancia radiactiva (curio 244, una partícula alfa de 5.81 MeV y una fuente de rayos X) como se muestra en la cabeza de sensores del espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa para las misiones a Marte. El detector de rayos X es un nuevo tipo que trabaja a temperatura ambiente. (Reimpreso con autorización de R. Gellert *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2006**, 111, p. E02S05.)

ponentes electrónicos necesarios para discriminar la energía.¹¹

Una ventaja obvia de los sistemas dispersores de energía es la sencillez y ausencia de partes móviles en los componentes de excitación y detección del espectrómetro. Además, la ausencia de colimadores y de un cristal difractor, así como la cercanía entre el detector y la muestra, incrementa 100 veces o más la energía que llega al detector. Estas características permiten usar fuentes más débiles, como los materiales radiactivos o tubos de rayos X de baja potencia, que son más baratos y en los que es menos probable que la radiación cause daños en la muestra. En general, el precio de los instrumentos dispersores de energía es de cuatro a cinco veces menor que el de un sistema dispersor de longitudes de onda.

En la figura 12.13b se ilustra la cabeza de sensores del explorador enviado a Marte en 2004. La cabeza contiene una fuente de curio 244 que emite rayos X y partículas alfa de 5.81 MeV. Los rayos X causan fluorescencia en las muestras de roca de Marte, y las partículas alfa estimulan también la emisión de rayos X. La emisión de rayos X estimulada por el bombardeo con partículas alfa y otras partículas subatómicas como los protones se llama *emisión de rayos X inducida por partículas*. El detector de rayos X es de un tipo nuevo que funciona a temperatura ambiente, que en la baja temperatura de la noche marciana (por debajo de -40°C) produce poco ruido y una alta relación señal-

ruido, con lo que se tiene resolución y sensibilidad excelentes. Observe el diseño concéntrico de la cabeza de sensores con seis fuentes de cm-244 acomodados alrededor del detector central. El espectro de rayos X de la figura 12.14 se logró con dicha cabeza.

En un instrumento multicanal dispersor de energía todas las líneas de rayos X emitidas se miden de manera simultánea. El incremento de la sensibilidad y el mejoramiento de la relación señal-ruido son el resultado de la ventaja Fellgett (véase sección 7I.1). El principal inconveniente de los sistemas dispersores de energía, si se comparan con los espectrómetros de cristal, es su resolución más baja a longitudes de onda superiores a 1 Å. Por otra parte, a longitudes de onda más cortas, los sistemas dispersores de energía manifiestan una resolución superior.

La figura 12.15a es una fotografía de un instrumento de fluorescencia de rayos X dispersor de energía, básico, comercial, que se puede colocar sobre una mesa. Se utiliza en la determinación de rutina de una amplia gama de elementos, desde el sodio hasta el uranio en muestras provenientes de muchos procesos industriales. El diagrama de la figura 12.15b muestra un acercamiento de la parte inferior de la mesa giratoria para las muestras, la cual se puede ver desde la parte superior de la fotografía de la figura 12.15a, y la disposición óptica del instrumento. La radiación proveniente del tubo de rayos X pasa por un filtro apropiado antes de chocar con el fondo de la muestra que está girando. La fluorescencia de rayos X emitida por la muestra pasa por el detector de silicio, el cual proporciona la señal al sistema de conteo multicanal. El sistema está equipado

¹¹ Véase R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1999.

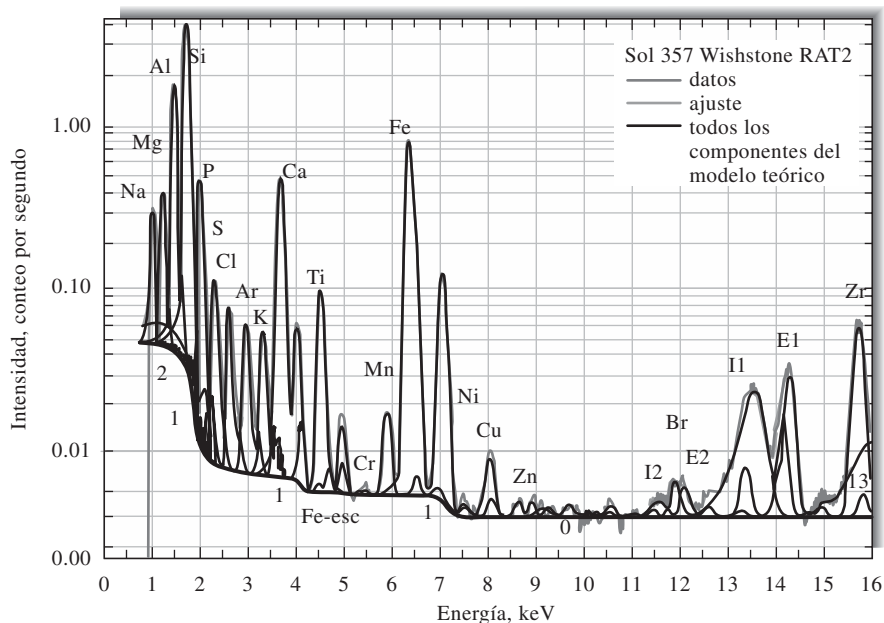


FIGURA 12.14 Espectro de rayos X que se obtuvo en Marte junto con los componentes del modelo de desconvolución. Los principales picos característicos de los elementos (líneas $K\alpha$) están señaladas y las líneas $K\beta$ no lo están. (Reimpreso con autorización de R. Gellert *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2006**, 111, p. E02S05.)

con un tubo de rayos X con ánodo de rodio, cinco filtros programables, un sistema de purga de helio, un instrumento para poner la muestra en 12 posiciones y una base para hacer girar la muestra durante el proceso de adquisición de datos. Hacer que la muestra gire, reduce errores debidos a la heterogeneidad de la muestra. En la sección 12C.3 se describe una aplicación cuantitativa de este instrumento.

12C.2 Análisis cualitativo y semicuantitativo

En la figura 12.16 se ilustra un espectro que se obtuvo mediante un instrumento que dispersa energía. Con dicho equipo, la abscisa está calibrada generalmente en número de canal o energía en keV. Cada punto representa el número de conteos acumuladas en uno de los varios cientos de canales.

La información cualitativa, tal como se muestra en la figura 12.16, se puede transformar en datos semicuantitativos mediante la medición cuidadosa de las alturas de los picos. Para obtener un cálculo aproximado de la concentración, se utiliza la siguiente relación:

$$P_x = P_s W_x \quad (12.7)$$

donde P_x es la intensidad relativa de la línea medida en términos del número de conteos en un periodo fijo y W_x es la fracción en peso del elemento que se desea en la muestra. El término P_s es la intensidad relativa de la línea que se observaría en idénticas condiciones de conteo si W_x fuera la unidad. El valor P_s se determina

con una muestra del elemento puro o con una muestra patrón de composición conocida.

Al utilizar la ecuación 12.7, como se señala en el párrafo anterior, se supone que la emisión de la especie de interés no resulta afectada por la presencia de otros elementos en la muestra. Ya se verá que esta suposición no se puede justificar. Como consecuencia, la concentración calculada podría tener un error de un factor igual o superior a dos. Por otro lado, esta incertidumbre es significativamente menor que la asociada con un análisis semicuantitativo por emisión óptica en el que son comunes los errores de un orden de magnitud.

12C.3 Análisis cuantitativo

Los instrumentos modernos de fluorescencia de rayos X son capaces de efectuar análisis cuantitativos de materiales complejos con una precisión igual o mayor que la de los métodos químicos clásicos por vía húmeda o la de otros métodos instrumentales.¹² Sin embargo, para que la exactitud de los análisis alcance este nivel es necesario disponer de patrones de calibración que se parezcan lo más posible a las muestras, tanto en su composición química como física, o bien, de métodos adecuados para enfrentar los efectos de la matriz.

¹² Véase R. E. Van Grieken y A. A. Markowicz, eds., *Handbook of X-ray Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 2002; R. Jenkins, R. W. Gould y D. Gedcke, *Quantitative X-Ray Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1995.

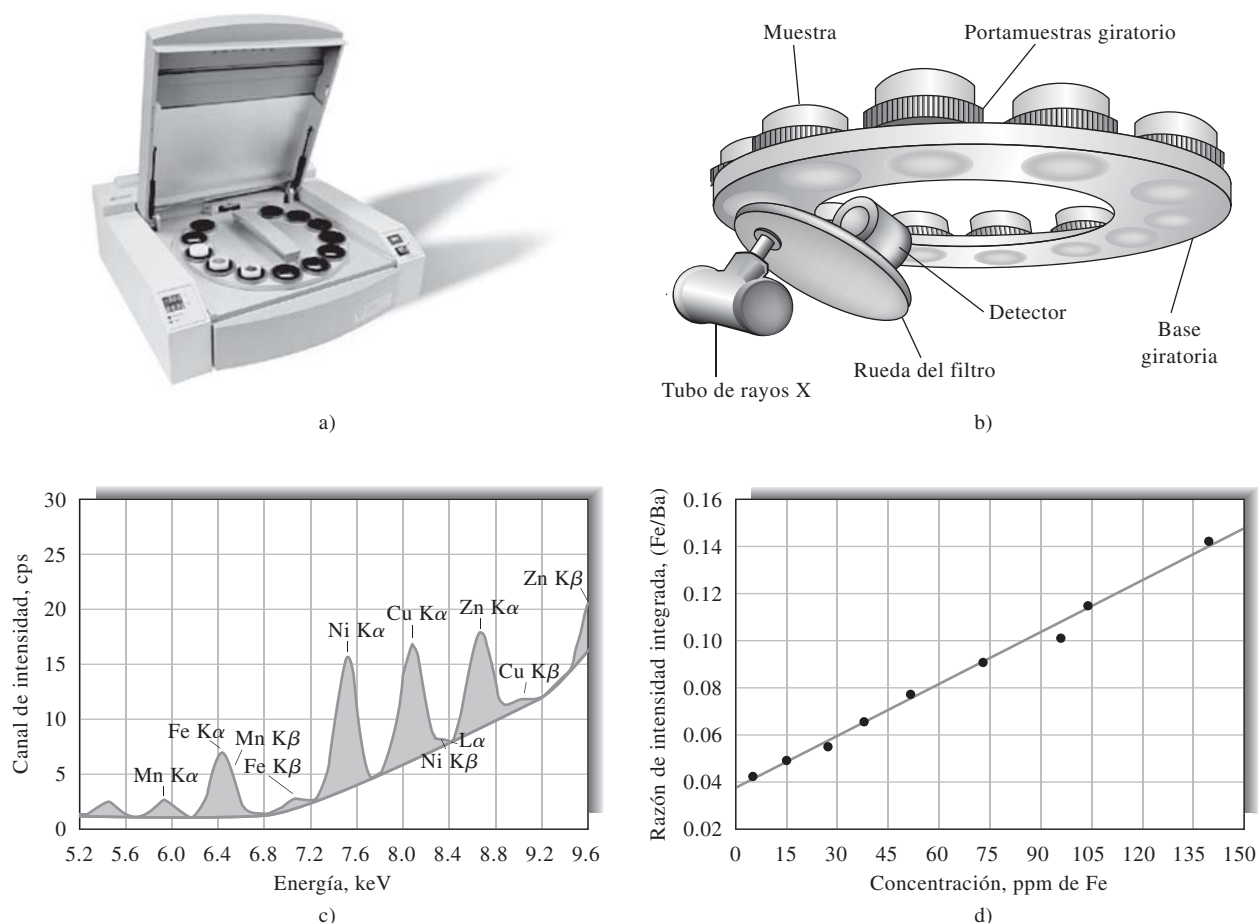


FIGURA 12.15 a) Espectrómetro MiniPal 4 de fluorescencia de rayos X para mesa, en el que se muestra una base giratoria desmontable hasta para 12 muestras. b) Diagrama en el que se ilustra la fuente de rayos X, la rueda del filtro, el detector y la base giratoria para las muestras, visto todo desde abajo. c) Espectro de fluorescencia de rayos X de una muestra de arroz. Las zonas sombreadas bajo las curvas son proporcionales a la cantidad de cada elemento en la muestra. d) Curva de calibración que se obtuvo con nueve muestras de arroz. Las zonas integradas de espectros similares al de c) se grafican contra las concentraciones certificadas de hierro en las muestras. (Reimpreso con autorización de V. Sethi, M. Mizuhira y Y. Xiao, *G.I.T. Laboratory Journal*, 2005, 6, p. 22. Copyright 2005 por GIT Verlag GmbH & Co.; fotografía cortesía de PANalytical B.V.)

Efectos de la matriz

Es importante tener en cuenta que los rayos X producidos en un proceso de fluorescencia se generan no sólo a partir de los átomos de la superficie de una muestra, sino también de aquellos que están abajo de la superficie. Por tanto, una parte de la radiación incidente y del haz fluorescente resultante atraviesan un cierto espesor de la muestra en el que puede tener lugar absorción y dispersión. El grado de atenuación de ambos haces depende del coeficiente de absorción de masa del medio, el cual a su vez se determina a partir de los coeficientes de absorción de todos los elementos de la muestra. Entonces, aunque la intensidad

netamente de una línea que llega al detector en una medición de fluorescencia de rayos X depende de la concentración del elemento que produce la línea, también la afectan la concentración y los coeficientes de absorción de masa de los elementos de la matriz.

Los efectos de absorción que ocasiona la matriz pueden hacer que los resultados calculados a partir de la ecuación 12.7 sean más altos o más bajos. Si, por ejemplo, la matriz contiene una cantidad importante de un elemento que absorbe el haz incidente o el emitido más fuertemente que el elemento por determinar, entonces W_x será bajo, porque P_s se calcula con un patrón en el que la absorción es más pequeña. Por otro

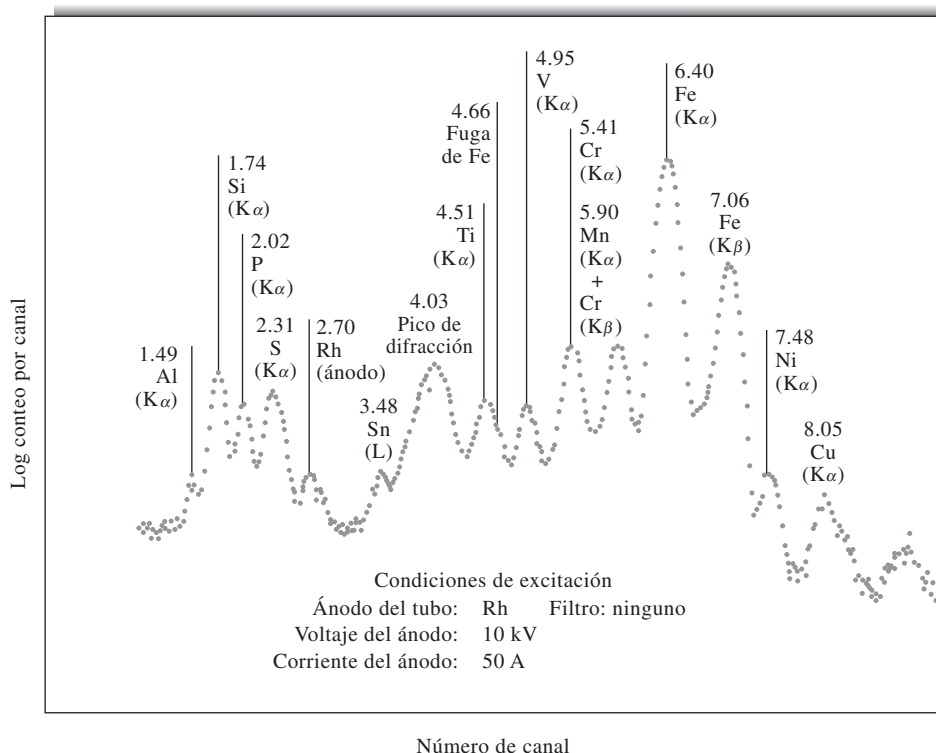


FIGURA 12.16 Espectro de una muestra de hierro que se obtuvo mediante un instrumento que dispersa la energía con una fuente de tubo de rayos X y ánodo de Rh. Los números sobre los picos son energías en keV. (Reimpreso con autorización de J. A. Cooper, Amer. Lab., 1976, 8 (11), p. 44. Copyright 1976 por International Scientific Communications, Inc.)

lado, si los elementos de la matriz de la muestra absorben menos que los del patrón, resultarán valores más altos de W_r .

Un segundo efecto causado por la matriz es el llamado *efecto de intensificación* que también puede dar resultados mayores que lo esperado. Este comportamiento se observa cuando la muestra contiene un elemento cuyo espectro de emisión característico es excitado por el haz incidente y dicho espectro, a su vez, produce una excitación secundaria de la línea analítica.

Se han perfeccionado varias técnicas para compensar los efectos de absorción y de intensificación en los análisis por fluorescencia de rayos X.

Calibración con patrones externos

En este caso, la relación entre la intensidad de la línea analítica y la concentración se determina de modo empírico con un grupo de patrones que se aproximen mucho a la muestra en cuanto a su composición global. Luego se supone que los efectos de absorción y de intensificación son idénticos para la muestra y los patrones, y se usan los datos empíricos obtenidos para convertir los datos de emisión en concentraciones. El grado de compensación que se alcanza por esta vía

depende de la similitud entre las muestras y los patrones.

Uso de patrones internos

En este procedimiento se introduce un elemento a una concentración conocida y fija, tanto en las muestras como en los patrones de calibración; el elemento añadido no debe estar presente en la muestra original. La relación de las intensidades entre el elemento por determinar y el patrón interno es la variable analítica. En este caso se supone que los efectos de absorción y de intensificación son iguales para las dos líneas, y que el uso de la relación de intensidades compensa estos efectos.

Dilución de la muestra y de los patrones

Tanto la muestra como los patrones se diluyen con una sustancia que absorbe muy poco los rayos X, es decir, contiene elementos cuyos números atómicos son bajos. Entre los ejemplos de tales diluyentes están el agua; disolventes orgánicos que sólo contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno; almidón; carbonato de litio; alúmina, y ácido bórico o vidrio de borato. Cuando se utiliza un exceso de diluyente, los efectos de la matriz llegan a ser constantes en esencia para las muestras y los patrones diluidos, y se alcanza una com-

pensación adecuada. Este procedimiento es muy útil para el análisis de minerales, en el que tanto las muestras como los patrones se disuelven en bórax fundido; después de enfriarse, la masa fundida se excita de la manera usual.

Métodos y análisis de datos cuando hay varios elementos

Cuando es posible establecer que la absorción de rayos X de la muestra no varía en forma considerable de cierto intervalo de valores esperados de concentración del analito y cuando los efectos de intensificación están ausentes, por lo general se observa una relación lineal entre la intensidad de la línea de fluorescencia por rayos X y la concentración del elemento.¹³ Cuando existen dichas condiciones, a menudo es posible usar las *técnicas de estandarización*. En éstas, los patrones o estándares se preparan y caracterizan, o bien, lo que es más común, se compran en el *National Institute of Standards and Technology* (NIST) o en otras instituciones. Estos patrones se utilizan para calibrar espectrómetros y establecer las curvas de trabajo para el análisis. Cientos de dichos patrones están disponibles para comparar muestras con tipos particulares de patrones.

Cuando la naturaleza y la composición de la muestra no son bien conocidas, es necesario usar *métodos de corrección por influencia*, de los cuales hay tres tipos principales, a saber, *fundamental*, *derivado* y *de regresión*. En el caso del método primero, la intensidad de la fluorescencia se calcula para cada elemento en una muestra patrón a partir de variables como el espectro de la fuente, las ecuaciones fundamentales para absorción y fluorescencia, los efectos de la matriz y la reflectividad del cristal (en el caso de un instrumento de fluorescencia por rayos X que dispersa las longitudes de onda), la abertura del instrumento, el rendimiento del detector, etcétera. El espectro de la fluorescencia por rayos X del patrón se mide y, en un proceso iterativo, las variables del instrumento se afinan y combinan con las variables fundamentales para obtener una *función de calibración* para el análisis. Entonces se mide el espectro de una muestra desconocida y el proceso iterativo se repite usando estimaciones iniciales de las concentraciones de los analitos. La iteración continúa mientras el espectro calculado no concuerde con el de la incógnita de acuerdo con los criterios estadísticos apropiados. Este método ofrece buenos resultados con exactitudes del orden de 1 a 4%, pero en general se considera menos exacto que los procesos derivados o de regresión.¹⁴ El llamado *análisis sin patrones* se efectúa

usando variaciones de los métodos de calibración fundamental. Los instrumentos se caracterizan con cuidado, y los parámetros instrumentales y los fundamentales se guardan en la computadora. Luego se calculan los espectros y se comparan con muestras mediante métodos iterativos para determinar las concentraciones de analito.

Los métodos derivados simplifican los cálculos del método fundamental al agrupar cálculos esenciales detallados en parámetros generalizados para explicar funciones instrumentales, pero el cálculo de las intensidades de fluorescencia a partir de la concentración del analito es igual que en los métodos fundamentales. A menudo, los métodos derivados tienen exactitud y precisión mejores que los métodos fundamentales.

Los métodos de regresión se apoyan en modelos de la forma

$$W_i = B_i + K_i I_i \left[1 + \sum_{j=1}^n m_{ij} W_{ij} \right]$$

donde B_i es el fondo, K_i es un coeficiente de sensibilidad, I_i es la intensidad que ocasiona el elemento i , m_{ij} es el *coeficiente binario de influencia* que describe el efecto de la matriz del elemento j en el analito i y W_{ij} es la composición promedio de la muestra en i y j . Para calibrar un instrumento, los espectros se obtienen mediante patrones y se efectúa un análisis de regresión para determinar K_i , B_i y m_{ij} para cada una de las combinaciones binarias de elementos en los patrones. Los parámetros se utilizan después en un análisis de regresión de datos espectrales provenientes de muestras incógnita para determinar las concentraciones desconocidas W_i . Hay una amplia gama de modelos y de algoritmos de análisis de regresión en fluorescencia por rayos X, y muchos de los instrumentos comerciales son combinaciones y variaciones de dichos algoritmos en sus grupos de programas.¹⁵ Las exactitudes y las precisiones que se consiguen mediante estos métodos son casi siempre de 1% o mejores en condiciones óptimas. Los métodos de regresión se aplicaron para analizar los datos de la figura 12.14 proveniente del explorador enviado a Marte con el fin de determinar mediante fluorescencia por rayos X y dispersión de energía la concentración de diversos elementos en las rocas y el suelo.

En los primeros días de la fluorescencia por rayos X, los métodos de corrección por influencia eran difíciles y requerían mucho tiempo porque sólo las computadoras grandes y caras, poseían la capacidad suficiente para efectuar los cálculos. Con el surgimiento de las computadoras potentes, baratas y especiales,

¹³ R. Jenkins, *X-Ray Fluorescence Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1999, pp. 182-186.

¹⁴ J. L. de Vries y B. A. R. Vrebo, en R. E. Van Grieken y A. A. Markowicz, eds., *Handbook of X-ray Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 2002, p. 378.

¹⁵ *Ibid.*, pp. 341-405.

el análisis de datos complejos ya es rutinario y todos los instrumentos comerciales tienen conjuntos de programas (*suites*) para operar y calibrar los instrumentos, y para reducir los datos y analizarlos.

Algunas aplicaciones cuantitativas de la fluorescencia de rayos X

La espectrometría de fluorescencia por rayos X es una de las herramientas más potentes para la rápida determinación cuantitativa de todos los elementos, excepto los más ligeros, en muestras complejas, con la adecuada corrección de los efectos de la matriz. Por ejemplo, Rose, Bornhorst y Sivonen¹⁶ demostraron que se pueden determinar 22 elementos en muestras de rocas pulverizadas mediante un espectrómetro comercial de fluorescencia por rayos X y dispersión de energía en alrededor de dos horas (1 hora de tiempo de instrumento), proceso que comprende el molido de la roca y la elaboración de bloques. Las desviaciones estándar relativas del método son mejores que 1% para elementos principales y mejores que 5% para los elementos traza. Los límites de exactitud y de detección determinados por comparación con resultados de muestras patrón de rocas de todo el mundo fueron similares o mejores que otros procedimientos publicados. Un excelente panorama del análisis de fluorescencia por rayos X de materiales geológicos es el trabajo de Anzelmo y Lindsay.¹⁷

Los métodos de rayos X también tienen una gran aplicación en el control de calidad en la fabricación de metales y aleaciones. En este caso, la velocidad del análisis permite corregir la composición de la aleación durante su producción.

Los métodos de fluorescencia de rayos X se adaptan con facilidad a muestras líquidas. Por consiguiente, como ya se mencionó, se han diseñado métodos para la determinación cuantitativa directa de plomo y bromo en muestras de combustible para aviones. De manera similar, se ha determinado calcio, bario y cinc en aceites lubricantes al excitar la fluorescencia en muestras de hidrocarburos líquidos. El método es también adecuado para la determinación directa de pigmentos en muestras de pinturas.

Los métodos de fluorescencia por rayos X se han aplicado ampliamente en el análisis de contaminantes atmosféricos. Por ejemplo, un procedimiento para detectarlos e identificarlos consiste en hacer pasar una muestra de aire a través de un sistema que consta de un filtro con microporos para partículas y tres discos de papel filtro impregnados con ortotoluidina, nitrato de plata e hidróxido de sodio, respectivamente. Los reactivos retienen cloro, sulfuros y dióxido de azufre en

este orden. Los filtros, que contienen los analitos atrapados, constituyen las muestras que se analizan mediante fluorescencia por rayos X.

Como ejemplo de la aplicación rutinaria de la fluorescencia por rayos X y dispersión de energía para determinar los elementos que componen los alimentos, considere las gráficas de datos de la figura 12.15c y 12.15d.¹⁸ En este análisis se encontró hierro, cobre y cinc en el arroz por medio del espectrómetro que se ilustra en la figura 12.15a. El espectrómetro se calibró con nueve muestras patrón de arroz. Los patrones fueron reducidos a polvo fino, con éste se formaron pastillas que se introdujeron en la base giratoria para las muestras. Cada una de ellas se sometió a la radiación de rayos X (ánodo de Rh) a través de un filtro de aluminio durante 5 min, y los datos que se obtuvieron produjeron espectros como el que se muestra en la figura 12.15c. La computadora del instrumento analizó luego los datos y calculó las áreas bajo los diversos picos del espectro como lo muestran las zonas sombreadas de la figura, y obtuvo curvas de calibración similares a la figura 12.15d para cada uno de los analitos. La determinación de los analitos en otra muestra muy bien caracterizada dio los valores de concentraciones de 73.49 ppm, 7.46 ppm y 38.95 ppm para hierro, cobre y cinc, respectivamente. Las exactitudes relativas para los tres elementos fueron 0.9% (Fe), 5% (Cu) y 0.3% (Zn) según se determinó mediante la comparación con valores determinados mediante métodos de espectroscopia óptica.

Otro indicio de la versatilidad de los métodos de fluorescencia por rayos X es su uso en la determinación cuantitativa de elementos más pesados que el sodio en rocas y suelos encontrados cerca del lugar de aterrizaje de la misión *Pathfinder* que se envió a Marte.¹⁹ El microrrobot *Sojourner* del explorador estaba equipado con una cabeza de sensores capaz de colocarse plana sobre el material por analizar. La cabeza contenía curio 244, el cual emitía partículas alfa y rayos X que bombardeaban la superficie de la muestra como en la figura 12.13b. La emisión de rayos X de la muestra chocaba con el transductor de un espectrómetro dispersor de energía en el que se registraba la potencia radiante en función de la energía, y se transmitía esta emisión desde Marte hasta la Tierra, donde, por último, se analizaba. Los elementos más ligeros se determinaron mediante retrodispersión o emisión de protones. Con estos tres métodos de detección, todos los elementos de la tabla periódica, excepto el hidrógeno, se pueden determinar en niveles de concentración de pocas décimas de porcentaje. En 2004, dos nuevos exploradores, *Spirit* y *Opportunity*, con espectróme-

¹⁶ W. I. Rose, T. J. Bornhorst y S. J. Sivonen, *X-ray Spectrometry*, **1986**, 15, p. 55.

¹⁷ J. E. Anzelmo y J. R. Lindsay, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, pp. A181 y A200.

¹⁸ V. Sethi, M. Mizuhira y Y. Xiao, *G.I.T. Laboratory Journal*, **2005**, 6, p. 22.

¹⁹ "Mars Pathfinder", 1997, [http://mars.jpl.nasa.gov/MPF/\(25 de julio de 1997\)](http://mars.jpl.nasa.gov/MPF/(25 de julio de 1997)).

tros de fluorescencia por rayos X a bordo, aterrizaron en Marte.²⁰ Mientras se escribía este libro, los exploradores habían pasado casi dos años recorriendo el planeta y alejándose de sus respectivos lugares de aterrizaje, y los espectrómetros continuaban enviando información a la Tierra para revelar la composición química de las rocas y el suelo de Marte. El espectro que se muestra en la figura 12.14 fue transmitido desde uno de los exploradores a una estación de la Tierra donde se analizaron los datos mediante un algoritmo de regresión, y luego se determinaron las concentraciones de los diversos elementos que constituían la muestra a partir de dichos datos. Los detalles del complicado procedimiento de calibración se explican en el trabajo de Gellert *et al.*²¹

Ventajas y desventajas de los métodos de fluorescencia por rayos X

La fluorescencia de rayos X ofrece extraordinarias ventajas. Los espectros son relativamente sencillos, por lo que la interferencia de líneas espectrales es mínima. En general, el método no es destructivo y, por tanto, puede utilizarse para analizar pinturas, muestras arqueológicas, joyas, monedas y otros objetos de valor sin dañar la muestra. Además, los análisis se pueden llevar a cabo en muestras que van desde partículas apenas visibles hasta objetos enormes. Otras ventajas son la velocidad y la comodidad del procedimiento, que permite realizar un análisis de varios elementos en pocos minutos. Por último, la exactitud y la precisión son iguales o superiores a las de otros métodos.²²

Por lo regular, los métodos de fluorescencia por rayos X no son tan sensibles como los distintos métodos ópticos que se han tratado en capítulos anteriores. En los casos más favorables, se pueden medir concentraciones de pocas partes por millón. Pero lo más frecuente es que el intervalo de concentración del método oscile entre alrededor de 0.01 y 100%. Los métodos de fluorescencia por rayos X no son adecuados para los elementos más ligeros; las dificultades en la detección y en la medición aumentan progresivamente a medida que los números atómicos se hacen menores que 23 (vanadio), debido en parte a un proceso competitivo llamado *emisión Auger* (véase sección 21C.2), que reduce la intensidad de la fluorescencia (véase figura

21.7). El límite inferior de número atómico de los instrumentos comerciales actuales es de 5 (boro) o de 6 (carbono). Otro inconveniente del procedimiento de emisión de rayos X es el elevado costo de los instrumentos, que va de menos de 10 000 dólares para un sistema dispersor de energía con una fuente radiactiva a más de 500 000 dólares para un sistema automático y con computadora que dispersa las longitudes de onda.

12D MÉTODOS DE ABSORCIÓN DE RAYOS X

A diferencia de la espectroscopía óptica, en la que los métodos de absorción tienen gran importancia, las aplicaciones de la absorción de rayos X son limitadas si se las compara con los procedimientos de emisión y de fluorescencia de rayos X. Las mediciones de absorción se puedan efectuar relativamente libres de los efectos de la matriz, pero las técnicas son un poco engorrosas y requieren más tiempo que los métodos de fluorescencia. Por ello, la mayoría de las aplicaciones se restringen a muestras en las que los efectos de la matriz son mínimos.

Los métodos de absorción son parecidos a los procedimientos ópticos de esta naturaleza en los que la atenuación de una banda o una línea de radiación X es la variable analítica. La selección de la longitud de onda se lleva a cabo con un monocromador como el que se muestra en la figura 12.9, o bien, por medio de una técnica de filtración similar a la que se ilustra en la figura 12.8. Otra opción es utilizar la radiación monocromática de una fuente radiactiva.

Debido a la anchura de los picos de absorción de rayos X, los métodos de absorción directa son útiles sólo cuando se requiere determinar un único elemento con un número atómico alto en una matriz que consta sólo de elementos más ligeros. Entre los ejemplos de este tipo de aplicaciones está la determinación del plomo en gasolinas o la de azufre y halógenos en hidrocarburos.

12D.1 Métodos de difracción de rayos X

Desde su descubrimiento en 1912 por Von Laue, la difracción de rayos X ha proporcionado una abundancia de información importante a la ciencia y la industria. Por ejemplo, la mayor parte de los conocimientos sobre la distribución y la separación de los átomos en los materiales cristalinos se han determinado directamente mediante estudios de difracción. Además, tales estudios han ayudado a entender con más claridad las propiedades físicas de los metales, de los materiales poliméricos y de otros sólidos. La difracción de rayos X es uno de los métodos más importantes para identificar las estructuras de productos naturales complejos, como esteroides, vitaminas y antibióticos. Los detalles

²⁰ "Spirit and Opportunity", 2004, <http://mpfwww.jpl.nasa.gov/missions/present/2003.html> (13 de octubre de 2005).

²¹ R. Gellert, R. Rieder, J. Brückner, B. C. Clark, G. Dreibus, G. Klingelhöfer, G. Lugmair, D. W. Ming, H. Wänke, A. Yen, J. Zipfel y S. W. Squyres, *J. Geophys. Res.*, **2006**, *111*, p. E02S05.

²² Véase T. H. Nguyen, J. Boman y M. Leermakers, *X-Ray Spectrometry*, **1998**, *27*, p. 265 para comparar la fluorescencia por rayos X y el plasma acoplado por inducción en el análisis de muestras ambientales.



Clase interactiva: aprenda más acerca de las **aplicaciones de la fluorescencia por rayos X**.

de estas aplicaciones no forman parte de los propósitos de este texto.

La difracción de rayos X también proporciona un medio adecuado y práctico para la identificación cualitativa de compuestos cristalinos. El método analítico de difracción de rayos X de polvo cristalino es el único con la capacidad de proporcionar información cualitativa y cuantitativa acerca de los *compuestos* presentes en una muestra sólida. Por ejemplo, el método de polvo cristalino permite determinar el porcentaje de KBr y NaCl en una mezcla sólida de estos dos compuestos. Otros métodos analíticos proporcionan sólo los porcentajes de K^+ , Na^+ , Br^- y Cl^- en la muestra.²³

Puesto que cada sustancia cristalina presenta un patrón de difracción único, los métodos de rayos X de polvo cristalino son los adecuados para la identificación cualitativa. Por tanto, si se encuentra una perfecta correspondencia entre el patrón de una muestra incógnita y el de una muestra confiable, se puede asegurar la identidad de la sustancia.

12D.2 Identificación de compuestos cristalinos

Preparación de la muestra

Para los estudios analíticos de difracción, la muestra cristalina se muele hasta obtener un polvo fino homogéneo. Ya en polvo, los numerosos cristallitos están orientados en todas las direcciones posibles y, por tanto, cuando un haz de rayos X los atraviesa, se puede esperar que una cantidad importante de partículas esté orientada de tal manera que cumpla la condición de Bragg de la reflexión desde todas las posiciones interplanares posibles.

Por lo regular, las muestras se colocan en el portamuestras, que contiene una cavidad en donde se acomoda la muestra. Estos recipientes están hechos de aluminio, bronce, Bakelita, vidrio o Lucita. La muestra se introduce desde un lado o desde atrás. Se coloca una superficie de vidrio esmerilado, cerámica o cartón en el frente, y la muestra se introduce con cuidado por el lado abierto o por la parte de atrás. También se puede cargar la muestra por arriba cuando son montajes especiales conocidos como montaje de fondo cero. Otra posibilidad es mezclar un espécimen con un aglutinante no cristalino adecuado y darle una forma apropiada.

Difractómetros automáticos

Por lo regular, los diagramas de difracción se obtienen con la ayuda de instrumentos automatizados de diseño similar al que se muestra en la figura 12.9. En este instrumento, la fuente es un tubo de rayos X con filtros adecuados. La muestra pulverizada reemplaza al mo-

nocristal en el recipiente. En algunos casos, el portamuestras puede girar con el objetivo de aumentar la aleatoriedad en la orientación de los cristales. El diagrama de difracción se registra luego mediante un barrido automático de la misma manera que se obtiene un espectro de emisión o de absorción. Los instrumentos de este tipo tienen la ventaja de ser muy precisos en las mediciones de intensidad y en la reducción automática de los datos y la generación del informe.

Registro fotográfico

El método clásico fotográfico para registrar los diagramas de difracción de polvo cristalino todavía se usa, en particular cuando la cantidad de muestra es pequeña. El instrumento más común para esta finalidad es la cámara de polvo cristalino de *Debye-Scherrer* cuyo esquema se muestra en la figura 12.17a. En este caso, el haz procedente de un tubo de rayos X se filtra para hacerlo casi monocromático, a menudo la línea $K\alpha$ del cobre o del molibdeno, el cual es colimado al pasar a través de un tubo estrecho.

En la figura 12.8 se muestra cómo se puede usar un filtro para producir un haz relativamente monocromático. Observe que la línea $K\beta$ y la mayor parte del continuo desde el blanco de Mo son eliminados por medio de un filtro de circonio cuyo espesor es de casi 0.01 cm. La línea $K\alpha$ pura está disponible para la difracción. Se han perfeccionado varias otras combinaciones de blanco/filtro para aislar una de las líneas intensas del material blanco.

La radiación no difractada T sale de la cámara por medio de un tubo estrecho de salida que se ve en la figura 12.17a. La cámara es cilíndrica y puede llevar una tira de película alrededor de toda la parte interior de la pared. El diámetro interior del cilindro es casi siempre de 5.73 u 11.46 cm, de manera que cada milímetro lineal de película equivale a 1.0° o 0.5° de θ , respectivamente. La muestra se coloca en el centro del haz mediante un soporte ajustable.

En la figura 12.17b se muestra el aspecto de la película expuesta y revelada; cada una de las líneas D_1 , D_2 , etcétera, representa la difracción desde un conjunto de planos del cristal. El ángulo θ de Bragg para cada línea se determina con facilidad a partir de la geometría de la cámara.

12D.3 Interpretación de los diagramas de difracción

La identificación de especies a partir de su diagrama de difracción de polvo cristalino se basa en la posición de las líneas (en términos de θ o 2θ), y en sus intensidades relativas. El ángulo de difracción 2θ se determina por la separación entre un grupo particular de planos; con la ayuda de la ecuación de Bragg, la

²³ Un estudio más minucioso acerca del método de difracción de rayos X de polvo cristalino se encuentra en R. Jenkins y R. Snyder, *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*, Nueva York: Wiley, 1996.

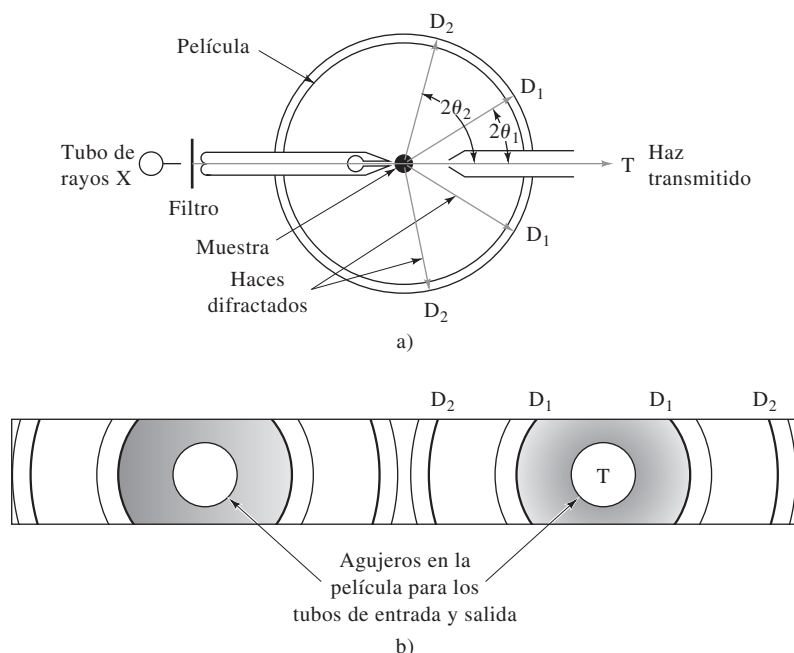


FIGURA 12.17 Esquema de a) cámara Debye-Scherrer para polvo; b) tira de película después del revelado. D_2 , D_1 y T indican las posiciones de la película en la cámara.

distancia d se calcula a partir de una longitud de onda conocida de la fuente y del ángulo medido. Las intensidades de la línea dependen del número y del tipo de centros atómicos de reflexión que existen en cada grupo de planos.

La identificación de los cristales se hace de manera empírica. El Centro Internacional para Datos de Difracción en Newtown Square, Pennsylvania, dispone de una base de datos sobre difracción de polvos cristalinos. Hasta 2005 este archivo contenía diagramas de difracción de polvo cristalino de más de 477 000 materiales de referencia. Debido a que su tamaño ya es tan grande, se subdividió en subarchivos que contienen listas de compuestos inorgánicos, orgánicos, minerales, metales, aleaciones, muestras forenses y otros. Las bases de datos que resultaron de la división están disponibles en CD-ROM, y hay programas para localizar las bases de datos mediante la combinación de varios criterios de búsqueda. Cada registro de la base de datos contiene información abundante respecto a las sustancias y los materiales, que incluye nombre, fórmula (si es adecuado), composición, color, intensidades de línea, punto de fusión, clasificación mineralógica, densidad y una enorme cantidad de otras características, así como información bibliográfica. Se dispone de una variedad de modos de presentación, por lo que se pueden ver e imprimir gráficas y otras imágenes importantes.²⁴

Si la muestra contiene dos o más compuestos cristalinos, la identificación se hace más difícil. En este caso,

se utilizan varias combinaciones de las líneas más intensas hasta encontrar una coincidencia. La búsqueda y la correspondencia de datos mediante computadora facilitan mucho la tarea.

Una aplicación muy importante es la determinación del porcentaje de cristalinidad de los materiales. En el análisis de materiales poliméricos y fibrosos es importante desde hace mucho tiempo determinar la relación entre material cristalino y amorfo, por lo que los métodos de rayos X de polvo cristalino tienen una ventaja única en este aspecto. En el campo farmacéutico, el grado de cristalinidad influye en la estabilidad a largo plazo de una formulación, así como en su bioactividad. Los métodos de difracción de rayos X se aplican cada vez más en los productos farmacéuticos.

Los materiales cristalinos producen picos de difracción muy bien definidos cuyas anchuras se relacionan con la “calidad” de la cristalinidad. Los materiales de alta calidad producen picos nítidos, y los de calidad inferior generan picos de difracción más difusos. Las fases amorfas vienen en diferentes formas, lo que depende de cómo se formaron. Una fase vítrea produce una señal de difracción que es la distribución radial de las interacciones del vecino más cercano. Por lo regular, una fase amorfa derivada de una fase cristalina corresponde a una mala calidad, es decir, es un material paracristalino. Tanto los especímenes vítreos como los paracristalinos producen un halo de baja frecuencia, el cual puede parecerse a un fondo amplio.

Una técnica para determinar la relación entre material cristalino y amorfo es usar métodos de análisis cuantitativos ordinarios. Se escogen los picos de difracción de rayos X no traslapados para la fase que se quie-

²⁴ Si desea mayor información acerca de la base de datos de la difracción de polvo cristalino consulte <http://www.icdd.com/>

re analizar. En el análisis cuantitativo se usa la altura del pico o el área del pico. Luego se utilizan los patrones de concentración conocida para elaborar una curva de concentración.

En el método de Vainshtein la fase amorfa se utiliza como un factor de normalización para las intensidades integradas de los picos cristalinos.²⁵ Esto elimina los efectos de la preparación de la muestra y la deriva de los instrumentos. El análisis se apoya en la *ley de Vainshtein*, que establece que la intensidad difractada de un material es independiente de su estado u orden dentro de regiones idénticas de espacio recíproco. Para aplicar la ley se usa un solo patrón cuyo porcentaje de cristalinidad sea conocido para establecer la razón de normalización entre los picos cristalinos integrados y el “fondo” amorfo. Luego, se efectúan las mismas mediciones en el espécimen de cristalinidad desconocida. El porcentaje de cristalinidad de la incógnita se determina entonces mediante

$$\%C_u = \%C_{\text{std}} \left[\frac{(C/A)_u}{(C/A)_{\text{std}}} \right] \quad (12.8)$$

²⁵B. K. Vainshtein (1921–1996) fue un importante especialista ruso en cristalografía de rayos X. Su monografía *Diffraction of X-rays by Chain Molecules* (Amsterdam: Elsevier, 1966) desempeñó un papel importante en el avance de los estudios estructurales de los polímeros.

donde $\%C_u$ y $\%C_{\text{std}}$ son los porcentajes de cristalinidad del material desconocido y del patrón, respectivamente, y C/A es la relación entre la intensidad integrada de la fase cristalina C y el fondo amorfo A .

Otra opción es aplicar los métodos de la transformada de Fourier para dividir el espectro de potencia en regiones de baja y alta frecuencia. La fase amorfa se relaciona con la región de baja frecuencia y la fase cristalina se relaciona con la región de alta frecuencia. Después de filtrar la región indeseable, con la transformada inversa se obtiene la intensidad amorfa y la intensidad cristalina. Los patrones se usan para determinar la anchura y la frecuencia de los filtros.

12E MICROSONDA DE ELECTRONES

Un método importante para determinar los elementos químicos de las superficies se basa en la *microsonda de electrones*. En esta técnica, la emisión de rayos X procedente de los elementos de la superficie de una muestra se estimula mediante un haz de electrones muy angosto. La emisión de rayos X resultante se detecta y analiza con un espectrómetro que disperse las longitudes de onda o la energía. El proceso se trata con detalle en la sección 21F.1.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contengan este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- *12.1 ¿Cuál es el límite de la longitud de onda corta del espectro continuo producido por un tubo de rayos X que tiene un blanco de plata y funciona a 90 kV?
- *12.2 ¿Cuál es el voltaje mínimo necesario para excitar las series $K\beta$ y $L\beta$ de las líneas para a) U, b) K, c) Rb, d) W?
-  12.3 Las líneas $K\alpha_1$ para Ca, Zn, Zr y Sn tienen longitudes de onda de 3.36, 1.44, 0.79, y 0.49 Å, respectivamente. Calcule una longitud de onda aproximada para las líneas $K\alpha$ de a) V, b) Ni, c) Se, d) Br, e) Cd, f) Sb.
-  12.4 Las líneas $L\alpha$ para Ca, Zn, Zr y Sn tienen longitudes de onda de 36.3, 11.9, 6.07, y 3.60 Å, respectivamente. Determine las longitudes de onda para las líneas $L\alpha$ para los elementos enumerados en el problema 12.3.
- *12.5 El coeficiente de absorción de masa para Ni medido con la línea $K\alpha$ del Cu es 49.2 cm²/g. Calcule el espesor de una lámina de níquel que, según se determinó, transmitía 47.8% de la potencia incidente de un haz de radiación $K\alpha$ de Cu. La densidad del Ni es 8.90 g/cm³.
- *12.6 Para la radiación $K\alpha$ del Mo (0.711 Å), los coeficientes de absorción de masa para K, I, H y O son 16.7, 39.2, 0.0 y 1.50 cm²/g, respectivamente.
 - a) Calcule el coeficiente de absorción de masa de una solución preparada al mezclar 11.00 g de KI con 89.00 g de agua.

b) La densidad de la solución descrita en a) es 1.086 g/cm^3 . ¿Qué fracción de la radiación procedente de una fuente $K\alpha$ de Mo sería transmitida por una capa de 0.60 cm de la solución?

*12.7 Se utilizará aluminio como ventana de una celda para medir la absorción de rayos X con la línea $K\alpha$ de Ag. El coeficiente de absorción de masa del aluminio a esta longitud de onda es 2.74 ; su densidad es 2.70 g/cm^3 . ¿Cuál es el espesor máximo de la lámina de aluminio que se podría utilizar en la fabricación de ventanas de forma que no absorban más de 3.5% de la radiación?

*12.8 La densidad de una disolución de I_2 en etanol es de 0.794 g/cm^3 . Se encontró que una capa de 1.50 cm transmitía 27.3% de la radiación procedente de una fuente $K\alpha$ de Mo. Los coeficientes de absorción de masa para I, C, H y O son 39.2 , 0.70 , 0.00 y 1.50 , respectivamente.

a) Calcule el porcentaje de I_2 presente sin considerar la absorción por el alcohol.

b) Corrija los resultados del inciso a) tomando en cuenta la presencia de alcohol.

*12.9 Determine la posición del goniómetro, en términos de 2θ , requerida para observar las líneas $K\alpha_1$ para Fe ($1.76 \text{ \AA}$), Se ($0.992 \text{ \AA}$) y Ag ($0.497 \text{ \AA}$) cuando el cristal difractante es a) topacio; b) LiF; c) NaCl.

12.10 Calcule la posición del goniómetro, en términos de 2θ , requerida para observar las líneas $L\beta_1$ del Br a $8.126 \text{ \AA}$ cuando el cristal difractante es

a) *d*-tartrato de etilendiamina.

b) Fosfato diácido de amonio.

*12.11 Establezca el voltaje mínimo necesario en el tubo para excitar las siguientes líneas. Los números entre paréntesis son las longitudes de onda en $\text{\AA}$ para los correspondientes bordes de absorción.

a) Líneas K del Ca (3.064)

b) Líneas $L\alpha$ del As (9.370)

c) Líneas $L\beta$ del U (0.592)

d) Líneas K del Mg (0.496)



12.12 Se encontró manganeso en muestras de interés geológico mediante fluorescencia por rayos X utilizando bario como patrón interno. La intensidad de la fluorescencia de líneas aisladas para cada elemento proporcionó la información siguiente:

Mn % Peso	Ba	Mn
0.00	156	80
0.10	160	106
0.20	159	129
0.30	160	154
0.40	151	167

¿Cuál es el porcentaje en peso de manganeso en una muestra que tiene una relación de conteos Mn/Ba de 0.735 ?

Problema de reto



12.13 Como se mencionó en la sección 12C.3, el espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa ha sido un experimento importante que viajó a bordo de todos los vehículos para explorar Marte. Los artículos publicados ofrecen detalles de los experimentos efectuados con estos espectrómetros en las misiones recientes de 2004, y comparan las estrategias de instrumentación y de medición con las de la misión Pathfinder de 1997.²⁶

²⁶S. W. Squyres *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2003**, *108*, p. 8062; R. Rieder *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2003**, *108*, p. 8066; J. Brückner *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2003**, *108*, p. 8094; R. Gellert *et al.*, *Science*, **2004**, *305*, p. 829; H. Y. McSween *et al.*, *Science*, **2004**, *305*, p. 842; S. W. Squyres *et al.*, *Science*, **2004**, *306*, p. 1709; L. A. Soderblom *et al.*, *Science*, **2004**, *306*, p. 1723; G. Klingelhofer *et al.*, *Science*, **2004**, *306*, p. 1740; R. Rieder *et al.*, *Science*, **2004**, *306*, p. 1746; A. Banin, *Science*, **2005**, *309*, p. 888.

- a) Consulte los artículos citados y describa la construcción y operación de la cabeza de detectores que llevaban los exploradores *Spirit* y *Opportunity*. Ilustre su respuesta con diagramas básicos de los componentes de los instrumentos y describa la función de cada uno de ellos.
- b) ¿Qué determina la selectividad y la sensibilidad del sistema del espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa?
- c) ¿Qué elementos no se pueden detectar mediante este tipo de espectrómetro? ¿Por qué no?
- d) Proporcione las características de la composición general de los elementos de todos los sitios de aterrizaje en Marte. ¿Cuáles son las similitudes y diferencias entre los sitios? ¿Qué explicación dan estos investigadores y otros en cuanto a las similitudes?
- e) ¿De qué manera las mediciones con este espectrómetro fueron limitadas por el tiempo en el día marciano cuando los experimentos fueron terminados? Explique la causa de estas limitaciones. ¿Cómo y por qué fueron finalizados los experimentos con el espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa?
- f) ¿Qué efecto tuvo la temperatura en los resultados del modo de rayos X de los experimentos con el espectrómetro de rayos X? ¿En qué se relaciona este efecto con su análisis del inciso e)?
- g) Los experimentos con este espectrómetro se utilizaron para comparar la composición de la superficie con la composición del interior. ¿Cómo se hizo? ¿Qué diferencias se encontraron? ¿Qué explicación se dio a las diferencias?
- h) El fraccionamiento de los halógenos fue evidente en las muestras de roca marcianas. ¿Qué explicación tiene este fenómeno?
- i) Dé las características de la precisión y exactitud globales de los experimentos con el espectrómetro. El equipo que trabajó con el espectrómetro puntualizó que “la exactitud está determinada principalmente por la precisión”. Explique qué quieren decir con esta aseveración. ¿En qué circunstancias es válida?
- j) Explique con detalles el procedimiento de calibración en el caso de los experimentos con el espectrómetro. ¿Qué patrones de calibración se usaron en Marte y dónde estaban ubicados? ¿De qué manera se extrajeron los picos de cada elemento del espectro de rayos X?
- k) En la figura 12.18 se muestra una gráfica de datos de calibración corregidos para el Fe procedentes de los experimentos efectuados con el espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa. Observe que hay incertidumbres tanto en los datos de x como de y . Los datos de la gráfica se tabulan en la tabla que sigue. Ejecute un análisis normal de mínimos cuadrados de los datos con ayuda de Excel. Determine la pendiente, la ordenada al origen, el coeficiente de correlación y la desviación estándar respecto a la regresión.

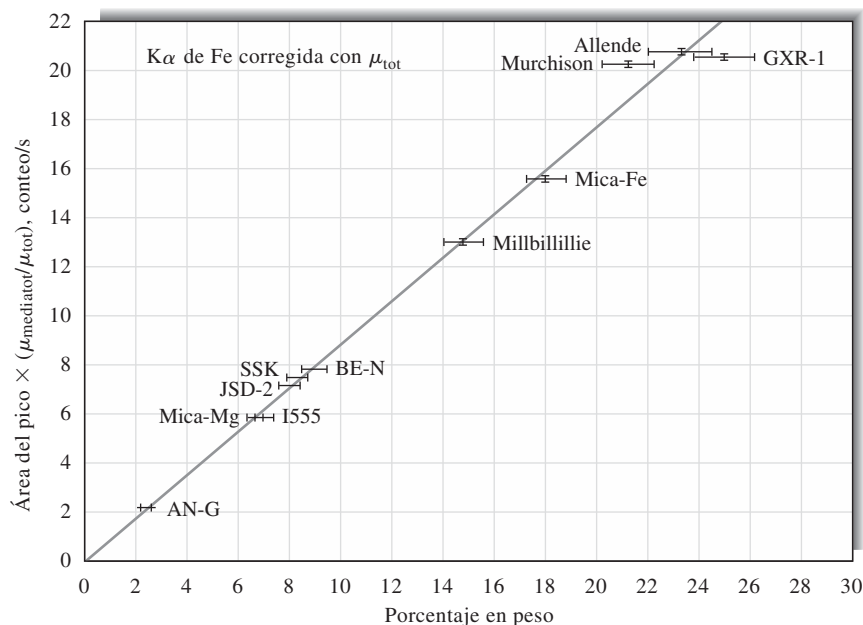


FIGURA 12.18 Curva de calibración del espectrómetro de rayos X de protones y partículas alfa para Fe corregida para el coeficiente de atenuación. (Tomado de R. Rieder *et al.*, *J. Geophys. Res.*, **2003**, 108, p. 8066, con autorización.)

Área del pico	σ	% de la masa	σ
2.36	0.28	2.12	0.13
7.04	0.54	5.75	0.13
6.68	0.54	5.85	0.13
8.01	0.39	7.14	0.10
8.42	0.44	7.45	0.13
9.04	0.44	7.87	0.10
14.74	0.74	13.20	0.10
17.93	0.90	15.58	0.18
21.27	1.05	20.24	0.21
23.22	1.18	20.71	0.23
25.02	1.26	20.55	0.18

- 1) Efectúe un análisis de mínimos cuadrados ponderado de los datos aplicando un procedimiento similar al que se describió en el problema 10.14 que considera incertidumbres tanto en x como en y . Compare sus resultados con los que obtuvo en k).

Control de mercurio

El mercurio es un elemento muy importante en el ambiente, los alimentos y los procesos ambientales. Los daños a la salud relacionadas con el mercurio han sido muchas desde el caso más conocido, el del desastre de la Bahía de Minamata en Japón en 1956. Minamata es una pequeña población industrial en las costas del Mar Shiranui. La principal compañía industrial en Minamata, la Corporación Chisso tiró algo así como 37 toneladas de compuestos que contenían mercurio en la bahía desde 1932 hasta 1968. El resultado fue que miles de residentes locales, cuya dieta normal incluía pescado de la bahía manifestaron síntomas de envenenamiento con metilmercurio. La enfermedad se hizo conocida con el nombre de enfermedad de Minamata. Desde entonces, se recomienda no comer pescados ni mariscos de los que se sabe contienen altas concentraciones de mercurio. Las recomendaciones más recientes de la *Environmental Protection Agency* (EPA) y de la *Food and Drug Administration* de Estados Unidos señalan que mujeres en edad fértil y niños pequeños no deben comer tiburón, pez espada, caballa ni lololátilo. Estas dependencias gubernamentales también advierten a mujeres y niños pequeños que no coman más de 350 gramos a la semana de pescados o mariscos que contengan concentraciones bajas de mercurio, como camarones, atún en lata, salmón, gado y bagre. Hay recomendaciones más rigurosas respecto a peces de ciertos lagos, ríos y zonas costeras.

Fuentes de mercurio

El mercurio es un elemento que se encuentra en la naturaleza, pero la contaminación industrial es una de las fuentes principales del mercurio que hay en el ambiente. La contaminación tiene varios orígenes, como las plantas generadoras de energía eléctrica que queman carbón mineral, refinerías, escurrimientos de fábricas y desechos que tiran las industrias. El mercurio también entra en el ambiente desde otras fuentes, como los gases del escape de los automóviles, plantas de tratamiento de aguas negras, instalaciones médicas y dentales, y escurrimientos de agua provenientes de las minas de oro y de mercurio. La *Clean Air Act* (Ley de aire limpio), sancionada en 1970 en Estados Unidos, señalaba las concentraciones máximas de contaminación en el aire, sin olvidar el mercurio. De igual manera, la EPA estableció normas sobre la calidad del agua respecto a las concentraciones máximas de mercurio tanto en sistemas de agua dulce como salada.¹ La *Clean Air Act* requiere que cada uno de los estados logre concentraciones seguras de contaminantes como el mercurio.

El mercurio del aire o de los manantiales se acumula en los arroyos y en los lagos. Las bacterias que están en el agua transforman el mercurio en metilmercurio, el cual absorben con rapidez los insectos y otros organismos acuáticos. Los compuestos que contienen mercurio avanzan con rapidez

en la cadena alimentaria cuando los peces pequeños comen pequeños organismos y los peces grandes se comen a los peces pequeños. Las concentraciones de mercurio están determinadas por el tiempo que vive el pez y sus hábitos de alimentación. Las concentraciones más elevadas se encuentran en los peces más grandes, como el pez espada y los tiburones.

Los desafíos a los que se enfrenta la química analítica

Las determinaciones exactas y confiables de mercurio son decisivas debido a su importancia en el ambiente. Aunque la determinación de las diversas formas que toma el mercurio en el ambiente es interesante, las reglamentaciones actuales se enfocan en las mediciones del mercurio total, lo cual es un desafío. Éste surge porque en las muestras complejas ambientales el mercurio está presente en cantidades muy pequeñas. La EPA estableció una concentración de 12 partes por mil millones (ppmm) como el valor máximo en los ecosistemas de agua dulce y 25 ppmm en el agua salobre. La regla *National Toxics* de la EPA² recomienda que la concentración segura de mercurio sea de tan sólo 1.3 partes por billón (ppb). A menudo, las concentraciones menores que esta norma representan el total de mercurio disuelto (formas inorgánicas más formas orgánicas) en el agua de mar. Las aguas superficiales de algunas partes del mar contienen concentraciones inferiores a 0.05 ppb, y las capas intermedias del agua contienen hasta 2 ppb. Estas bajas concentraciones pueden estar cerca o por debajo de los límites de detección de muchas técnicas analíticas. En los sistemas de agua dulce se han determinado concentraciones mucho más altas. Por ejemplo, en algunos lagos de California se midieron valores de 0.5 a 100 ppb. En cualquier caso, detectar estas concentraciones que están más allá de lo que se considera como trazas es un desafío para los químicos analíticos.

Métodos tradicionales para determinar mercurio

Las concentraciones de interés para cumplir con las reglamentaciones en Estados Unidos y el Reino Unido están en el orden de partes por mil millones y más abajo. Pero los métodos analíticos ordinarios, como la absorción atómica de llama, la emisión atómica con plasma acoplado por inducción y la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción no pueden alcanzar los límites de detección de partes por billón porque el uso de nebulizadores para transferir muestras al atomizador es muy deficiente (a menudo, se transfiere sólo 2% o menos de la muestra).³

La absorción atómica con vapor frío (véase sección 9A.3) alcanza algunas veces límites de detección de fraccio-

² <http://www.epa.gov/mercury/report.htm>.

³ "Monitoring the Mercury Menace", P. Stockwell, *Today's Chemist at Work*, p. 27, noviembre de 2003; <http://pubs.acs.org/subscribe/journals/tcaw/12/i11/pdf/1103instruments.pdf>.

¹ *Quality Criteria for Water*, EPA 440/5-86-001, US Environmental Protection Agency, Office of Water Regulation and Standards, 1986.

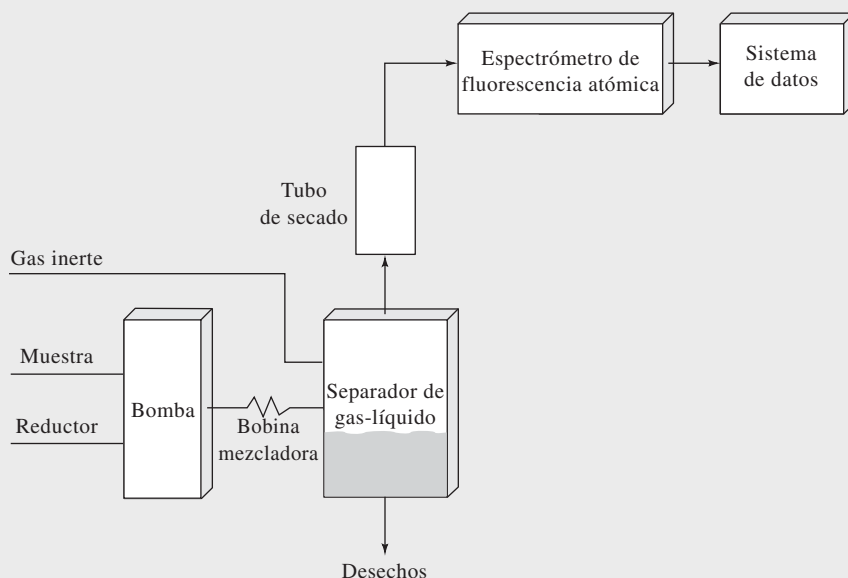


FIGURA IA2.1 Sistema de fluorescencia atómica con vapor frío para determinación de ultratrazas de mercurio.

nes de partes por mil millones. En el método más sensible de absorción atómica con vapor frío de la EPA, la muestra es digerida con una disolución de permanganato-persulfato, la cual oxida todas las formas de mercurio a Hg(II) . Luego se utiliza el cloruro de estaño (SnCl_2) para reducir el Hg(II) al elemento mercurio, el cual es barrido hacia la celda de observación del espectrómetro de absorción atómica mediante un flujo de gas inerte. El método 245.1 de la EPA puede alcanzar una sensibilidad de menos de una parte por mil millones, pero proporciona respuestas no lineales. El método de EPA 7474 requiere un procedimiento de digestión con microondas y tiene un intervalo de una parte en mil millones a varias partes por millón.

Métodos de fluorescencia atómica

Debido a que los requisitos reglamentarios se han vuelto más rigurosos, es necesario contar con un método más sensible para detectar mercurio. La espectrometría de fluorescencia atómica (véase sección 9E) puede alcanzar los límites de detección requeridos cuando se combina con las técnicas del vapor frío recientemente perfeccionadas. Varias compañías que fabrican instrumentos comercializan ahora analizadores de mercurio que se basan en la espectrometría de fluorescencia atómica. Junto con las mejoras en los espectrómetros de fluorescencia atómica comerciales para controlar el mercurio han avanzado las técnicas de generación de vapor basadas en la técnica de separación gas-líquido. Con estos sistemas se introduce 100% de la muestra en la celda de observación del espectrómetro. También se elimina la dispersión de la luz por el vapor de agua.

En la figura IA2.1 se presenta un diagrama de bloques de un instrumento de fluorescencia atómica de vapor frío para determinar mercurio. En este caso, la muestra predigerida y oxidada se mezcla con SnCl_2 u otro reductor apropiado para generar mercurio. Luego se usa un separador

gas-líquido para separar los reactivos líquidos del vapor de mercurio, el cual es transferido a la celda de observación por medio de un flujo de gas inerte. Una lámpara de vapor de mercurio de alta intensidad excita la fluorescencia atómica.

El método 245.7 de la EPA aplica un sistema similar al de la figura IA2.1 para detectar mercurio.⁴ En algunos sistemas comerciales, el paso digestión-oxidación es también automático. La digestión se efectúa mediante una mezcla de HCl , Br^- y BrO_3^- . El método logra una detección de 0.1 a 0.2 partes por billón.

El método 1631⁵ de la EPA requiere oxidación y luego un método de purga-trampa y fluorescencia atómica de vapor frío. Se concentra de manera previa el mercurio por amalgamación en una trampa de arena cubierta con oro. Un instrumento comercial usa un sistema de detección de fluorescencia atómica y afirma poder detectar <0.05 ppb a ~ 250 ppm. Este método es muy útil para una diversidad de tipos de muestras que varían desde agua de mar hasta aguas negras.

Conclusiones

Las mediciones de mercurio a escala más allá de las trazas, que demandaban los reglamentos actuales, son posibles mediante la espectrometría de fluorescencia atómica. Sin embargo, se debe tener mucho cuidado para asegurar una alta confiabilidad. Librarse del mercurio cuando se encuentran altas concentraciones de él en el ambiente es otro problema.

⁴Mercury in Water by Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry, EPA-821-R-01-008, US Environmental Protection Agency, Office of Water, 2001; http://h2o.enr.state.nc.us/lab/qa/epamethods/245_7.pdf.

⁵Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry, Method 1631, Revision E, EPA-821-R-02-019, US Environmental Protection Agency Office of Water, 2002; <http://www.epa.gov/waterscience/methods/1631.html>.



En la fotografía se muestra un espectrómetro Raman portátil diseñado específicamente para medicina forense, defensa civil, seguridad nacional y otras aplicaciones en las que se podrían hallar líquidos o sólidos sospechosos. La unidad consta de un espectrógrafo Littrow, un detector con dispositivos de acoplamiento de carga y una sonda de fibra óptica para excitar y recolectar. La espectroscopía Raman es el tema del capítulo 18. (InPhotonics, Inc.)

La sección 3 inicia con una introducción a la teoría y la práctica de la espectrometría ultravioleta (UV), visible y del infrarrojo cercano en el capítulo 13, y siguen aplicaciones de estas regiones del espectro en el capítulo 14. En el capítulo 15 se explica la espectrometría molecular por luminiscencia y se estudian técnicas de medición entre las que están la fluorescencia, la fosforescencia y la quimioluminiscencia. La espectroscopía de vibraciones se estudia en tres capítulos. En el capítulo 16 se trata la teoría e instrumentación de la espectrometría infrarroja; en el 17 se presentan aplicaciones en las regiones del infrarrojo cercano, infrarrojo medio e infrarrojo lejano del espectro, y en el capítulo 18 se estudia la espectroscopía Raman y sus aplicaciones. La espectrometría por resonancia magnética nuclear se analiza en el capítulo 19. La espectrometría de masa molecular se explora en el capítulo 20. El capítulo 21 trata sobre las técnicas analíticas de superficie, como espectroscopía de electrones, espectrometría de masas de ion secundario, microscopía de barrido por electrones y microscopía de barrido por sonda. La sección de “Análisis instrumental en acción” trata sobre el uso de varias herramientas analíticas espectroscópicas como los métodos analíticos de superficie en un esfuerzo para determinar la autenticidad del mapa de Vinland, supuestamente de la época medieval.

SECCIÓN TRES

Espectroscopía molecular

- 13 Introducción a la espectrometría por absorción molecular ultravioleta y visible
- 14 Aplicaciones de la espectrometría por absorción molecular ultravioleta y visible
- 15 Espectrometría molecular por luminiscencia
- 16 Introducción a la espectrometría infrarroja
- 17 Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo
- 18 Espectroscopía Raman
- 19 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear
- 20 Espectrometría de masa molecular
- 21 Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía

Análisis instrumental en acción
Evaluación de la autenticidad del mapa de Vinland: los análisis de las superficies al servicio de la historia, el arte y las ciencias forenses.

Introducción a la espectrometría por absorción molecular ultravioleta y visible

La espectroscopía por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible del espectro se usa ampliamente en la determinación cuantitativa de una gran cantidad de especies inorgánicas, orgánicas y biológicas. En este capítulo se presentan los conceptos básicos de la espectroscopía por absorción molecular que se apoyan en la radiación electromagnética de la región de longitudes de onda de 19 a 800 nm. Muchos de estos conceptos son aplicables a las medidas espectroscópicas en otras regiones espectrales, como la región infrarroja.

La espectroscopía por absorción molecular¹ se basa en la medición de la transmitancia T o de la absorbancia A de soluciones que están en celdas transparentes que tienen una longitud de trayectoria de b cm. Normalmente, la concentración de un analito absorbente se relaciona en forma lineal con la absorbancia según la ley de Beer:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (13.1)$$

Todas las variables de esta ecuación se definen en la tabla 13.1.

13A MEDICIÓN DE LA TRANSMITANCIA Y LA ABSORBANCIA

Por lo regular, la transmitancia y la absorbancia, como se definen en la tabla 13.1, no pueden medirse en el laboratorio porque la solución del analito debe estar en un recipiente o cubeta transparente. Como se muestra en la figura 13.1, la reflexión se presenta en las dos interfases aire/pared del recipiente y en las dos interfases pared/solución. La atenuación del haz resultante es importante, como se demuestra en el ejemplo 6.2, en el que se muestra que alrededor de 8.5% de un haz de luz amarilla se pierde por reflexión en su paso a través de un recipiente de vidrio lleno de agua. Además, la atenuación del haz puede ocurrir como consecuencia de la dispersión causada por moléculas grandes y, a veces, porque lo absorben las paredes del recipiente. Para compensar todos estos efectos, la potencia del haz transmitido por la solución del analito se compara con la potencia del haz transmitido por una celda idéntica que contiene sólo solvente. Entonces, la transmitancia y absorbancia experimentales que se aproximan de manera notable a la transmitancia y absorbancia verdaderas se obtienen mediante las siguientes ecuaciones

$$T = \frac{P_{\text{solución}}}{P_{\text{solvente}}} \approx \frac{P}{P_0} \quad (13.2)$$

$$A = \log \frac{P_{\text{solvente}}}{P_{\text{solución}}} \approx \log \frac{P_0}{P} \quad (13.3)$$

Los términos P_0 y P , según se utilizan en el resto del libro, se refieren a la potencia de la radiación después de

¹Para más información véase F. Settle, ed., *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997, secciones III y IV; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988; E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., parte I, vol., 7, caps. 1-3, P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, eds., Nueva York, NY: Wiley, 1981; J. E. Crooks, *The Spectrum in Chemistry*, Nueva York: Academic Press, 1978.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio de la red <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

TABLA 13.1 Términos y símbolos importantes que se utilizan en las mediciones de absorción.

Término y símbolo*	Definición	Nombre y símbolo alternativos
Potencia radiante incidente, P_0	Potencia radiante en watts que incide en la muestra	Intensidad incidente, I_0
Potencia radiante transmitida, P	Potencia radiante que transmite la muestra	Intensidad transmitida, I
Absorbancia, A	$\log(P_0/P)$	Densidad óptica, D ; extinción, E
Transmitancia, T	P/P_0	Transmisión, T
Longitud de trayectoria de la muestra, b	Longitud sobre la que ocurre la atenuación	l, d
Concentración del absorbente, c	Concentración en unidades especificadas	
Absortividad, [†] a	$A/(bc)$	Coefficiente de extinción, k
Absortividad molar, [‡] ϵ	$A/(bc)$	Coefficiente de extinción molar

*Terminología recomendada por la American Chemical Society (*Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 91).

[†] c podría expresarse en gramos por litro o en otras unidades de concentración especificadas; b se podría expresar en centímetros o en otras unidades de longitud.

[‡] c se expresa en moles por litro; b se expresa en centímetros.

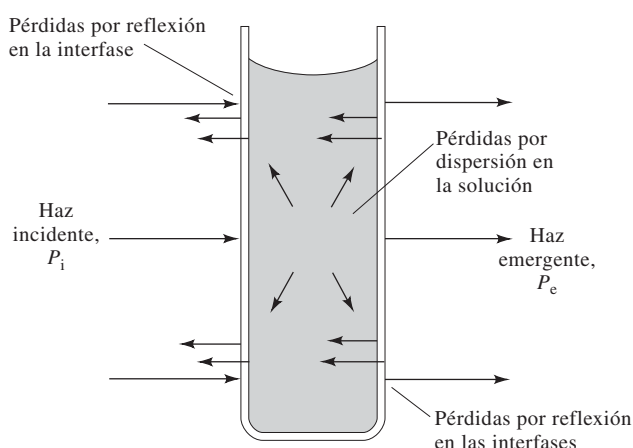


FIGURA 13.1 Pérdidas por reflexión y dispersión con una solución que está en un recipiente típico de vidrio. Las pérdidas por reflexión se presentan en todos los límites que separan los diversos materiales. En este ejemplo, la luz atraviesa las superficies de contacto aire-vidrio, vidrio-solución, solución-vidrio y vidrio-aire.

pasar a través de celdas o cubetas que contienen al solvente y a las soluciones del analito, respectivamente.

13B LEY DE BEER

La ecuación 13.1 representa la *ley de Beer*. El razonamiento de esta relación es el siguiente.² Considere el bloque de material absorbente (sólido, líquido o gas) que se muestra en la figura 13.2. Un haz de radiación

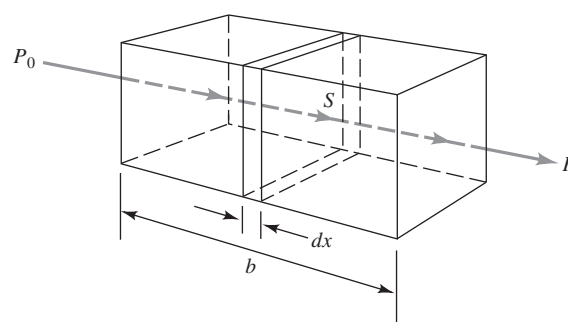


FIGURA 13.2 La radiación de la potencia radiante inicial P_0 es atenuada y se transforma en energía transmitida P mediante una solución que contiene c moles por litro de solución absorbente con una longitud de trayectoria de b centímetros.

monocromático paralelo de potencia P_0 choca de forma perpendicular contra la superficie del bloque. Después de atravesar una longitud b de material, que contiene n átomos, iones o moléculas absorbentes, su potencia disminuye hasta un valor P como resultado de la absorción. Considere ahora una sección transversal del bloque con área S y espesor infinitesimal dx . Esta sección contiene dn partículas absorbentes; es posible imaginar, asociada con cada partícula, una superficie en la cual tendrá lugar la captura del fotón. Es decir, si un fotón alcanza por casualidad una de estas áreas, de inmediato tendrá lugar la absorción. El área total proyectada de estas superficies de captura dentro de la sección se designa como dS ; la relación entre el área de captura y el área total es entonces dS/S . En un promedio estadístico, esta relación representa la probabilidad de capturar fotones dentro de la sección.

La potencia del haz que entra en la sección, P_x , es proporcional al número de fotones por unidad de área,

²El análisis que sigue se basa en el trabajo de F. C. Strong, *Anal. Chem.*, **1952**, 24, p. 338.

y dP_x representa la potencia absorbida en la sección. La fracción absorbida es entonces $-dP_x/P_x$, y esta relación también es igual a la probabilidad media de captura. El signo menos indica que la energía radiante P disminuye al atravesar la región absorbente. Por consiguiente,

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (13.4)$$

Recuerde ahora que dS es la suma de las áreas de captura de las partículas que están dentro de la sección; por tanto, tiene que ser proporcional al número de partículas, es decir

$$dS = adn \quad (13.5)$$

donde dn es el número de partículas y a es una constante de proporcionalidad que puede llamarse *sección transversal de captura*. Al combinar las ecuaciones 13.4 y 13.5 e integrando en un intervalo comprendido entre 0 y n se obtiene

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{adn}{S}$$

Cuando se evalúan estas integrales, se llega a

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{an}{S}$$

Luego de transformar en logaritmos decimales e invertir la fracción para cambiar el signo, se tiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{an}{2.303S} \quad (13.6)$$

donde n es el número total de partículas que hay en el bloque que se muestra en la figura 13.2. El área de la sección transversal S puede expresarse como el cociente del volumen del bloque V en centímetros cúbicos entre su longitud b en centímetros. Entonces,

$$S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2$$

Al sustituir esta cantidad en la ecuación 13.6 se tiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{anb}{2.303V} \quad (13.7)$$

Observe que como n/V es el número de partículas por centímetro cúbico, que es una unidad de concentración. Entonces es posible convertir n/V en moles por litro porque la cantidad de moles es

$$\text{número de moles} = \frac{n \text{ partículas}}{6.02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}}$$

y c en moles por litro está definido por

$$\begin{aligned} c &= \frac{n}{6.02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{L}}{V \text{ cm}^3} \\ &= \frac{1000n}{6.02 \times 10^{23}V} \text{ mol/L} \end{aligned}$$

Al combinar esta relación con la ecuación 13.7 se obtiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6.02 \times 10^{23} abc}{2.303 \times 1000}$$

Por último, las constantes de esta ecuación se pueden agrupar en un único término ϵ con lo que se tiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (13.8)$$

que es la ley de Beer.

13B.1 Aplicación de la ley de Beer a mezclas

La ley de Beer también se puede aplicar a un medio que contenga más de una clase de sustancias absorbentes. Siempre que no haya interacción entre las distintas especies, la absorbancia total para un sistema con múltiples componentes es

$$\begin{aligned} A_{\text{total}} &= A_1 + A_2 + \cdots + A_n \\ &= \epsilon_1 bc + \epsilon_2 bc + \cdots + \epsilon_n bc \end{aligned} \quad (13.9)$$

donde los subíndices se refieren a los componentes absorbentes 1, 2, ..., n .

13B.2 Limitaciones de la ley de Beer

Se han encontrado pocas excepciones a la generalización de que la absorbancia está relacionada en forma lineal con la longitud de la trayectoria. Por otra parte, se han encontrado desviaciones frecuentes de la proporcionalidad directa entre la absorbancia medida y la concentración cuando b es constante. Algunas de estas desviaciones, llamadas *desviaciones reales*, son fundamentales y representan limitaciones propias de la ley. Otras resultan de la forma en que se realizan las mediciones de absorbancia (*desviaciones instrumentales*) o son consecuencia de cambios químicos que ocurren cuando se modifica la concentración (*desviaciones químicas*).

Limitaciones reales de la ley de Beer

La ley de Beer describe el comportamiento de absorción de medios que contienen concentraciones de analito relativamente bajas; en este sentido, es una ley restrictiva. A concentraciones altas (casi siempre $>0.01 \text{ M}$), el grado de las interacciones soluto-solvente, soluto-soluto,



Ejercicio: aprenda más acerca de la **espectrofotometría de absorción**.

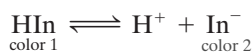
o los puentes hidrógeno pueden afectar el ambiente del analito y su capacidad de absorción. Por ejemplo, a concentraciones altas, la distancia promedio entre las moléculas y iones responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada partícula altera la distribución de carga de las moléculas vecinas. Estas interacciones soluto-soluto modifican la capacidad de las especies del analito para absorber la radiación de una determinada longitud de onda. Como la magnitud de la interacción depende de la concentración, surgen desviaciones respecto a la relación lineal entre la absorbancia y la concentración. A veces se observa un efecto similar en medios que contienen concentraciones bajas de absorbente, pero concentraciones altas de otras especies, sobre todo electrolitos. La cercanía entre los iones y el absorbente altera la absorptividad molar de este último, debido a las interacciones electrostáticas; el efecto se reduce mediante dilución.

Aunque el efecto de las interacciones moleculares no es importante a concentraciones inferiores a 0.01 M, aparecen algunas excepciones entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes. Por ejemplo, se ha reportado que la absorptividad molar del catión del azul de metileno en soluciones acuosas a 436 nm aumenta 88% cuando la concentración del colorante aumenta de 10^{-5} a 10^{-2} M; incluso por debajo de 10^{-6} M, no se observa un cumplimiento riguroso de la ley de Beer.

También surgen desviaciones de la ley de Beer porque la absorptividad depende del índice de refracción del medio.³ Por tanto, si los cambios de la concentración causan alteraciones importantes en el índice de refracción n de una solución, se observan desviaciones de la ley de Beer. Este efecto se puede corregir sustituyendo ϵ por la cantidad $\epsilon n/(n^2 + 2)^2$ en la ecuación 13.8. En general, esta corrección nunca es muy grande y rara vez es importante para concentraciones menores de 0.01 M.

Desviaciones químicas aparentes

Se producen desviaciones aparentes de la ley de Beer cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un solvente para originar un producto con un espectro de absorción diferente al del analito. Las soluciones acuosas de los indicadores ácido/base son un ejemplo característico de este comportamiento. Por ejemplo, el cambio de color asociado con un indicador típico HIn se produce como consecuencia de cambios en el equilibrio



En el ejemplo 13.1 se demuestra cómo el desplazamiento de este equilibrio motivado por la dilución da como resultado una desviación de la ley de Beer.

EJEMPLO 13.1

Se prepararon soluciones de diferentes concentraciones del indicador ácido HIn con $K_a = 1.42 \times 10^{-5}$ en 0.1 M HCl y 0.1 M NaOH. En ambos medios, las gráficas de absorbancia a 430 nm o a 570 nm contra la concentración total del indicador no son lineales. No obstante, en ambos medios se cumple la ley de Beer a 430 nm y 570 nm para las especies individuales HIn e In^- . Por tanto, si se conocen las concentraciones de equilibrio de HIn e In^- , se podría compensar la disociación de HIn. Por lo general, las concentraciones individuales son desconocidas y sólo se conoce la concentración total $c_{\text{total}} = [\text{HIn}] + [\text{In}^-]$.

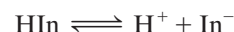
Ahora se calcula la absorbancia de una solución con $c_{\text{total}} = 2.00 \times 10^{-5}$ M. La magnitud de la constante de disociación ácida sugiere que, para todo propósito práctico, el indicador está no disociado por completo en la forma HIn en la solución de HCl y totalmente disociado como In^- en la de NaOH. Las absorptividades a 430 y 570 nm del ácido débil HIn y su base conjugada In^- se determinaron mediante mediciones de soluciones fuertemente ácidas y fuertemente básicas del indicador. Los resultados fueron

	ϵ_{430}	ϵ_{570}
HIn	6.30×10^2	7.12×10^3
In^-	2.06×10^4	9.61×10^2

¿Cuáles son las absorbancias (celda de 1.00 cm) de soluciones no amortiguadas del indicador que varíen en concentración desde 2.00×10^{-5} M hasta 16.00×10^{-5} M?

Solución

Se calculan primero las concentraciones de HIn e In^- en la solución no amortiguada 2×10^{-5} M. Entonces,



y

$$K_a = 1.42 \times 10^{-5} = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

A partir de la ecuación para el proceso de disociación, se sabe que $[\text{H}^+] = [\text{In}^-]$. Además, la expresión del balance de masa para el indicador dice que $[\text{In}^-] + [\text{HIn}] = 2.00 \times 10^{-5}$ M. Al sustituir estas relaciones en la expresión para K_a se obtiene

$$\frac{[\text{In}^-]^2}{2.00 \times 10^{-5} - [\text{In}^-]} = 1.42 \times 10^{-5}$$

³G. Kortum y M. Seiler, *Angew. Chem.*, **1939**, 52, p. 87.

Al reacomodar los términos se obtiene la expresión cuadrática

$$[\text{In}^-]^2 + (1.42 \times 10^{-5}[\text{In}^-]) - (2.84 \times 10^{-10}) = 0$$

La solución positiva de esta ecuación es

$$[\text{In}^-] = 1.12 \times 10^{-5} \text{ M}$$

y

$$\begin{aligned} [\text{HIn}] &= (2.00 \times 10^{-5}) - (1.12 \times 10^{-5}) \\ &= 0.88 \times 10^{-5} \text{ M} \end{aligned}$$

Ahora estamos en condiciones de calcular la absorbancia a las dos longitudes de onda. Entonces, para 430 nm, se sustituye en la ecuación 13.9 y se obtiene

$$\begin{aligned} A &= \epsilon_{\text{In}^-} b [\text{In}^-] + \epsilon_{\text{HIn}} b [\text{HIn}] \\ A_{430} &= (2.06 \times 10^4 \times 1.00 \times 1.12 \times 10^{-5}) \\ &\quad + (6.30 \times 10^2 \times 1.00 \times 0.88 \times 10^{-5}) \\ &= 0.236 \end{aligned}$$

De forma similar, a 570 nm,

$$\begin{aligned} A_{570} &= (9.61 \times 10^2 \times 1.00 \times 1.12 \times 10^{-5}) \\ &\quad + (7.12 \times 10^3 \times 1.00 \times 0.88 \times 10^{-5}) \\ &= 0.073 \end{aligned}$$

En la tabla 13.2 se proporcionan más datos obtenidos de la misma forma.

Las gráficas de la figura 13.3, que contienen los datos de la tabla 13.2, ilustran los tipos de desviaciones respecto a la ley de Beer que se producen cuando el sistema absorbente es capaz de sufrir disociación o asociación. Observe que la dirección de la curvatura es opuesta en las dos longitudes de onda.

Desviaciones instrumentales debidas a la radiación policromática

La ley de Beer sólo se cumple en forma rigurosa cuando las mediciones se efectúan con radiación monocromática. En la práctica, las fuentes policromáticas

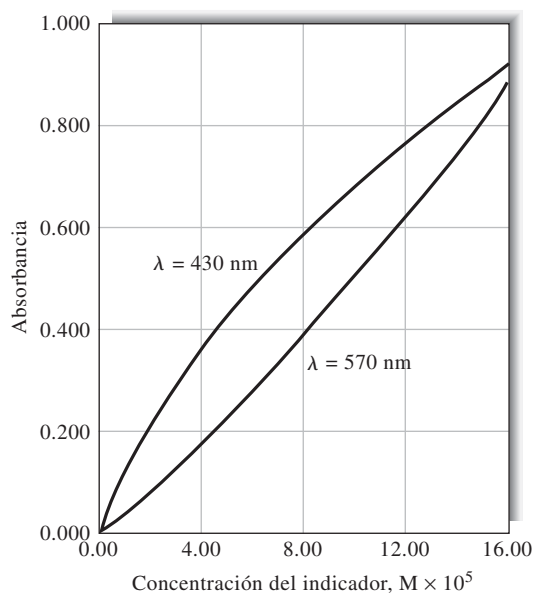


FIGURA 13.3 Desviaciones químicas de la ley de Beer para soluciones no amortiguadas del indicador HIn. Véanse los datos en el ejemplo 13.1. Observe que hay desviaciones positivas a 430 nm y desviaciones negativas a 570 nm. A 430 nm, la absorbancia se debe principalmente a la forma In^- ionizada del indicador, y es proporcional a la fracción ionizada, la cual varía en forma no lineal con la concentración total del indicador. A 570 nm, la absorbancia se debe sobre todo al ácido HIn no disociado, lo cual aumenta la no linealidad con la concentración total.

que tienen una distribución continua de longitudes de onda se usan junto con una red o un filtro para aislar una banda más o menos simétrica de longitudes de onda que rodean a la longitud de onda que se quiere usar (véanse las figuras 7.13, 7.16 y 7.17, por ejemplo).

La siguiente deducción muestra el efecto de la radiación policromática en la ley de Beer. Considere un haz de radiación formado sólo por dos longitudes de onda λ' y λ'' . Si se supone que la ley de Beer se aplica

TABLA 13.2 Absorbancia calculada para diversas concentraciones del indicador.

c_{HIn}, M	$[\text{HIn}], \text{M}$	$[\text{In}^-], \text{M}$	A_{430}	A_{570}
2.00×10^{-5}	0.88×10^{-5}	1.12×10^{-5}	0.236	0.073
4.00×10^{-5}	2.22×10^{-5}	1.78×10^{-5}	0.381	0.175
8.00×10^{-5}	5.27×10^{-5}	2.73×10^{-5}	0.596	0.401
12.0×10^{-5}	8.52×10^{-5}	3.48×10^{-5}	0.771	0.640
16.0×10^{-5}	11.9×10^{-5}	4.11×10^{-5}	0.922	0.887

con rigor a cada una de estas longitudes de onda, es posible escribir para λ'

$$A' = \log \frac{P_0}{P'} = \varepsilon' bc$$

o bien,

$$\frac{P_0}{P'} = 10^{\varepsilon' bc}$$

y

$$P' = P_0 10^{-\varepsilon' bc}$$

De forma similar, para la segunda longitud de onda λ''

$$P'' = P_0 10^{-\varepsilon'' bc}$$

Cuando se hace una medición de la absorbancia con una radiación compuesta por ambas longitudes de onda, la potencia del haz que sale de la solución es la suma de las potencias salientes a las dos longitudes de onda $P' + P''$. De manera similar, la potencia incidente total del haz es la suma $P_0' + P_0''$. Por tanto, la absorbancia medida A_m es

$$A_m = \log \frac{(P_0' + P_0'')}{(P' + P'')}$$

Luego se sustituyen las equivalencias de P' y P'' y se tiene que

$$A_m = \log \frac{(P_0' + P_0'')}{(P_0' 10^{-\varepsilon' bc} + P_0'' 10^{-\varepsilon'' bc})}$$

Cuando las absorptividades molares son iguales a las dos longitudes de onda ($\varepsilon' = \varepsilon''$), esta ecuación se simplifica

$$A_m = \varepsilon' bc = \varepsilon'' bc$$

y se cumple la ley de Beer. Sin embargo, tal como se muestra en la figura 13.4, la relación entre A_m y la concentración deja de ser lineal cuando las absorptividades molares difieren entre sí. Además, cabe esperar una mayor desviación de la linealidad a medida que se incrementa la diferencia entre ε' y ε'' . Esta deducción se puede generalizar de forma que incluya otras longitudes de onda; el efecto sigue siendo el mismo.

Si la banda de longitudes de onda seleccionada para mediciones espectrofotométricas corresponde a una región del espectro de absorción en el que la absorptividad molar del analito es en esencia constante, las desviaciones respecto a la ley de Beer son mínimas. Muchas bandas moleculares en la región UV-visible se ajustan a esta descripción. En estos casos, la ley de Beer se cumple como se demuestra con la Banda A

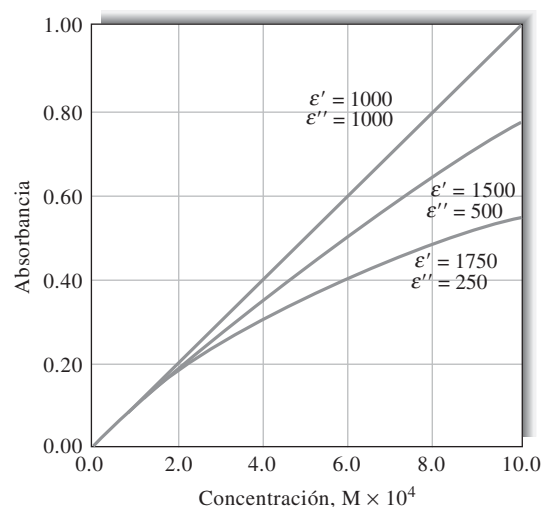


FIGURA 13.4 Desviaciones de la ley de Beer con radiación policromática. El absorbente tiene las absorptividades molares que se indican a las dos longitudes de onda λ' y λ'' .

de la figura 13.5. Por otro lado, algunas bandas de absorción en la región UV-visible y muchas en la región infrarroja (IR) son muy angostas, por lo que las desviaciones respecto a la ley de Beer son comunes, como lo ilustra la Banda B de la figura 13.5. Por tanto, con el fin de evitar desviaciones se recomienda seleccionar una banda de longitud de onda cercana a la longitud de onda de absorción máxima, en la cual la absorptividad del analito cambia poco con la longitud de onda.

También se ha observado experimentalmente que en el caso de mediciones de absorbancia en el máximo de las bandas angostas, la desviación respecto a la ley de Beer no es importante si la anchura de banda efectiva del monocromador o filtro $\Delta\lambda_{\text{efec}}$ (ecuación 7.17) es menor que 1/10 de la anchura de la banda de absorción en la semialtura (anchura total a la mitad del máximo).

Desviaciones instrumentales originadas por radiación parásita

En el capítulo 7 se demostró que, por lo regular, la radiación que emerge del monocromador está contaminada con pequeñas cantidades de radiación dispersa o parásita llamada *luz parásita*, y se define como la que proviene de un instrumento que está fuera de la banda de longitud de onda seleccionada para la determinación. Con frecuencia, esta radiación parásita es resultado de la dispersión y reflexión desde superficies de redes, lentes o espejos, filtros y ventanas. A menudo, la longitud de onda de la radiación parásita difiere de manera sustancial de la radiación principal y, además, podría no haber atravesado la muestra.



Clase interactiva: aprenda más acerca de las **limitaciones de la ley de Beer**.

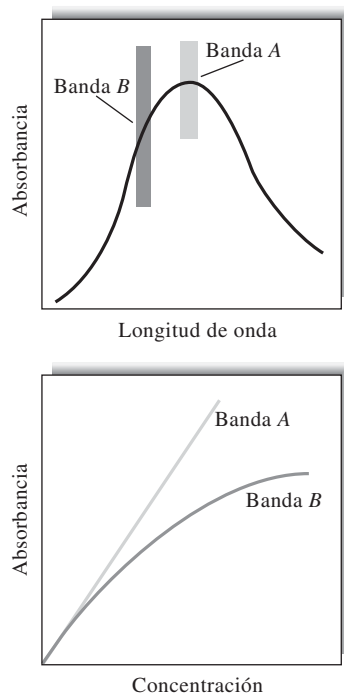


FIGURA 13.5 Efecto de la radiación policromática en la ley de Beer. En el espectro de la parte superior, la absorptividad del analito es casi constante sobre la Banda A de la fuente. Observe en la gráfica de la ley de Beer en la parte inferior que al usar la Banda A hay una relación lineal. En el espectro, la Banda B corresponde a una región donde la absorptividad manifiesta cambios notables. En la gráfica inferior, note la marcada desviación de la ley de Beer que resulta.

Cuando las mediciones se hacen en presencia de radiación parásita, la absorbancia observada A' está dada por

$$A' = \log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s}$$

donde P_s es la potencia de la radiación parásita no absorbida. En la figura 13.6 se muestra una representación gráfica de A' frente a la concentración para distintas relaciones de P_s y P_0 . Observe que cuando se trata de concentraciones altas y longitudes de trayectoria más largas, la radiación parásita también puede causar desviaciones importantes en la relación lineal que existe entre la absorbancia y la longitud de la trayectoria.⁴

Observe también que las desviaciones instrumentales que se ilustran en las figuras 13.5 y 13.6 dan lugar a absorbancias menores que las teóricas. Se puede

demostrar que las desviaciones instrumentales siempre conducen a errores negativos en la absorbancia.⁵

Celdas desajustadas

Otra desviación respecto a la ley de Beer que parece trivial, pero que es muy importante es la que ocasionan las celdas desajustadas. Si la longitud de trayectoria de las celdas que contienen las soluciones del analito y del blanco no son iguales ni tienen características ópticas equivalentes, habrá una ordenada al origen k en la curva de calibración y $A = \epsilon bc + k$ será la ecuación real en lugar de la ecuación 13.1. Para que no ocurra este error se utilizan celdas cuidadosamente ajustadas o se aplica un procedimiento de regresión lineal para calcular tanto la pendiente como la ordenada al origen de la curva de calibración. En la mayor parte de los casos la regresión lineal es la mejor estrategia porque una ordenada al origen se puede presentar también si la solución blanco no compensa del todo las interferencias. Otra manera de evitar el problema

⁵E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 7, p. 73. Nueva York: Wiley, 1981. Para ver el procedimiento de cálculo de la radiación parásita mediante hojas de cálculo refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, pp. 227-229, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

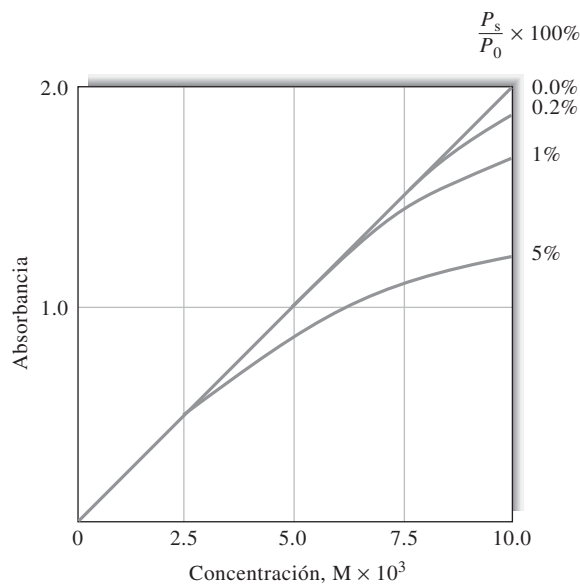


FIGURA 13.6 Desviación aparente de la ley de Beer ocasionada por diversas cantidades de radiación parásita. Note que la absorbancia empieza a aplanarse hacia la concentración cuando hay altos niveles de luz parásita. La luz parásita limita siempre la absorbancia máxima que se puede obtener, porque cuando la absorbancia es alta, la potencia radiante que se transmite a través de la muestra se vuelve similar o menor al nivel de luz parásita.

⁴Para un análisis de los efectos de la radiación parásita, véase M. R. Sharpe, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, p. 339A.

de las celdas desajustadas en instrumentos de haz único es usar sólo una celda y mantenerla en la misma posición tanto en la medición del blanco como en la del analito. Después de obtener la lectura del blanco, la celda se vacía por medio de aspiración, se lava y se llena con la solución del analito.

13C EFECTOS DEL RUIDO INSTRUMENTAL EN LOS ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Con frecuencia, la exactitud y la precisión de los análisis espectrofotométricos están limitadas por las incertidumbres o ruidos asociados con el instrumento.⁶ En el capítulo 5 encontró una explicación general sobre el ruido instrumental y sobre el mejoramiento de la relación señal-ruido.

13C.1 Ruido instrumental como función de la transmitancia

Como ya se señaló, una medición espectrofotométrica involucra tres pasos: un ajuste o medición de 0% de transmitancia, un ajuste de 100% de transmitancia y una medida del porcentaje de T cuando la muestra se sitúa en la trayectoria de la radiación. El ruido asociado con cada una de estas etapas se combina para dar una incertidumbre neta en el valor final de T que se obtiene. La relación entre el ruido que se encuentra en la medición de T y la *incertidumbre en la concentración* se puede deducir si se escribe la ley de Beer en la forma siguiente

$$c = -\frac{1}{\epsilon b} \log T = -\frac{0.434}{\epsilon b} \ln T \quad (13.10)$$

Para relacionar la desviación estándar de la concentración σ_c con la desviación estándar de la transmitancia σ_T se procede como en la sección a1B.3 del apéndice 1, es decir, se calcula la derivada parcial de esta ecuación respecto a T , manteniendo b y c constantes. Es decir,

$$\frac{\partial c}{\partial T} = -\frac{0.434}{\epsilon b T}$$

Al aplicar la ecuación a1.29 (apéndice 1) resulta

$$\sigma_c^2 = \left(\frac{\partial c}{\partial T} \right)^2 \sigma_T^2 = \left(\frac{-0.434}{\epsilon b T} \right)^2 \sigma_T^2 \quad (13.11)$$

Observe que usamos la varianza de la población σ^2 en lugar de la varianza de la muestra s^2 cuando se aplica la ecuación a1.29. Al dividir la ecuación 13.11 entre el cuadrado de la ecuación 13.10 se obtiene

$$\left(\frac{\sigma_c}{c} \right)^2 = \left(\frac{\sigma_T}{T \ln T} \right)^2$$

$$\frac{\sigma_c}{c} = \frac{\sigma_T}{T \ln T} = \frac{0.434 \sigma_T}{T \log T} \quad (13.12)$$

Cuando hay un número limitado de mediciones y, por consiguiente, una muestra estadística pequeña, se reemplazan las desviaciones estándar de la población σ_c y σ_T por las desviaciones estándar de la muestra s_c y s_T (sección a1B.1, apéndice 1) y se obtiene

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434 s_T}{T \log T} \quad (13.13)$$

Esta ecuación relaciona la desviación estándar relativa de c (s_c/c) con la desviación estándar absoluta de la medición de la transmitancia (s_T). Experimentalmente, s_T se puede evaluar si se repite, por ejemplo, 20 veces la medición ($N = 20$) de la transmitancia de una solución, exactamente de la misma forma, y se sustituyen los datos en la ecuación a1.10, apéndice 1.

Al examinar la ecuación 13.13 se ve que la incertidumbre en la medición fotométrica de la concentración varía en forma no lineal con la magnitud de la transmitancia. La situación es un poco más complicada de lo que sugiere la ecuación 13.13, porque la incertidumbre s_T también *depende de T* .

13C.2 Fuentes de ruido instrumental

En un estudio teórico y experimental detallado, Rothman, Crouch e Ingle describieron varias fuentes de incertidumbre instrumentales y mostraron su efecto neto sobre la precisión de las mediciones de absorbancia o transmitancia.⁷ Estas incertidumbres se dividen en tres categorías dependiendo de cómo resultan afectadas por la magnitud de la corriente fotoeléctrica y, por consiguiente, de T . Para las incertidumbres que constituyen el caso I, la precisión es independiente de T ; es decir, s_T es igual a la constante k_1 . En el caso de las incertidumbres del caso II, la precisión es directamente proporcional a $\sqrt{T^2 + T}$. Para finalizar, las incertidumbres del caso III son directamente proporcionales a T . En la tabla 13.3 se resume la información acerca de las fuentes de estos tres tipos de incertidumbres y las clases de instrumentos en los que es probable encontrar cada una de ellas.

⁶Véase L. D. Rothman, S. R. Crouch y J. D. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, p. 1226; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Anal. Chem.*, **1972**, *44*, p. 1375; H. L. Pardue, T. E. Hewitt y M. J. Milano, *Clin. Chem.*, **1974**, *20*, p. 1028; J. O. Erickson y T. Surles, *Amer. Lab.*, **1976**, *8* (6), p. 41; *Optimum Parameters for Spectrophotometry*, Palo Alto, CA: Varian Instruments Division, 1977.

⁷L. D. Rothman, S. R. Crouch y J. D. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, p. 1226.

TABLA 13.3 Tipos y orígenes de la incertidumbre en las mediciones de transmitancia.

Categoría	Caracterizada por ^a	Fuentes características	Es probable que sean importantes en
Caso I	$s_T = k_1$	Resolución limitada del sistema de lectura	Fotómetros y espectrofotómetros baratos con sistemas de medición o pantallas digitales pequeños
		Ruido de Johnson del detector térmico	Espectrofotómetros y fotómetros IR e IR cercano
		Corriente residual y ruido del amplificador	Regiones en las que son bajas la intensidad de la fuente y la sensibilidad del detector
Caso II	$s_T = k_2\sqrt{T^2 + T}$	Ruido de disparo del detector de fotones	Espectrofotómetros UV/visible de alta calidad
Caso III	$s_T = k_3T$	Incertidumbres en la posición de la celda	Espectrofotómetros UV/visible e IR de alta calidad
		Fluctuación de la fuente	Fotómetros y espectrofotómetros baratos

^a k_1 , k_2 , y k_3 son constantes para un sistema dado.

Caso I: $s_T = k_1$

A menudo, las incertidumbres del caso I se observan en los espectrofotómetros o fotómetros ultravioleta y visible más baratos que están equipados con medidores o lectores digitales de resolución limitada. Por ejemplo, algunos instrumentos digitales pueden contener carátulas de dígitos de $3\frac{1}{2}$. Éstas pueden desplegar el resultado a $0.1\%T$. En este caso, la resolución de la carátula limita la precisión de la medición, y la incertidumbre absoluta en T es la misma desde $0\%T$ hasta $100\%T$. Hay una limitación similar con los instrumentos analógicos antiguos con resolución limitada en el medidor.

Los espectrofotómetros de radiación en el infrarrojo e infrarrojo cercano también presentan un comportamiento tipo caso I. En éstos, el error aleatorio limitante surge por lo general del ruido de Johnson en el detector térmico. Recuerde (sección 5B.2) que este tipo de ruido es independiente de la magnitud de la corriente fotoeléctrica; de hecho, se observan fluctuaciones incluso en ausencia de radiación cuando la corriente neta es cero en esencia.

Por lo general, la corriente residual u oscura y el ruido del amplificador son pequeños comparados con otras fuentes de ruido en los instrumentos fotométricos y espectrofotométricos, pero se vuelven importantes sólo en condiciones de corrientes fotoeléctricas débiles, situación en que la intensidad de la lámpara o la sensibilidad del transductor es baja. Por ejemplo, estas condiciones se dan con frecuencia cerca de las longitudes de onda extremas de un instrumento.

La precisión de los datos de concentración que se obtienen con un instrumento que está limitado por un

ruido tipo caso I puede obtenerse directamente al sustituir un determinado valor experimental para $s_T = k_1$ en la ecuación 13.13. Aquí, la precisión al determinar una concentración particular depende de la magnitud de T aunque la precisión instrumental sea independiente de T . La tercera columna de la tabla 13.4 proporciona los datos que se obtienen con la ecuación 13.13 cuando se supone una desviación estándar absoluta s_T de ± 0.003 , es decir $\pm 0.3\%T$. La curva A en la figura 13.7 es una representación gráfica de los datos. Tenga en cuenta que se alcanza un mínimo a una absorbancia de alrededor de 0.5. Note también que el error relativo de la concentración surge con rapidez en absorbancias inferiores a 0.1 y mayores que 1.0.

Una incertidumbre de $0.3\%T$ es característica de muchos espectrofotómetros y fotómetros de precios moderados. Con tales instrumentos, los errores relativos esperados en las concentraciones son de 1 a 2% si la absorbancia de la muestra se encuentra entre alrededor de 0.1 y 1.

Caso II: $s_T = k_2\sqrt{T^2 + T}$

A menudo, este tipo de incertidumbre limita la precisión de los instrumentos de mayor calidad. Se origina en el ruido de disparo (sección 5B.2), que debe esperarse siempre que la corriente incluya la transferencia de carga en una unión, tal como el movimiento de electrones desde el cátodo al ánodo en un tubo fotomultiplicador. En este caso, se crea una corriente eléctrica como consecuencia de una serie de fenómenos individuales (emisión de electrones desde un cátodo). El promedio de dichos fenómenos por unidad de tiempo es proporcional al flujo de fotones. La frecuencia de los fenómenos y, por consiguiente, la corriente se distribuyen en forma aleatoria alrededor de un valor medio. La magnitud de las fluctuaciones de corriente es



Simulación: aprenda más acerca de los **efectos del ruido instrumental**.

TABLA 13.4 Precisión relativa de las mediciones de concentración en función de la transmitancia y la absorbancia, para tres categorías de ruido instrumental.

Transmitancia, T	Absorbancia, A	Desviación estándar relativa de la concentración ^a		
		Ruido caso I ^b	Ruido caso II ^c	Ruido tipo caso III ^d
0.95	0.022	±6.2	±8.4	±25.3
0.90	0.046	±3.2	±4.1	±12.3
0.80	0.097	±1.7	±2.0	±5.8
0.60	0.222	±0.98	±0.96	±2.5
0.40	0.398	±0.82	±0.61	±1.4
0.20	0.699	±0.93	±0.46	±0.81
0.10	1.00	±1.3	±0.43	±0.56
0.032	1.50	±2.7	±0.50	±0.38
0.010	2.00	±6.5	±0.65	±0.2
0.0032	2.50	±16.3	±0.92	±0.23
0.0010	3.00	±43.4	±1.4	±0.19

^a $(s_c/c) \times 100\%$.^bA partir de la ecuación 13.13 con $s_T = k_1 = \pm 0.0030$.^cA partir de la ecuación 13.14 con $k_2 = \pm 0.0030$.^dA partir de la ecuación 13.15 con $k_3 = \pm 0.013$.

proporcional a la raíz cuadrada de la corriente (véase ecuación 5.5). El efecto del ruido de disparo sobre s_c se deduce sustituyendo s_T en la ecuación 13.13. Al recomodar los términos se obtiene

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434k_2}{\log T} \sqrt{\frac{1}{T} + 1} \quad (13.14)$$

Los datos de la cuarta columna de la tabla 13.4 se calcularon con la ayuda de la ecuación 13.14. La curva

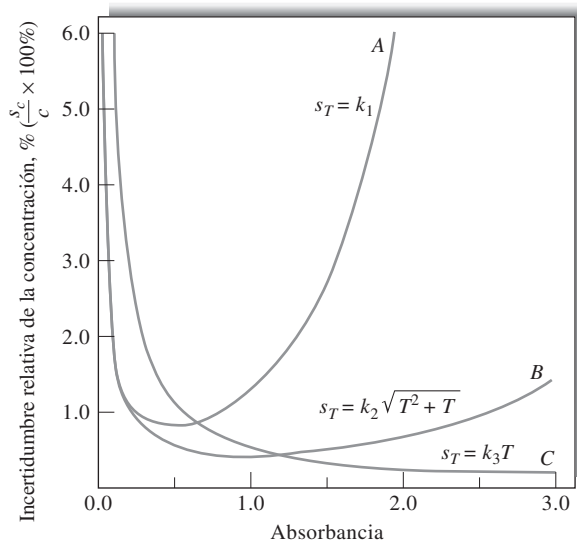


FIGURA 13.7 Incertidumbres relativas en la concentración causadas por distintas categorías de ruido instrumental. A, caso I; B, caso II; C, caso III. Los datos que se utilizaron son los de la tabla 13.4.

B de la figura 13.7 es una representación gráfica de dichos datos. Observe el mínimo mucho más amplio en la incertidumbre de la concentración. Note también que se puede medir un amplio intervalo de valores de absorbancias sin que el error de concentración se vuelva mayor de 1 a 2%. Esta abundancia de valores representa una de las principales ventajas de los detectores tipo fotón o fotónicos respecto a los de tipo térmico, los cuales están representados en la curva A de la figura. Como en los instrumentos limitados por el ruido de Johnson, los instrumentos limitados por el ruido de disparo no generan datos de concentración muy confiables cuando las transmitancias son mayores de 95% (o $A < 0.02$).

Caso III: $s_T = k_3T$

Al sustituir $s_T = k_3T$ en la ecuación 13.13 se ve que la desviación estándar relativa en la concentración derivada de este tipo de incertidumbre es inversamente proporcional al logaritmo de la transmitancia.

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434k_3}{\log T} \quad (13.15)$$

La columna 5 de la tabla 13.4 contiene información que se obtuvo mediante la ecuación 13.15 cuando se supone que k_3 tiene un valor de 0.013, el cual se aproxima al que se observó en el trabajo de Rothman, Crouch e Ingle. Los datos originan la gráfica de la curva C de la figura 13.7. Tome en cuenta que este tipo de incertidumbre es importante a absorbancias bajas

(altas transmitancias), pero se aproxima a cero con absorbancias altas.⁸

Una de las fuentes de este tipo de ruido es la deriva lenta en la señal de salida radiante de la fuente. Este tipo de ruido se puede denominar *ruido fluctuante de la fuente* (sección 5B.2). Los efectos de las fluctuaciones en la intensidad de una fuente se reducen al mínimo mediante el uso de fuentes de alimentación de voltaje constante o mediante un sistema de retroalimentación en el cual la intensidad de la fuente se mantiene a un nivel constante. Los espectrofotómetros modernos de doble haz (secciones 13D.2 y 13D.3) también ayudan a anular el efecto del ruido fluctuante. En muchos instrumentos, el ruido fluctuante de la fuente no limita el desempeño.

Una fuente de ruido importante y muy común, proporcional a la transmitancia, aparece cuando no se puede reproducir la colocación de la muestra y las celdas de referencia respecto al haz durante las mediciones repetidas de la transmitancia. Todas las celdas o cubetas tienen pequeñas imperfecciones. Como consecuencia, las pérdidas por reflexión y dispersión varían cuando se exponen al haz distintas secciones de la ventana de la celda, por lo que hay pequeños cambios en la transmitancia. Rothman, Crouch e Ingle demostraron que a menudo esta incertidumbre es la limitación más común en la exactitud de los espectrofotómetros ultravioleta-visible de alta calidad. Es también una fuente de incertidumbre importante en los instrumentos de infrarrojo.

Un método para reducir el efecto de la posición de la celda en un instrumento de doble haz consiste en dejar las celdas en su lugar durante la calibración y el análisis. Luego se introducen patrones y muestras nuevos en la celda correspondiente después de lavar y enjuagar la misma con ayuda de una jeringa. Hay que tener mucho cuidado para evitar tocar o golpear las celdas durante este proceso.

13C.3 Efecto de la anchura de la rendija en las mediciones de la absorbancia

Como se mostró en la sección 7C.3, para resolver espectros complejos se requieren anchuras de rendija angostas.⁹ Por ejemplo, en la figura 13.8 se ilustra la pérdida de detalles que hay cuando aumenta la anchura de la rendija, desde valores pequeños a la iz-

quierda hasta valores mayores en la mitad y a la derecha. En este ejemplo, se obtuvo el espectro de absorción del vapor de benceno con un ajuste de rendija que proporcionó anchos de banda efectivos de 1.6, 4 y 10 nm. Para estudios cualitativos, la pérdida de resolución que acompaña el uso de rendijas más anchas es de gran importancia porque los detalles de los espectros son útiles para identificar las especies.

En la figura 13.9 se ilustra un segundo efecto de la anchura de la rendija sobre los espectros compuestos por picos estrechos. En este caso se obtuvo el espectro de una solución de cloruro de praseodimio con rendijas cuyo ancho es de 1.0, 0.5 y 0.1 mm. Observe que los valores de absorbancia aumentan de manera importante (hasta 70% en uno de los casos) cuando disminuye la anchura de la rendija. Para ajustes de la rendija menores a 0.14 mm, se encontró que las absorbancias eran independientes de la anchura de la rendija. Un cuidadoso examen de la figura 13.8 revela el mismo tipo de efecto. En ambos conjuntos de espectros, las áreas bajo los picos individuales son las mismas, pero anchuras de rendija superiores dan lugar a picos más anchos con absorbancias más bajas.

De la observación de las figuras se concluye que la medición cuantitativa de las bandas de absorción angostas requiere el uso de rendija angostas o, como otra posibilidad, ajustes de anchura de rendija que se puedan repetir. Pero el inconveniente es que al disminuir la anchura de la rendija en un factor de 10 hay una reducción del poder radiante en un factor de 100 porque la energía radiante es proporcional al cuadrado de la anchura de la rendija.¹⁰ Por consiguiente, hay una relación desventajosa entre la resolución y la relación señal-ruido. A menudo se tiene que elegir una anchura de rendija promedio. Esta situación se vuelve importante en particular en las regiones espectrales en las cuales la señal de salida de la fuente o la sensibilidad del detector son bajas. En tales circunstancias, una relación señal-ruido adecuada requeriría anchuras de rendija de dimensión suficiente que ocasionarían una pérdida total o parcial de la estructura fina del espectro.

En general, es aconsejable no estrechar la rendija más de lo que sería necesario para la resolución del espectro. En los espectrofotómetros de rendija variable, el ajuste apropiado se puede determinar obteniendo espectros con rendijas cada vez más estrechas hasta que la absorbancia máxima se mantiene constante. En general, se observan alturas de pico constantes cuando el ancho de banda efectiva del instrumento es un décimo menor que la anchura total en la mitad máxima de la banda de absorción.

⁸Para ver un procedimiento para elaborar mediante hojas de cálculo gráficas de los errores relativos de la concentración para los casos tratados refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, pp. 229-232. Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

⁹Para un análisis del efecto de la anchura de la rendija sobre el espectro, véase *Optimum Parameters for Spectrophotometry*, Palo Alto, CA: Varian Instruments Division, 1977; F. C. Strong III, *Anal. Chem.*, **1976**, *48*, p. 2155; D. D. Gilbert, *J. Chem. Educ.*, **1991**, *68*, p. A278.

¹⁰J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 366, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.

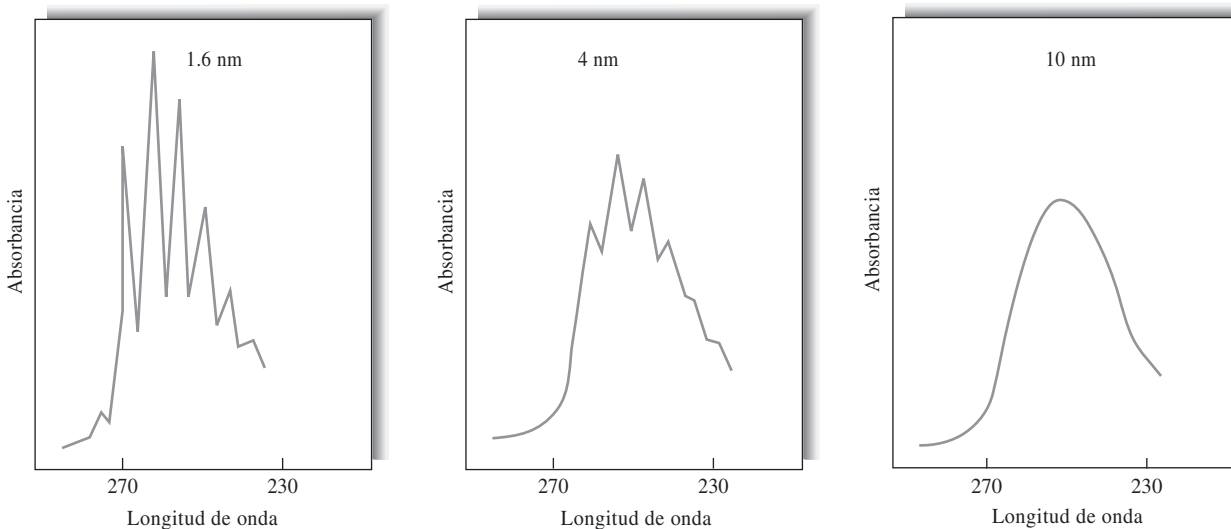


FIGURA 13.8 Efecto del ancho de banda en la definición del espectro de una muestra de vapor de benceno. Observe que cuando el ancho de banda aumenta, la estructura fina del espectro se pierde. A un ancho de banda de 10 nm, sólo se observa una banda ancha de absorción.

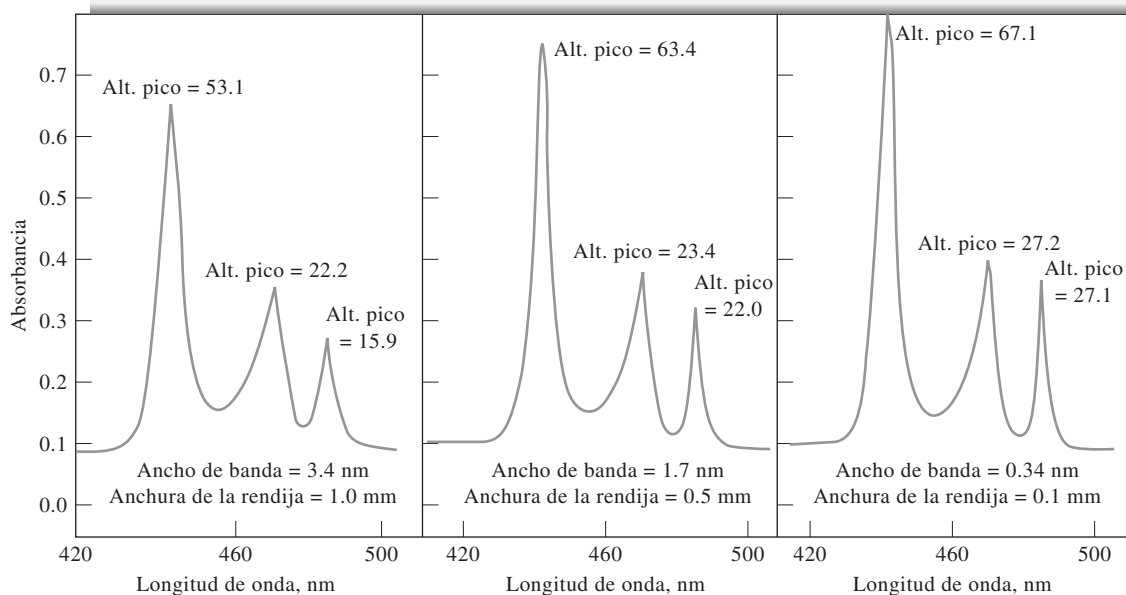


FIGURA 13.9 Efecto de la anchura de la rendija (ancho de banda del espectro) en la altura de los picos. La muestra es una solución de cloruro de praseodimio. Observe que cuando disminuye el ancho de banda del espectro al reducirse la anchura de la rendija de 1.0 mm a 0.1 mm, la altura del pico aumenta. (Tomado de *Optimum Spectrophotometer Parameters*, Application Report, 14-2, Varian Inc., Palo Alto, CA.)

13C.4 Efecto de la radiación dispersada en los extremos de la longitud de onda de un instrumento

Ya se ha destacado que la radiación dispersada puede causar desviaciones instrumentales de la ley de Beer. Cuando las medidas se realizan a las longitudes de onda extremas de un instrumento, los efectos de la radiación parásita pueden ser incluso más graves y, en ocasiones, pueden ocasionar la aparición de bandas de absorción falsas. Por ejemplo, considere un antiguo espectrofotómetro para la región visible equipado con elementos ópticos de vidrio, una fuente de tungsteno y una célula fotovoltaica como detector. A longitudes de onda por debajo de alrededor de 380 nm, las ventanas, las celdas y el prisma comienzan a absorber radiación, lo que reduce la energía que llega al transductor. La señal de salida de la fuente desciende con rapidez en esta región y también disminuye la sensibilidad del transductor. Por consiguiente, la señal total para el ajuste de 100% T puede ser tan bajo como 1 o 2% de la señal correspondiente en la región comprendida entre 500 y 650 nm.

Sin embargo, la radiación dispersada está compuesta a menudo por longitudes de onda a las cuales el instrumento es muy sensible. Por tanto, los efectos de la radiación parásita pueden verse muy amplificados. De hecho, en algunos casos, la señal de salida producida por la radiación parásita podría exceder a la del haz que procede del monocromador. En estas circunstancias, el componente de la transmitancia medida que se debe a la radiación parásita podría ser igual a la transmitancia verdadera o hasta podría excederla.

En la figura 13.10 se muestra un ejemplo de la aparición de una falsa banda en los extremos de las longitudes de onda de un espectrofotómetro para la región visible. La curva *B* corresponde al espectro de una solución de cerio(IV) obtenido con un espectrofotómetro ultravioleta/visible, sensible en la región de 200 a 750 nm. La curva *A* es un espectro de la misma solución obtenido con un espectrofotómetro sencillo para la región visible. El máximo evidente que aparece en la curva *A* se debe a la respuesta del instrumento a las longitudes de onda parásitas mayores que 400 nm. Como se puede ver en la curva *B*, los iones del cerio(IV) no absorben estas longitudes de onda más largas. Algunas veces se observa el mismo efecto con los instrumentos para las regiones UV/visible cuando se pretende medir absorbancias a longitudes de onda inferiores a 200 nm.

13D INSTRUMENTACIÓN

Decenas de compañías fabrican instrumentos para medir la absorción molecular en las regiones ultravioleta (UV), visible e infrarroja cercana. Hay cientos de

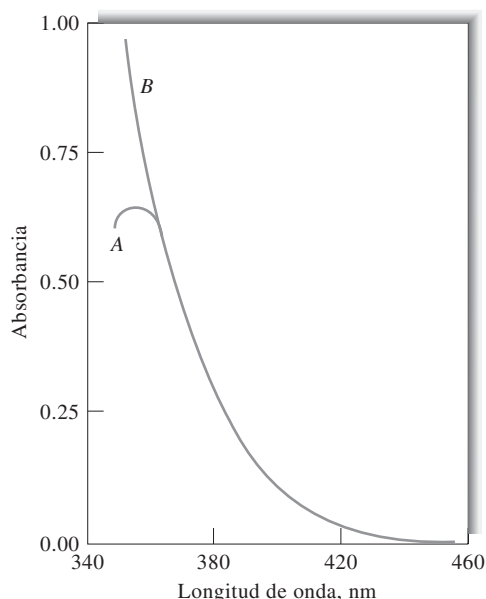


FIGURA 13.10 Espectro del cerio(IV) obtenido con un espectrofotómetro con partes ópticas de vidrio (*A*) y de cuarzo (*B*). El falso pico en *A* surge de la transmisión de radiación parásita de longitudes de onda más largas.

instrumentos hechos y modelos de donde elegir. Algunos son sencillos y baratos (unos cientos de dólares); otros son equipos complejos, controlados por computadora, que pueden efectuar barridos, y cuyo precio asciende y supera los 30 000 dólares. Con frecuencia, los instrumentos más sencillos son sólo útiles en la región visible para mediciones cuantitativas a una sola longitud de onda. Los instrumentos más complejos tienen la aptitud de efectuar barridos espectrales a resoluciones que se pueden elegir, son capaces de medir en las regiones ultravioleta y visible, compensar las fluctuaciones en la intensidad de la fuente y varias otras características.¹¹

13D.1 Componentes de los instrumentos

Los instrumentos para medir la absorción de radiación ultravioleta, visible y en el infrarrojo cercano están compuestos por uno o más de los siguientes componentes: 1) fuentes, 2) selectores de longitud de onda, 3) recipientes para la muestra, 4) transductores de radiación y 5) procesadores de señal y dispositivos de lectura. El diseño y funcionamiento de los componentes 2, 4 y 5 se tratan con riguroso detalle en el capítulo 7, por lo que no se repetirán aquí. Sí se estudian, aunque brevemente, las características de las fuentes y los re-

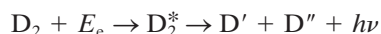
¹¹Para un interesante artículo que trata sobre los instrumentos comerciales que se emplean en las mediciones de absorción en las regiones ultravioleta/visible, véase R. Jarnutowski, J. R. Ferraro y D. C. Lankin, *Spectroscopy*, **1992**, 7 (7), p. 22.

cientes para las muestras en la región comprendida entre 190 y 3000 nm.

Fuentes

Cuando se trata de mediciones de absorción molecular es necesario disponer de una fuente continua cuya potencia radiante no cambie en forma brusca en un intervalo considerable de longitudes de onda.

Lámparas de deuterio e hidrógeno. La excitación eléctrica del deuterio o hidrógeno a baja presión produce un espectro continuo en la región ultravioleta. El mecanismo por el cual se produce dicho espectro requiere la formación inicial de una especie *molecular* excitada y luego su disociación para dar dos especies atómicas más un fotón ultravioleta. Las reacciones para el deuterio son



donde E_e es la energía eléctrica absorbida por la molécula y D_2^* es la molécula de deuterio excitada. La energía del proceso global puede representarse mediante la ecuación

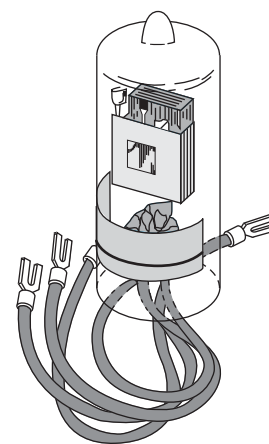
$$E_e = E_{D_2^*} = E_{D'} + E_{D''} + h\nu$$

En este caso, $E_{D_2^*}$ es la energía cuantizada fija de D_2^* mientras $E_{D'}$ y $E_{D''}$ son las energías cinéticas de los dos átomos de deuterio. La suma de $E_{D'}$ y $E_{D''}$ puede variar de manera continua desde cero hasta $E_{D_2^*}$; por consiguiente, la energía y la frecuencia del fotón también pueden variar en forma continua. Es decir, cuando por casualidad las dos energías cinéticas son pequeñas $h\nu$ será grande, y viceversa. La consecuencia es un verdadero espectro continuo desde alrededor de 160 nm hasta el comienzo de la región visible, como se puede ver en la figura 13-11b.

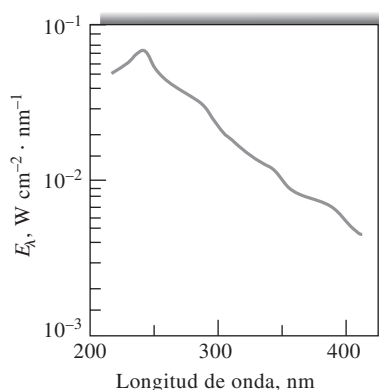
La mayor parte de las lámparas modernas de este tipo contienen deuterio y son de bajo voltaje; en ellas se forma un arco entre un filamento caliente recubierto de óxido y un electrodo metálico (véase figura 13.11a). El filamento caliente suministra electrones para mantener una corriente continua cuando se aplica un voltaje de alrededor de 40 V entre el filamento y el electrodo. Para intensidades constantes es necesaria una fuente de alimentación estabilizada.

Una característica importante de las lámparas de deuterio e hidrógeno es la forma de la abertura entre los dos electrodos, que restringe la descarga a una trayectoria angosta. Por consiguiente, se produce una esfera de radiación intensa de alrededor de 1 a 1.5 mm de diámetro. El deuterio da una esfera algo más grande y más brillante que el hidrógeno, lo que justifica su uso tan extendido.

Tanto las lámparas de deuterio como las de hidrógeno producen salidas de entre 160 y 800 nm. En la



a)



b)

FIGURA 13.11 a) Lámpara de deuterio del tipo que se usa en los espectrofotómetros y b) su espectro. La gráfica es la irradiancia E_λ (proporcional a la energía radiante) contra la longitud de onda. Observe que la intensidad máxima se presenta a ~ 225 nm. Por lo regular, los instrumentos cambian de deuterio a tungsteno a ~ 350 nm.

región UV (190-400 nm) existe un espectro continuo como se puede ver en la figura 13.11b. A longitudes de onda (>400 nm), más largas, los espectros de estas lámparas dejan de ser continuos, y están formados de líneas de emisión y bandas que se superponen sobre el espectro continuo débil. En muchas aplicaciones, la emisión de líneas o bandas es un inconveniente. No obstante, algunos instrumentos modernos con detectores en serie usan una fuente de deuterio a longitudes de onda de 800 nm. En estos instrumentos, el arreglo en serie se puede exponer durante tiempos más largos para compensar la baja intensidad de la fuente en la región visible. Puesto que el espectro completo de la fuente se obtiene con un blanco de solvente y luego con la muestra, la presencia de líneas de emisión no interfiere con el cálculo del espectro de absorción. La

emisión de líneas siempre se ha usado en la calibración de longitudes de onda de los instrumentos de absorción.

Las lámparas de deuterio e hidrógeno deben tener ventanas de cuarzo, ya que la absorción del vidrio es muy fuerte a longitudes de onda menores de alrededor de 350 nm. Aunque el espectro continuo de la lámpara de deuterio se extiende a longitudes de onda de apenas 160 nm, el límite inferior útil es de casi 190 nm debido a la absorción por parte de las ventanas de cuarzo.

Lámparas de filamento de tungsteno. La fuente más común de radiación visible y del infrarrojo cercano es la lámpara de filamento de tungsteno. La distribución de energía de esta fuente se aproxima a la del cuerpo negro (véase figura 6.22), por lo que depende de la temperatura. En la mayor parte de los instrumentos de absorción, la temperatura de trabajo del filamento es 2870 K; así, la mayor parte de la energía emitida corresponde a la región del infrarrojo. La lámpara de filamento de tungsteno es útil para la región de longitudes de onda comprendida entre 350 y 2500 nm. En la figura 13.12 se muestra una lámpara de tungsteno típica y su espectro. La radiación que absorbe la envoltura

de vidrio que rodea al filamento señala el límite inferior de la longitud de onda.

En la región visible, la energía de la señal de salida de una lámpara de tungsteno varía aproximadamente con la cuarta potencia del voltaje de operación. Como consecuencia, se requiere un control minucioso del voltaje para conseguir una fuente de radiación estable. En general se emplean reguladores electrónicos de voltaje o suministros de energía controlados por realimentación para alcanzar la estabilidad necesaria.

Las lámparas de tungsteno/halógeno, también llamadas lámparas de cuarzo-halógeno, contienen una pequeña cantidad de yodo dentro de la envoltura de cuarzo en la que se aloja el filamento de tungsteno. El cuarzo permite que el filamento trabaje a una temperatura de casi 3500 K, lo cual ocasiona intensidades superiores y amplía el intervalo de la lámpara hasta dentro de la región UV. El tiempo de vida de una lámpara de tungsteno/halógeno es más del doble que la de una lámpara normal. Este aumento de vida se debe a la reacción del yodo con el tungsteno gaseoso que se forma por sublimación y que, por lo regular, limita la vida del filamento. El producto de esta reacción es la especie volátil WI_2 . Cuando las moléculas de dicho compuesto chocan con el filamento, se produce la descomposición del mismo, y el tungsteno se vuelve a depositar. Las lámparas de tungsteno/halógeno tienen mayor rendimiento y amplían el intervalo de longitudes de onda de salida hasta adentro de la región ultravioleta. Por estas razones se encuentran en muchos instrumentos espectroscópicos modernos.

Diodos emisores de luz. Se utilizan como fuentes en algunos espectrómetros de absorción. Un diodo emisor de luz (LED, por sus siglas en inglés) es un dispositivo de unión *pn* que cuando tiene polarización directa produce energía radiante. Son muy comunes los diodos fabricados con arseniuro de aluminio y galio ($\lambda_m = 900$ nm), fosfuro de arsénico y galio ($\lambda_m = 650$ nm), fosfuro de galio ($\lambda_m = 550$ nm), nitruro de galio ($\lambda_m = 465$ nm), y nitruro de galio e indio ($\lambda_m = 450$ nm). Las mezclas de estos compuestos se usan para desplazar el máximo de la longitud de onda a cualquier lugar en la región de 375 a 1000 nm o más. Estos diodos producen un espectro continuo en un intervalo angosto de longitudes de onda. Por lo regular, el ancho total a la mitad del máximo de un LED es de 20 a 50 nm. Al igual que las fuentes espectroscópicas, estos diodos se pueden usar como fuentes “semicromáticas” o junto con filtros de interferencias para hacer aún más angosta la salida del espectro. Pueden trabajar en modo continuo o en modo pulsado.

También hay diodos emisores de luz “blancos”, en los cuales la luz procedente de un diodo azul (InGaN) choca contra un luminóforo o centelleador, que emite

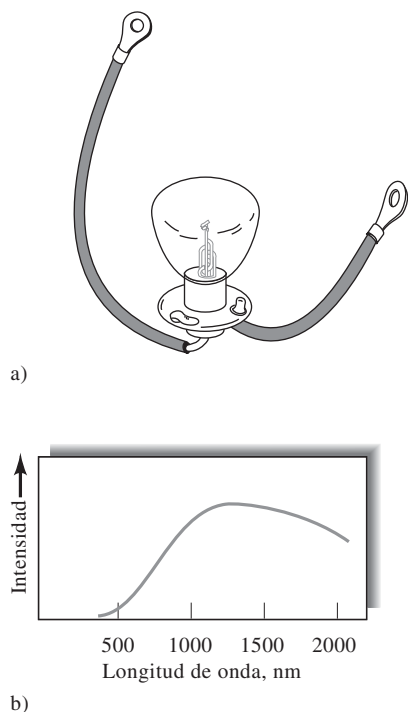


FIGURA 13.12 a) Lámpara de tungsteno del tipo que se usa en espectroscopia y b) su espectro. Por lo regular, la intensidad de la fuente de tungsteno es baja a longitudes de onda más cortas que 350 nm. Observe que la intensidad alcanza un máximo en la región del infrarrojo cercano del espectro (~1200 nm en este caso).

un espectro continuo casi siempre en el intervalo de 400 a 800 nm. Este tipo de diodo se usa para fabricar productos de iluminación como lámparas de destellos. Tienen la ventaja de poseer vidas útiles más largas y afectan menos el ambiente que las lámparas de filamento de tungsteno.

Lámparas de arco de xenón. Estas lámparas producen una radiación intensa al pasar la corriente a través de una atmósfera de xenón. El espectro es continuo en un intervalo comprendido entre casi 200 y 1000 nm, con el máximo de intensidad a alrededor de 500 nm (véase figura 6.22). En algunos instrumentos, la lámpara funciona en forma intermitente mediante descargas regulares que proceden de un condensador. Se obtienen altas intensidades.

Recipientes para la muestra

Al igual que los demás elementos ópticos de un instrumento de absorción, las celdas o cubetas en las que se coloca la muestra y el disolvente deben ser de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Por consiguiente, como se muestra en la figura 7.2a, se requiere cuarzo o sílice fundido para trabajar en la región ultravioleta (abajo de 350 nm). Ambas sustancias son transparentes en la región visible y en la región del infrarrojo cercano, hasta alrededor de 3 μm . Los vidrios de silicato se emplean en la región entre 350 y 2000 nm. Se pueden utilizar también recipientes de plástico en la región visible.

Las mejores celdas tienen ventanas perfectamente perpendiculares a la dirección del haz para reducir al mínimo las pérdidas por reflexión. La longitud de la trayectoria más común para los estudios en las regiones ultravioleta y visible es de 1 cm. Varias casas comerciales suministran celdas de este tamaño, ajustadas y calibradas. También se pueden adquirir cubetas de otras medidas, desde 0.1 cm, e incluso menores, hasta 10 cm. Y también hay espaciadores transparentes para acortar la longitud de la trayectoria de las cubetas de 1 cm y convertirla en 0.1 cm.

Por ser baratas, a veces se emplean las cubetas cilíndricas en las regiones ultravioleta y visible. Hay que poner especial cuidado en repetir la posición de la cubeta respecto al haz, ya que de lo contrario, las variaciones en la longitud de la trayectoria y en las pérdidas por reflexión en las superficies curvas pueden causar errores importantes.

La calidad de las medidas de absorbancia depende en gran medida del uso y mantenimiento que se haga de las cubetas. Las huellas dactilares, la grasa u otras señales sobre las paredes de las celdas alteran las características de transmisión. Por tanto, es indispensable una limpieza completa antes y después de usarlas. La superficie de las ventanas no debe tocarse

durante su manipulación. Las cubetas ajustadas nunca se deben secar mediante la acción del calor, en un horno o sobre una llama, ya que este tratamiento puede causar daños físicos o cambios en la longitud de la trayectoria. Las celdas se deben calibrar regularmente entre sí con una solución absorbente.

13D.2 Tipos de instrumentos

En esta sección se describen en forma breve cuatro tipos generales de instrumentos espectroscópicos: 1) de haz sencillo, 2) de doble haz espacial, 3) de doble haz temporal y 4) multicanal.

Instrumentos de haz sencillo

La figura 13.13a es un esquema de un instrumento de haz sencillo para mediciones de absorción. Consta de una lámpara de tungsteno o de deuterio, un filtro o un monocromador para seleccionar la longitud de onda, cubetas ajustadas que pueden interponerse de manera alternada en el haz de radiación, uno de los transductores descritos en la sección 7E, un amplificador y un dispositivo de lectura. Por lo regular, un instrumento de haz sencillo necesita una fuente de alimentación estabilizada para evitar errores como resultado de los cambios en la intensidad del haz durante el tiempo que se requiere para efectuar la medición de 100% de T y determinar el % T del analito.

Entre los instrumentos de haz sencillo hay grandes diferencias en cuanto a su complejidad y características de funcionamiento. El más sencillo y más barato consta de una bombilla de tungsteno conectada a una batería, como fuente de radiación, un conjunto de filtros de vidrio para la selección de la longitud de onda, tubos de ensayo donde se coloca la muestra, una celda fotovoltaica como transductor y un pequeño medidor analógico como dispositivo de lectura. En el otro extremo están los instrumentos complejos, controlados mediante computadora, que funcionan en un intervalo de longitudes de onda de 200 a 1000 nm o más. Estos espectrofotómetros utilizan como fuentes intercambiables lámparas de tungsteno o de deuterio, celdas de sílice rectangulares y están equipados con un monocromador de red de alta resolución y rendijas variables. Como transductores se emplean tubos fotomultiplicadores y la señal de salida, a menudo, se digitaliza, se procesa y se almacena en una computadora para que pueda imprimirse o registrarse de diversas formas.

Instrumentos de doble haz

Muchos fotómetros y espectrofotómetros modernos se basan en un diseño de haz doble. En la figura 13.13b se ilustra un instrumento de doble haz en el espacio en el cual se forman dos haces mediante un espejo en

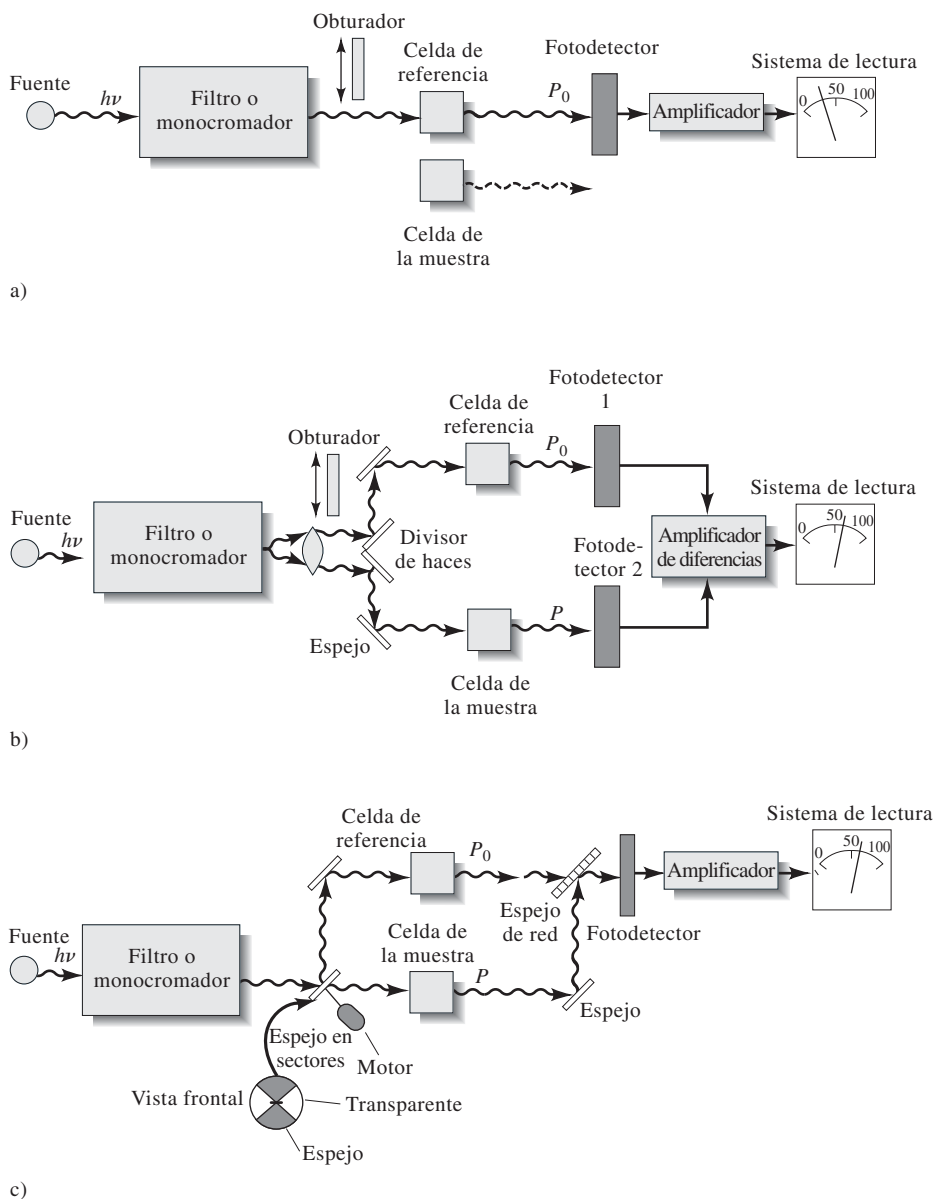


FIGURA 13.13 Diseños instrumentales de fotómetros o espectrofotómetros para la región UV-visible. En a) se ilustra un instrumento de un solo haz. La radiación procedente del filtro o monocromador atraviesa la celda de referencia o la celda con la muestra antes de chocar con el fotodetector. En b) se ilustra un instrumento de doble haz. En este caso, la radiación proveniente del filtro o monocromador se divide en dos haces que atraviesan de manera simultánea las celdas de referencia y de la muestra antes de chocar con los fotodetectores que se han hecho corresponder. En el caso del instrumento de doble haz temporal c), el envío del haz se alterna entre la celda de referencia y la celda que contiene a la muestra antes de chocar con el fotodetector único. Sólo unos milisegundos separan a los haces cuando atraviesan las dos celdas.

forma de V llamado *divisor de haz*. Un haz pasa a través de la solución de referencia y continúa hasta un fotodetector. En forma simultánea, el segundo rayo

atraviesa la muestra hasta un segundo detector ajustado. Las dos señales de salida se amplifican y su cociente, o bien, el logaritmo de su cociente, se determina de manera electrónica y se representa mediante un dispositivo de lectura. En el caso de los instrumentos manuales, la medida consta de dos etapas, a saber, primero



Ejercicio: aprenda más acerca de los **instrumentos de un solo haz, de dos haces y de varios canales**.

el ajuste del cero mediante un obturador entre el selector y el divisor de haz, en segundo lugar ocurre la apertura del obturador y la lectura directa de la transmitancia o absorbancia en el sistema de medición.

En la figura 13.13c se ilustra el segundo tipo de instrumentos de doble haz. En este caso, los haces se separan en el tiempo mediante un espejo giratorio en sectores que dirige primero todo el haz que emerge del monocromador a través de la celda de referencia y luego a través de la celda de la muestra. Los impulsos de radiación se recombinan mediante otro espejo en sectores que transmite un impulso y refleja el otro hacia el transductor. Como se muestra en la figura 13.13c con la descripción “vista frontal”, el espejo en sectores accionado por motor está formado por segmentos de círculo, y la mitad de ellos está pulida y la otra mitad es transparente. Las secciones especulares se sostienen en su lugar mediante armazones de metal ennegrecido que interrumpe periódicamente el haz para evitar que llegue al transductor. El circuito de detección está programado para que en estos periodos se efectúe el ajuste de la corriente residual. Este enfoque del doble haz en el tiempo se prefiere sobre todo porque es difícil hacer corresponder dos detectores necesarios para el diseño de doble haz en el espacio.

Los instrumentos de doble haz ofrecen la ventaja de que compensan todo menos la mayoría de las fluctuaciones cortas en la salida radiante de la fuente, así como la deriva en el transductor y el amplificador. También compensan las grandes variaciones de intensidad de la fuente con la longitud de onda (véanse figuras 13.11 y 13.12). Además, el diseño de doble haz permite el registro continuo de espectros de transmitancia o absorbancia.

Instrumentos de varios canales

Un nuevo tipo de espectrofotómetro apareció en el mercado a principios de los años ochenta, se basa en uno de los detectores en serie (fotodiodos en serie o dispositivos de acoplamiento de carga) que se trataron en la sección 7E. Por lo general, estos instrumentos se apegan al diseño de un solo haz que se ilustra en la figura 13.14. Con los sistemas multicanal, el sistema dispersor es un espectrógrafo de red colocado después de la celda de la muestra o de la celda de referencia. El detector en serie se instala en el plano focal del espectrógrafo, en donde choca la radiación dispersada.

Los fotodiodos en serie que se estudiaron en la sección 7E.3 constan de un acomodo lineal de varios cientos de fotodiodos (256, 512, 1024, 2048) que están colocados a lo largo de un *chip* de silicio. Por lo regular, estos *chips* miden de 1 a 6 cm de longitud y la anchura

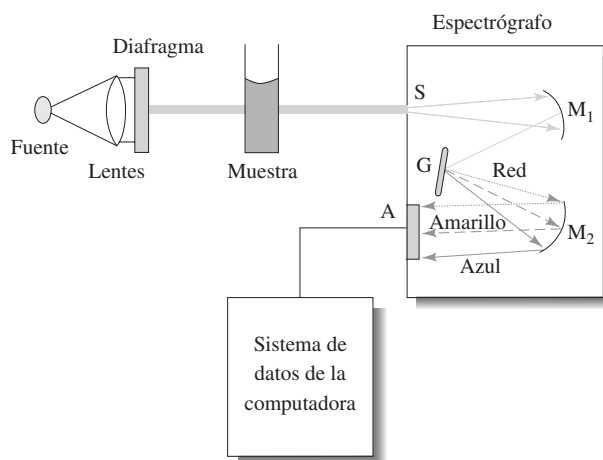


FIGURA 13.14 Diagrama de un espectrómetro multicanal que se basa en un espectrógrafo de red con un detector en serie. La radiación procedente de una fuente de tungsteno o deuterio se hace paralela y de tamaño reducido mediante las lentes y el diafragma. La radiación que transmite la muestra entra en el espectrógrafo a través de la rendija S. El espejo colimador M_1 hace paralelo al haz antes de que choque con la red G. La red dispersa la radiación en las longitudes de onda que la componen, las cuales son enfocadas gracias al espejo de enfoque M_2 en los fotodiodos en serie o en el dispositivo de acoplamiento de carga. La salida del detector en serie se procesa después con ayuda del sistema de datos de la computadora.

de los diodos es de 15 a 50 μm (véase figura 13.15). Los acomodos lineales de dispositivos de acoplamiento de carga están constituidos por 2048 elementos, y cada uno de ellos mide casi $\sim 14 \mu\text{m}$ de anchura. Los dispositivos de acoplamiento de carga lineales son mucho más sensibles que los fotodiodos y su comportamiento es más parecido a un acomodo lineal de tubos fotomultiplicadores en miniatura.



FIGURA 13.15 Diodos en serie, también llamados arreglo de diodos, de varios tamaños. (Cortesía de Hamamatsu Photonics, Bridgewater, NJ.)

Con los diseños de un solo haz, la corriente residual del acomodo se mide y se almacena en la memoria de la computadora. Luego se obtiene el espectro de la fuente y se almacena en la memoria después de sustraer la corriente residual. Para finalizar, se obtiene el espectro original de la muestra y, después de la sustracción de la corriente residual, los valores de la muestra se dividen entre los valores de la fuente para cada longitud de onda con el fin de obtener las absorbancias. Los instrumentos multicanal se pueden configurar también como espectrofotómetros de doble haz temporales.

Por lo general, la rendija de entrada del espectrógrafo de los instrumentos multicanal varía desde alrededor del ancho de uno de los elementos del acomodo a muchas veces este valor. Algunos espectrómetros carecen de rendija de entrada y utilizan en su lugar fibra óptica como la abertura de entrada. Los espectrómetros multicanal utilizan tanto fotodiodos en serie como dispositivos de acoplamiento de carga que tienen la capacidad de obtener un espectro completo en algunos milisegundos. En el caso de los detectores en serie, la luz puede ser integrada en un *chip* o se pueden promediar varios barridos en la memoria de la computadora para mejorar la relación señal-ruido.

Un instrumento multicanal es una poderosa herramienta para estudios de productos intermedios transitorios en reacciones moderadamente rápidas, para estudios cinéticos y para las determinaciones cualitativas y cuantitativas de los componentes que salen de una columna de cromatografía de líquidos o de una columna de electroforesis capilar. Asimismo, son útiles en los experimentos de barrido con fines generales. Algunos cuentan con los programas necesarios para analizar la dependencia del tiempo en cuatro o más longitudes de onda en los estudios cinéticos.

Los espectrofotómetros completos basados en los detectores en serie para usos generales tienen un precio en el comercio que varía de 5000 a 10 000 dólares e incluso más. Varias compañías que fabrican instrumentos combinan los sistemas de detectores en serie con ondas de fibra óptica que transporta luz hacia la muestra y desde ella.

13D.3 Algunos instrumentos típicos

En las secciones siguientes se describen algunos fotómetros y espectrofotómetros característicos. Se hizo una selección para ilustrar la gran variedad de diseños que existe.

Fotómetros

Los fotómetros constituyen una herramienta sencilla y relativamente barata para medir la absorción. Los fotómetros de filtros son a menudo más convenientes,

sencillos y fáciles de mantener y de utilizar que los espectrofotómetros más complejos. Además, es característico de los fotómetros su elevado rendimiento energético, y por tanto, la buena relación señal-ruido, incluso con transductores y circuitos relativamente sencillos y baratos. Los fotómetros de filtro son muy útiles, en particular en los instrumentos portátiles diseñados para uso de campo o para medir las absorbancias de corrientes que fluyen. Estos fotómetros también se utilizan en las determinaciones cuantitativas de los laboratorios clínicos.

Fotómetros para la región visible. En la figura 13.16 se presenta el esquema de dos fotómetros para la región visible o colorímetros. La figura superior ilustra un instrumento de haz sencillo y lectura directa formado por una lámpara de filamento de tungsteno o un diodo emisor de luz como fuente, una lente para proporcionar un haz de luz paralelo, un filtro y un transductor de fotodiodos. La corriente que produce el fotodiodo se procesa con equipo electrónico o mediante una computadora para que dé una lectura directa de la absorbancia (vea la foto) o bien, en algunos casos, la transmitancia. En casi todos los instrumentos, la corriente residual ($0\%T$) se obtiene al bloquear el haz luminoso mediante un obturador. El $100\%T$ ($0A$) se ajusta con un solvente o un blanco reactivo en la trayectoria de la luz. En algunos instrumentos, el ajuste $0A$ se efectúa cambiando el voltaje aplicado a la lámpara. En otros, se modifica el tamaño de la abertura del diafragma localizado en la trayectoria de la luz. Entonces, se inserta la muestra en dicha trayectoria. La mayor parte de los colorímetros modernos almacenan la señal de los fotodiodos para tener la referencia (proporcional a P_0) y calculan la relación de esta señal con la señal de los fotodiodos de la muestra (proporcional a la potencia radiante P). Para calcular la absorbancia se utiliza el logaritmo de la razón de estas señales (ecuación 13.3).

En la figura 13.17 se muestra un fotómetro moderno con diodos. En algunos instrumentos, la longitud de onda se modifica en forma automática al cambiar el diodo emisor de luz o el filtro. Algunos instrumentos trabajan sólo a una longitud de onda fija. La calibración se efectúa mediante dos o más patrones. El instrumento que se muestra es del diseño de longitud de onda fija con ancho de banda de 15 nm. Se encuentran también equipos que funcionan a longitudes de onda de 420, 450, 476, 500, 550, 600 y 650 nm.

La figura 13.16b es el esquema de un fotómetro de doble haz que se usa para medir la absorbancia de una muestra en una corriente que fluye. En este caso, el haz de luz se divide mediante fibra óptica de dos ramas, es decir, está bifurcada. Esta fibra óptica transmite casi 50% de la radiación que choca contra ella en la rama

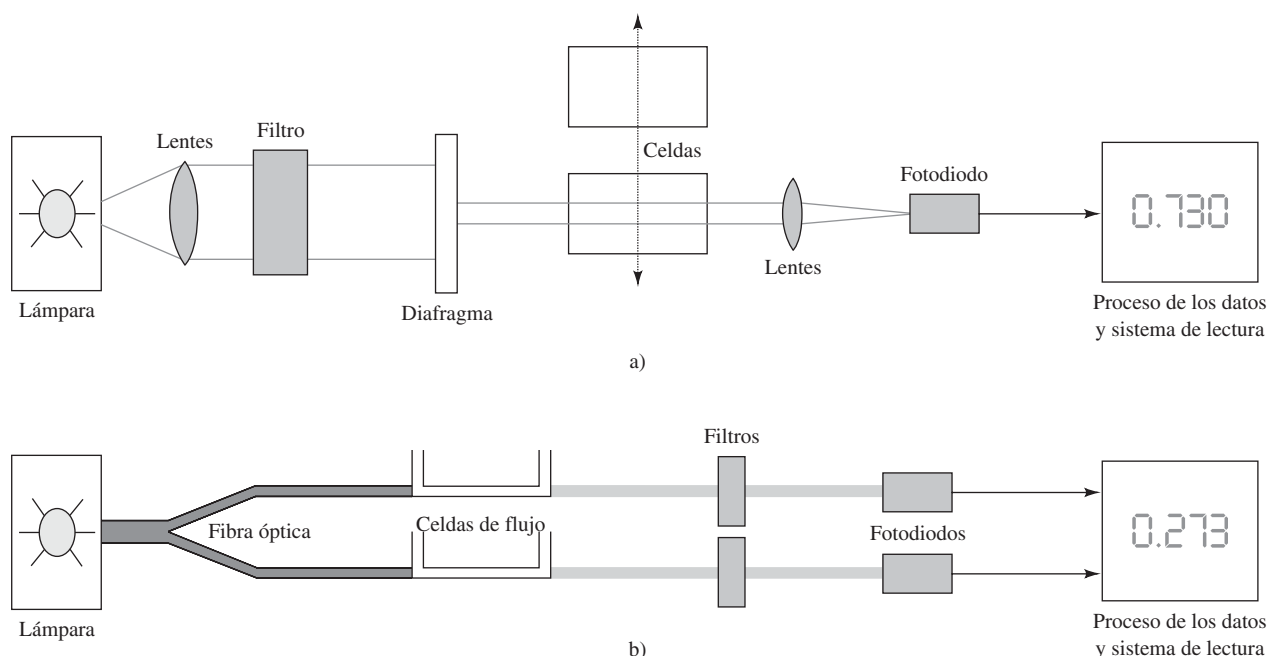


FIGURA 13.16 a) Fotómetro de un solo haz y b) fotómetro de doble haz para análisis de flujo. En el primer sistema, la celda de referencia se coloca primero en la trayectoria de la luz y luego se reemplaza por la celda que contiene la muestra. En el sistema de doble haz b) hay fibra óptica que divide el haz en dos ramas. Una pasa por la celda de la muestra y la otra por la celda de referencia. Se utilizan dos fotodiodos emparejados en esta configuración de doble haz en el espacio.

superior y casi 50% de la de la rama inferior. Un haz atraviesa la muestra y el otro pasa a través de la celda de referencia. Los filtros se colocan después de las celdas, pero antes de los transductores de fotodiodos. Note que este es el diseño del doble haz espacial, el cual requiere fotodiodos con respuesta casi idéntica. Las

salidas eléctricas procedentes de los dos fotodiodos se transforman en voltajes y las señales se procesan por medio de un amplificador de gran relación o mediante una computadora con el fin de obtener una lectura proporcional a la absorbancia.



FIGURA 13.17 Fotografía de un colorímetro sencillo con diodos emisores de luz. (Hach Company, USA.)

Fotómetros tipo sonda. En la figura 13.18 se proporciona una fotografía y un esquema de un interesante fotómetro de puntas sumergibles, que ya se puede conseguir en el comercio y que utiliza fibra óptica para transmitir la luz desde la fuente hasta una capa de solución que se encuentra entre el vidrio sellado en el extremo de la fibra y un espejo. La radiación que refleja el espejo pasa por una segunda fibra de vidrio hasta alcanzar el detector de fotodiodos. El fotómetro tiene incorporado un amplificador con un cortador electrónico que está sincronizado con la fuente luminosa. Como resultado, el fotómetro no responde a radiaciones extrañas. Se suministran seis filtros para insertar y una rueda con seis filtros de interferencia; se puede seleccionar entre ellos según la aplicación. También se puede disponer de los filtros a gusto del cliente. Las puntas de la sonda se fabrican de acero inoxidable, acero inoxidable Swagelok® Stainless Steel, Pyrex®, y plástico Lexan® Plastic resistente a los ácidos. Las longitudes de las trayectorias de la luz varían entre 1 mm y 10 cm.

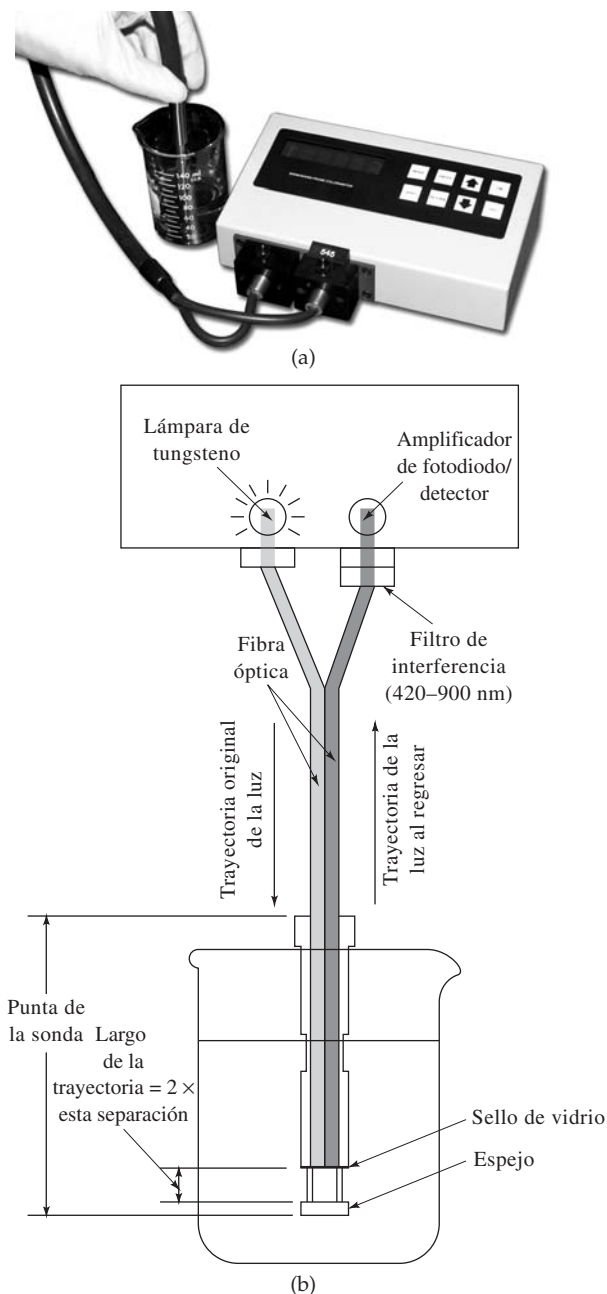


FIGURA 13.18 a) Fotografía y b) diagrama de un fotómetro tipo sonda. (Cortesía de Brinkman Instruments, Inc.)

La absorbancia se mide sumergiendo la sonda primero en el solvente y luego en la solución que se desea valorar. El dispositivo es particularmente útil para las titulaciones fotométricas (sección 14E).

Selección del filtro. Los fotómetros de uso general se suministran con varios filtros, cada uno de los cuales transmite en diferentes zonas del espectro visible. Es importante seleccionar el filtro apropiado para ca-

da aplicación porque la sensibilidad de la medida depende directamente de dicha elección. Por lo regular, en el caso de un nuevo método analítico, el espectro de absorción de la solución que se desea analizar se toma con un espectrofotómetro de barrido. El filtro que se acerca más a la longitud de onda de la absorción máxima es el que se elige. En algunos casos, las mediciones se hacen lejos de la absorción máxima para reducir al mínimo la interferencia. Siempre que sea posible, las mediciones se hacen cerca de la absorción máxima para reducir al mínimo las desviaciones de la ley de Beer por la radiación policromática (sección 13B.2).

Cuando no se cuenta con un espectrofotómetro que ayude a seleccionar el filtro, se elige uno recordando que el color de la luz absorbida es el complementario del color de la solución. Por ejemplo, una solución se ve roja porque transmite la zona roja del espectro pero absorbe la verde. Es la intensidad de la radiación verde la que varía con la concentración. Por tanto, se debería emplear un filtro verde. En general, el filtro más apropiado será el del color complementario al de la solución que se quiere analizar.

Fotómetros de absorción ultravioleta

Con frecuencia, los fotómetros ultravioleta sirven como detectores en cromatografía para líquidos de alta resolución. Para esta aplicación, la fuente que se utiliza por lo regular es la lámpara de vapor de mercurio, y la línea de emisión a 254 nm se aísla mediante filtros. Este tipo de detector se describe brevemente en la sección 28C.6.

En las plantas industriales, se dispone también de fotómetros ultravioleta para el control continuo de la concentración de uno o más componentes de una corriente de gas o de líquido. Los instrumentos son de doble haz en el espacio (véase figura 13.16b) y a menudo utilizan una de las líneas de emisión del mercurio, que se ha aislado mediante un sistema de filtros. Entre las aplicaciones características están la determinación de bajas concentraciones de fenol en aguas residuales, el control de la concentración de cloro, mercurio e hidrocarburos aromáticos en gases y la determinación de la relación entre el sulfuro de hidrógeno y el dióxido de azufre en la atmósfera.

Espectrofotómetros

En el comercio existen numerosos espectrofotómetros. Algunos están diseñados sólo para la región visible; otros se pueden utilizar en las regiones ultravioleta y visible. Otros tienen la capacidad de medir desde la región ultravioleta hasta la del infrarrojo cercano (de 190 a 3000 nm).

Instrumentos para la región visible. En el mercado existen varios espectrofotómetros diseñados para trabajar en el intervalo de longitudes de onda de alrededor de 380 a 800 nm. Con frecuencia, estos instrumentos son de red, sencillos, de un solo haz y relativamente baratos: desde menos de 1000 a quizá 3000 dólares, y se transportan con facilidad. Al menos uno funciona con baterías, y es lo suficientemente ligero y pequeño para ser portátil. La aplicación más común de estos instrumentos es el análisis cuantitativo, aunque algunos de ellos proporcionan también buenos espectros de absorción.

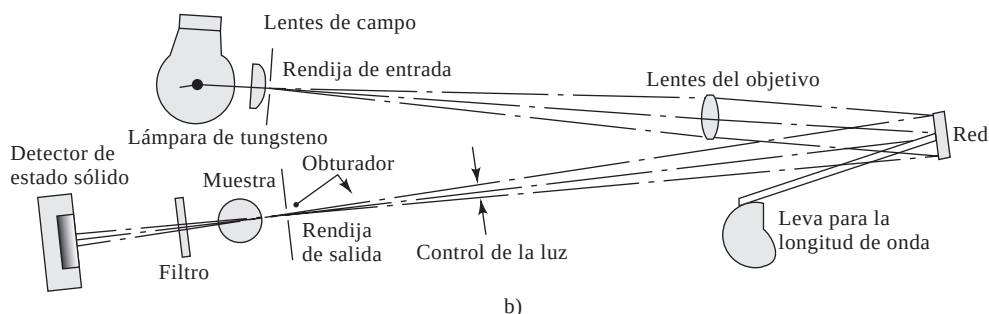
En la figura 13.19 se ilustra un espectrofotómetro sencillo y barato, el Spectronic 20. La versión original

de este instrumento apareció en el mercado a mediados de los años cincuenta, y la versión modificada, que se muestra en la figura, todavía se fabrica y se vende mucho. En la actualidad, se usan en todo el mundo más instrumentos de este tipo que de cualquier otro modelo de espectrofotómetro. Debe su popularidad, en particular como herramienta para la enseñanza, a que es relativamente barato, resistente y sus características de funcionamiento son satisfactorias.

El Spectronic 20 consta de una fuente luminosa de filamento de tungsteno que trabaja mediante una fuente de alimentación estabilizada, la cual proporciona radiación de intensidad constante. Después de la difracción en una red de reflexión sencilla, la radiación



a)



b)

FIGURA 13.19 a) Espectrofotómetro Spectronic 20 y b) diagrama de su sistema óptico. La radiación que proviene de la fuente de filamento de tungsteno atraviesa una rendija de entrada en el monocromador. Una red de reflexión difracta la radiación y la banda de longitud de onda atraviesa la rendija de salida en la cámara de la muestra. Un detector de estado sólido transforma la intensidad de la luz en una señal eléctrica que es amplificada y desplegada en una pantalla. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Madison, WI.)

atraviesa la celda de la muestra o de la referencia y llega a un detector de estado sólido. El Spectronic 20 da la lectura de transmitancia o de absorbancia en una pantalla de diodos emisores de luz, o bien, en el caso del modelo analógico, la transmitancia se lee en un medidor.

El instrumento está equipado con un dispositivo oclusivo, un aspa que se interpone automáticamente entre el haz y el detector siempre que se retira la celda del portamuestras; en estas condiciones se puede hacer el ajuste de 0% T . Como se muestra en la figura 13.20, el dispositivo que controla la luz en el Spectronic 20 está constituido por una muesca con forma de V que se puede mover hacia el interior del haz o hacia fuera del mismo, y de ese modo ajustar el medidor a 100% de T .

Para obtener la lectura de porcentaje de transmitancia, el sistema de lectura se pone en ceros y el compartimiento de la muestra debe estar vacío, de tal modo que el dispositivo oclusivo impida el paso del haz y la radiación no llegue al detector. Este proceso se llama *calibración de 0% de T o ajuste*. Una celda que contiene el blanco, casi siempre un solvente, se inserta en el portamuestras y el indicador se lleva a la marca de 100% de T ajustando la posición de la abertura del control de la luz y, por consiguiente, la cantidad de ella que llega al detector. Este ajuste se llama *calibración de 100% de T o ajuste*. Para finalizar, la muestra se coloca en el compartimiento de la celda y se lee directamente la transmitancia o la absorbancia en la pantalla de diodos emisores de luz.

El intervalo espectral que abarca el Spectronic 20 va de 400 a 900 nm. En otras de las especificaciones está un pasabanda espectral de 20 nm, una exactitud en la longitud de onda de ± 2.5 nm y una exactitud fotométrica de $\pm 4\%$ T . El instrumento se puede conectar a una computadora para almacenar datos y analizarlos, si es que se cuenta con esta opción.

Instrumentos de haz único para la región ultravioleta/visible. Varios fabricantes ofrecen instrumentos de un

solo haz sin registrador que pueden utilizarse tanto para medidas en la región ultravioleta como en la visible. Los extremos inferiores de longitudes de onda de estos instrumentos varían de 190 a 210 nm y el superior de 800 a 1000 nm. Todos están equipados con lámparas intercambiables de tungsteno y de hidrógeno o deuterio. La mayoría utiliza tubos fotomultiplicadores o fotodiodos como transductores y redes como elementos dispersantes. En la actualidad, los sistemas de lectura son digitales en casi todos estos espectrofotómetros; el precio de los equipos varía entre 2000 y 8000 dólares.

Como cabría esperar, las características técnicas de trabajo difieren de manera considerable de unos instrumentos a otros y guardan relación, al menos en algún grado, con el precio del mismo. Los anchos de banda suelen variar de 2 a 8 nm; se han dado a conocer exactitudes en la longitud de onda de ± 0.5 a ± 2 nm.

Los diseños ópticos de diversos instrumentos de red no difieren mucho de los que se muestran en las figuras 13.13a y 13.19. Sin embargo, hay un fabricante que utiliza una red cóncava en lugar de una plana, lo que da por resultado un diseño más sencillo y compacto. Las redes holográficas ya están presentes en muchos espectrofotómetros.

Espectrofotómetros de haz único computarizados. Varios fabricantes ofrecen espectrofotómetros de haz sencillo, con registrador y controlados por computadora, que trabajan en la región ultravioleta-visible. Con estos instrumentos se realiza primero un barrido de longitudes de onda con la solución de referencia en la trayectoria del haz. La señal de salida del transductor se digitaliza y se almacena en la memoria de la computadora. Después se realiza el barrido de la muestra y se calcula la absorbancia con la ayuda de los datos de la solución de referencia almacenados. El espectro completo se despliega a los pocos segundos después de la adquisición de datos. Puesto que los espectros de la referencia y de la muestra se toman a diferentes tiempos, se requiere que la intensidad de la fuente sea constante. La computadora incorporada a estos instrumentos ofrece varias opciones relacionadas con el proceso de los datos y la presentación de los mismos como logaritmo de la absorbancia, transmitancia, derivadas, espectros superpuestos, barridos repetitivos, cálculo de concentraciones, localización de picos, determinación de alturas y medidas cinéticas.

Como ya se mencionó, los instrumentos de un solo haz tienen las ventajas inherentes de un mayor rendimiento energético, relaciones señal-ruido superiores y compartimientos con menos aglomeración de muestras. Por otra parte, los instrumentos de doble haz que

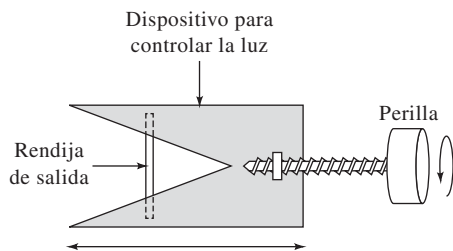


FIGURA 13.20 Vista posterior de la rendija de salida del espectrofotómetro Spectronic 20 que se ilustra en la figura 13.19.

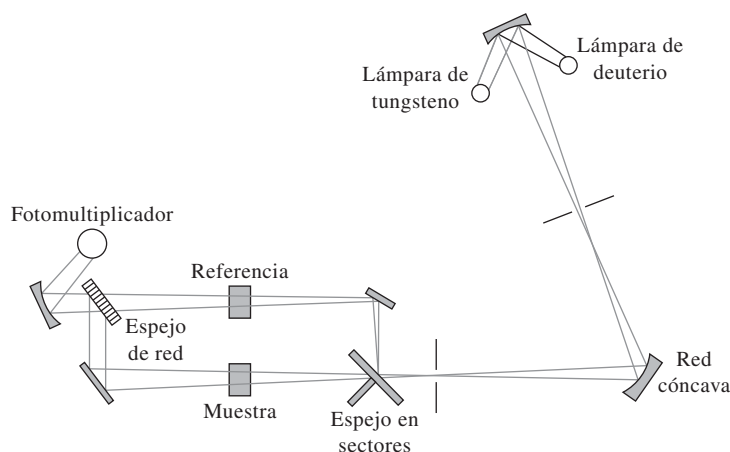


FIGURA 13.21 Esquema de un espectrofotómetro común manual de doble haz para la región UV-visible.

se describen a continuación proveen un mejor aplanamiento de la línea de referencia y mejor estabilidad a largo plazo que los sistemas de un solo haz. Los espectrofotómetros de más alta calidad todavía utilizan el diseño de doble haz.

Instrumentos de doble haz. En la actualidad hay numerosos espectrofotómetros de doble haz para la región ultravioleta-visible del espectro. En general, estos instrumentos son más caros que los de haz sencillo, y sin registrador pueden costar de 5000 a 30 000 dólares.

En la figura 13.21 se muestran los detalles de construcción de un espectrofotómetro manual típico de doble haz para la región UV-visible, relativamente barato. En este instrumento la radiación se dispersa por medio de una red cóncava, que enfoca también el haz sobre un espejo en sectores giratorio. El diseño

del instrumento es similar al que se muestra en la figura 13.13c.

El intervalo de longitudes de onda del instrumento es de 195 a 850 nm, un ancho de banda de 4 nm, una exactitud fotométrica de 0.5% de T y una reproducibilidad de 0.2% A ; la radiación parásita es menor de 0.1% de P_0 a 240 y 340 nm. Diversas compañías ofrecen varios instrumentos similares a éste que son muy adecuados para trabajos cuantitativos en los que no es necesario obtener el espectro completo.

En la figura 13.22 se muestra el diseño óptico del Varian Cary 100, un espectrofotómetro más complejo, de doble haz en el tiempo y con registrador. Contiene una red plana de 30×35 mm con 1200 líneas/mm. Su intervalo de longitudes de onda va de 190 a 900 nm. Se pueden elegir anchos de banda de 0.2 a 4.00 nm en pasos de 0.1 nm por medio de un sistema de control

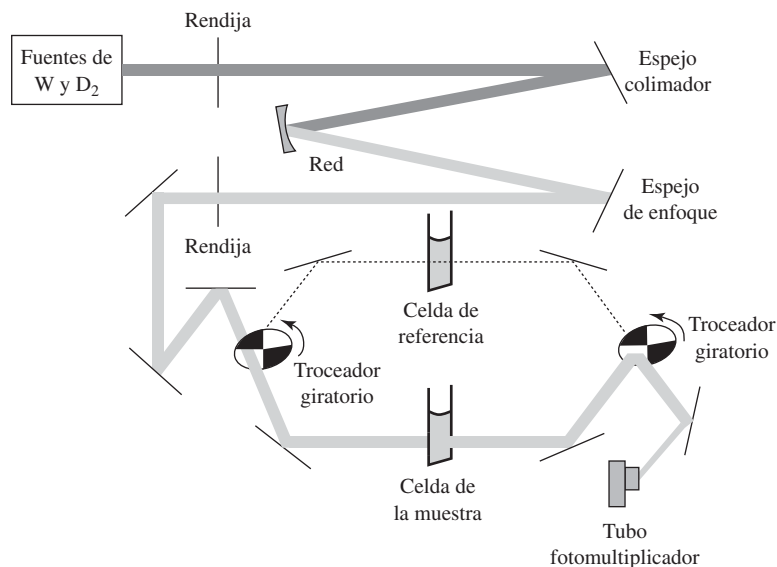


FIGURA 13.22 Esquema del espectrofotómetro de doble haz Varian Cary 100 para la región UV-visible. La radiación proveniente de una de las fuentes atraviesa una rendija de entrada en el monocromador de red. Después de que sale del monocromador, un troceador divide la radiación en dos haces. El troceador contiene un segmento transparente y un segmento pulido además de los dos segmentos oscuros. Después de que los haces atraviesan las celdas, un segundo troceador los recombina y chocan contra el tubo fotomultiplicador en momentos diferentes. El tubo fotomultiplicador ve la siguiente sucesión: haz de la muestra, oscuridad, haz de la referencia, oscuridad. (Cortesía de Varian Inc., Palo Alto, CA.)

que funciona mediante un motor. El instrumento tiene una exactitud fotométrica de $\pm 0.00016 A$; su radiación parásita es menor que 0.0013% de P_0 a 370 nm y 0.0074% a 220 nm. Los valores de absorbancia van de 0 a 3.7 unidades de absorbancia. Su funcionamiento es mucho mejor que el del instrumento de doble haz de la figura 13.21. Su precio es también más alto.

Instrumentos de doble dispersión. Con el fin de mejorar la resolución espectral y conseguir una notable reducción de la radiación dispersada se ha diseñado una diversidad de instrumentos con dos redes colocadas en serie con una rendija entre ellos. Entonces, en realidad estos instrumentos constan de dos monocromadores configurados en serie.

El Varian Cary 300 que se muestra en la figura 13.23 está equipado con un premonocromador enfrente del mismo instrumento de doble haz en el tiempo que se muestra en la figura 13.22. El segundo monocroma-

dor reduce los niveles de luz parásita a 0.000041% a 370 nm y 0.00008% a 220 nm. Esto amplía el intervalo de absorbancia a 5.0 unidades de absorbancia. La mayor parte de las otras características son idénticas a las del Varian Cary 100. Ambas unidades cuentan con un trocador doble que asegura trayectorias de luz casi idénticas para ambos haces. Los dos haces chocan contra el tubo fotomultiplicador esencialmente en el mismo punto, lo cual reduce al mínimo los errores debidos a que el fotocátodo no es uniforme.

Instrumentos multicanal. Los detectores con diodos en serie empezaron a aparecer en los espectrofotómetros para las regiones UV-visible en los años ochenta. Con una configuración de diodos en serie, o los más recientes dispositivos de acoplamiento de carga, que se sitúan en el plano focal de un espectrógrafo, se puede obtener un espectro mediante un barrido electrónico en lugar de uno mecánico. Todos los datos puntuales

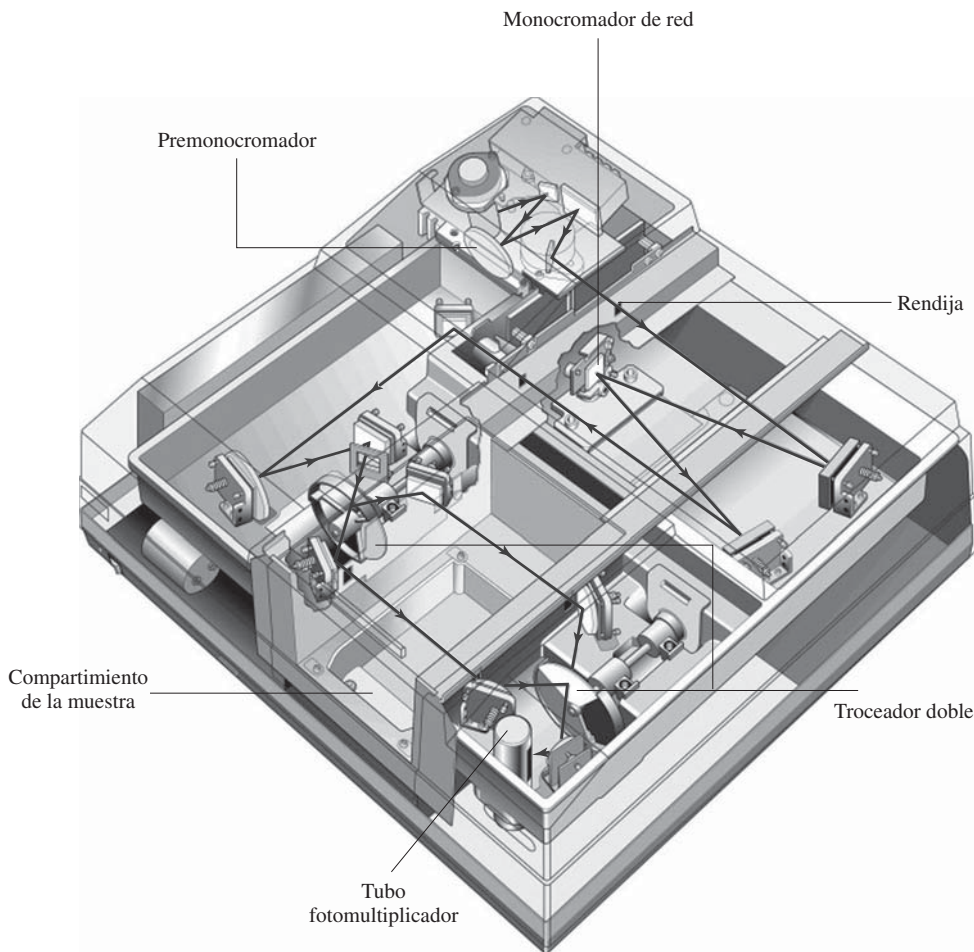


FIGURA 13.23 Diagrama óptico del espectrofotómetro de doble dispersión Varian Cary 300. En esencia, el instrumento es idéntico al que se muestra en la figura 13.22, excepto en que hay un segundo monocromador inmediatamente después de la fuente. (Varian Inc., Palo Alto, CA.)

necesarios para definir un espectro se pueden recoger de manera simultánea. El concepto de los instrumentos multicanal es atractivo por la velocidad potencial a la que se pueden obtener los espectros, así como por la posibilidad de utilizarlos en las determinaciones simultáneas de varios componentes. En la actualidad varias compañías de instrumentación ofrecen estos equipos como espectrofotómetros grandes o en versiones miniatura.

En la figura 13.24 se presenta una fotografía de un espectrómetro de fibra óptica equipado con un acoplamiento de dispositivos de acoplamiento de carga. El diagrama óptico es similar al que se muestra en la figura 13.14, excepto que la fibra óptica se usa para transportar la radiación hacia la muestra y desde la misma. En la versión que se muestra, el espectrómetro está fuera de la computadora. La salida de esta configuración se conecta a un convertidor de señales analógicas en digitales que está en la computadora. En otros modelos, el espectrómetro contiene al convertidor y las interfases de la computadora mediante puertos USB. Su costo varía entre 1800 y 5000 dólares.

En el mercado ya se encuentran fuentes de tungsteno y de deuterio para el espectrofotómetro que se muestra en la figura 13.24. Con el deuterio, la longitud de onda varía de 200 a 400 nm. Con la fuente de tungsteno, esos valores son de 360 a 850 nm. También está disponible una fuente combinada de deuterio y de

tungsteno-halógeno con un intervalo de valores para la longitud de onda de 200 a 1100 nm. Hay alrededor de 14 redes junto con seis rendijas de entrada. No se requiere rendija de entrada con el acoplamiento de fibra óptica. La resolución del espectrómetro depende de la dispersión de la red y de la abertura de entrada.

En la figura 13.25 se ilustra un espectrofotómetro independiente con diodos en serie. Este instrumento cuenta con una fuente de deuterio para la región UV-visible (190 a 800 nm) y con una lámpara de tungsteno para la región del infrarrojo cercano visible (370 a 1100 nm). Un dispositivo oclusivo bloquea la radiación de la fuente colimada o deja que atraviese hasta la celda de la muestra. Se puede instalar un filtro para conseguir la corrección por luz parásita. El espectrógrafo consta de rendija de entrada, red y un detector de diodos en serie. Se utiliza una configuración de fotodiodos de 1024 elementos. El ancho de banda nominal del espectrofotómetro es de 1 nm en un intervalo de 190 a 1100 nm. La luz parásita es menor que 0.05% a 220 nm y menor que 0.03% a 340 nm.

Con el espectrofotómetro de la figura 13.25 los tiempos de barrido pueden ser de apenas 0.1 s, pero lo más característico es que el instrumento esté expuesto durante 1 a 1.5 s. Con tan corto tiempo de exposición, la fotodescomposición de las muestras se reduce al mínimo a pesar de que la muestra esté ubicada entre la fuente y el monocromador. La estabilidad de la fuente

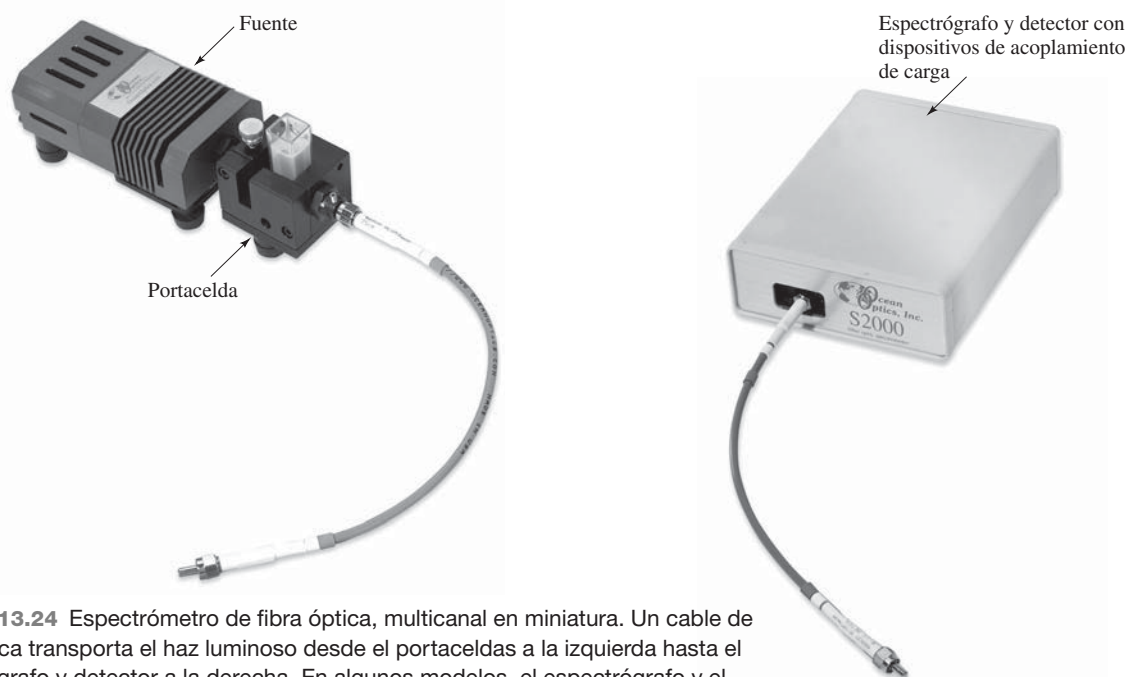


FIGURA 13.24 Espectrómetro de fibra óptica, multicanal en miniatura. Un cable de fibra óptica transporta el haz luminoso desde el portaceldas a la izquierda hasta el espectrógrafo y detector a la derecha. En algunos modelos, el espectrógrafo y el detector están montados en una tarjeta de circuitos que se inserta en la computadora. (Cortesía de Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL.)

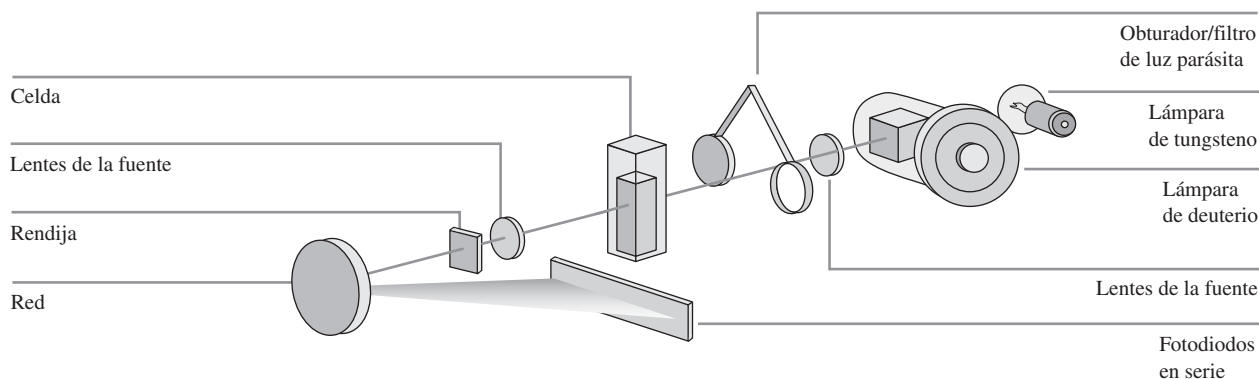


FIGURA 13.25 Espectrofotómetro multicanal de diodos en serie, el Agilent Technologies 8453. (Cortesía de Agilent Technologies, Palo Alto, CA.)

y del sistema electrónico es tal que la señal del solvente requiere ser observada y almacenada sólo cada 5 a 10 min.

El espectrofotómetro que se muestra en la figura 13.25 está diseñado para poder acoplarse a la mayo-

ría de los sistemas de computadoras personales. El instrumento, sin la computadora, se vende en alrededor de 10 000 dólares. El precio exacto depende de los accesorios y opciones.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

☒ Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor usando hojas de cálculo.

***13.1** Expresé las siguientes absorbancias en función de porcentaje de transmitancia:

a) 0.038	d) 0.241
b) 0.958	e) 0.435
c) 0.399	f) 0.692

***13.2** Convierta los siguientes datos de transmitancia en:

a) 15.8%	d) 23.8%
b) 0.492	e) 0.085
c) 39.4%	f) 5.38%

***13.3** Calcule el porcentaje de transmitancia de las soluciones cuyas absorbancias son la mitad de las del problema 13.1.

***13.4** Calcule la absorbancia de las soluciones cuyos porcentajes de transmitancia son el doble de los del problema 13.2.

***13.5** Una solución que contiene 6.23 ppm KMnO_4 presenta una transmitancia de 0.195 en una celda de 1.00 cm a 520 nm. Calcule la absorptividad molar del KMnO_4 a 520 nm.

13.6 Una solución que contiene 5.24 mg/100 mL de A (335 g/mol) presenta una transmitancia de 55.2% en una celda de 1.50 cm a 425 nm. Calcule la absorptividad molar de A en esta longitud de onda.

***13.7** La absorptividad molar de una solución del complejo formado por Bi(III) y tiourea es de $9.32 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 470 nm.

- a) ¿Cuál es la absorbancia de una solución 3.79×10^{-5} M de este complejo si se mide a 470 nm en una celda de 1.00 cm?
- b) ¿Cuál es el porcentaje de transmitancia de la solución que se describe en a)?
- c) ¿Cuál es la concentración molar del complejo en una solución que presenta la absorbancia descrita en a) cuando se mide a 470 nm en una celda de 2.50 cm?
- *13.8** El complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ cuya longitud de onda de máxima absorción es 580 nm, tiene una absorptividad molar de $7.00 \times 10^3 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Calcule
- a) la absorbancia a 580 nm de una solución del complejo 3.49×10^{-5} M si se mide en una celda de 1.00.
- b) la absorbancia de una solución en una celda de 2.50 cm en la cual la concentración del complejo es la mitad que la del inciso a).
- c) el porcentaje de transmitancia de las soluciones descritas en a) y b).
- d) la absorbancia de una solución cuya transmitancia es la mitad de la descrita en a).
- *13.9** Una alícuota de 2.50 mL de una solución que contiene 7.9 ppm de $\text{Fe}(\text{III})$ se trata con exceso de KSCN para formar el complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ y se diluye hasta 50.0 mL. ¿Cuál es la absorbancia de la solución resultante a 580 nm si se mide en una celda de 2.50 cm? Véanse en el problema 13.8 los datos de absorptividad.
- 13.10** El $\text{Zn}(\text{II})$ y el ligando L forman un complejo 1:1 que absorbe fuertemente a 600 nm. Cuando la concentración molar de L supera a la del $\text{Zn}(\text{II})$ en un factor de 5, la absorbancia depende sólo de la concentración de cationes. Ni el $\text{Zn}(\text{II})$ ni L absorben a 600 nm. Una solución compuesta por 1.59×10^{-4} M de zinc(II) y 1.00×10^{-3} M de L presenta una absorbancia de 0.352 en una celda de 1.00 cm a 600 nm. Calcule
- a) el porcentaje de transmitancia de esta solución.
- b) el porcentaje de transmitancia de esta solución medida en una celda de 2.50 cm.
- c) la absorptividad molar del complejo.



- 13.11** La constante de equilibrio del par conjugado ácido/base



es 8.00×10^{-5} . A partir de la información adicional de la siguiente tabla

- a) calcule la absorbancia a 430 nm y a 600 nm para las concentraciones siguientes del indicador: 3.00×10^{-4} M, 2.00×10^{-4} M, 1.00×10^{-4} M, 0.500×10^{-4} M y 0.250×10^{-4} M.
- b) grafique la absorbancia en función de la concentración del indicador.

Especie	Máximo de absorción, nm	Absorptividad molar	
		430 nm	600 nm
HIn	430	8.04×10^3	1.23×10^3
In ⁻	600	0.775×10^3	6.96×10^3



- 13.12** La constante de equilibrio de la reacción



es 4.2×10^{14} . Las absorptividades molares de las dos especies principales de una solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ son

λ	$\epsilon_1(\text{CrO}_4^{2-})$	$\epsilon_2(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})$
345	1.84×10^3	10.7×10^2
370	4.81×10^3	7.28×10^2
400	1.88×10^3	1.89×10^2

Se prepararon cuatro soluciones disolviendo 4.00×10^{-4} , 3.00×10^{-4} , 2.00×10^{-4} y 1.00×10^{-4} moles $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en agua, y se diluyeron hasta 1.00 L con una solución amortiguadora de pH 5.60. Deduzca los valores de absorbancia teóricos (celdas de 1.00 cm) para cada solución y represente en forma gráfica los datos para a) 345 nm, b) 370 nm y c) 400 nm.

- 13.13** Describa las diferencias entre los siguientes instrumentos y enumere alguna de las ventajas particulares que posee uno respecto al otro.
- Lámparas de descarga de hidrógeno y de deuterio como fuentes de radiación ultravioleta.
 - Filtros y monocromadores como selectores de longitud de onda.
 - Celdas fotovoltaicas y fototubos como detectores de radiación electromagnética.
 - Fotodiodos y fotomultiplicadores.
 - Espectrofotómetros de doble haz en el espacio y espectrofotómetros de doble haz en el tiempo.
 - Espectrofotómetros y fotómetros.
 - Instrumentos de haz sencillo y de doble haz para medidas de absorbancia.
 - Espectrofotómetros ordinarios y de varios canales.
- 13.14** Un fotómetro portátil cuya respuesta es lineal respecto a la radiación registró $63.8 \mu\text{A}$ cuando el solvente estaba en la trayectoria del haz. El fotómetro estaba en cero y ninguna luz chocaba contra el detector. Al reemplazar el solvente con una solución absorbente se produjo una respuesta de $41.6 \mu\text{A}$. Calcule
- porcentaje de transmitancia de la solución de la muestra.
 - absorbancia de la solución de la muestra.
 - la transmitancia que se espera para una solución con una concentración de absorbente igual a un tercio de la concentración de la solución de la muestra original.
 - la transmitancia esperada para una solución con el doble de concentración que la de la solución de la muestra.
- *13.15** Un fotómetro con respuesta lineal a la radiación dio una lectura de 498 mV con el solvente en la trayectoria del haz y 256 mV cuando el solvente se reemplazó por una solución absorbente. El fotómetro estaba en cero y ninguna luz daba en el detector. Calcule
- el porcentaje de transmitancia y la absorbancia de la solución absorbente.
 - la transmitancia esperada si la concentración de absorbente es la mitad de la solución original.
 - la transmitancia esperada si la trayectoria de la luz a través de la solución original se duplica.
- 13.16** ¿Por qué una lámpara de deuterio produce un espectro continuo y no uno de líneas en la región ultravioleta?
- 13.17** ¿Por qué los tubos fotomultiplicadores no se usan en la radiación infrarroja?
- 13.18** ¿Por qué a veces se introduce yodo en las lámparas de tungsteno?
- 13.19** Explique el origen del ruido de disparo en un espectrofotómetro. ¿Cómo varía la incertidumbre respecto a la concentración si el ruido de disparo es la fuente principal de ruido?

13.20 Defina

- a) corriente residual.
- b) transductor.
- c) radiación dispersada (en un monocromador).
- d) ruido fluctuante en la fuente.
- e) incertidumbre en la posición de la celda.
- f) divisor de haces.



13.21 Explique las diferencias entre un monocromador, un espectrógrafo y un espectrofotómetro.

13.22 Los datos siguientes se tomaron de un espectrofotómetro de diodos en serie en un experimento para medir el espectro del complejo Co(II)-EDTA. La columna llamada $P_{\text{solución}}$ es la señal relativa que se obtiene con la solución de la muestra en la celda después de la sustracción de la señal oscura. La columna P_{solvente} es la señal de referencia que se obtiene cuando sólo está el solvente en la celda después de la sustracción de la señal oscura. Determine la transmitancia a cada longitud de onda y la absorbancia en cada longitud de onda. Grafique el espectro del compuesto.

Longitud de onda, nm	P_{solvente}	$P_{\text{solución}}$
350	0.002689	0.002560
375	0.006326	0.005995
400	0.016975	0.015143
425	0.035517	0.031648
450	0.062425	0.024978
475	0.095374	0.019073
500	0.140567	0.023275
525	0.188984	0.037448
550	0.263103	0.088537
575	0.318361	0.200872
600	0.394600	0.278072
625	0.477018	0.363525
650	0.564295	0.468281
675	0.655066	0.611062
700	0.739180	0.704126
725	0.813694	0.777466
750	0.885979	0.863224
775	0.945083	0.921446
800	1.000000	0.977237

13.23 ¿Por qué a menudo los análisis cuantitativos y cualitativos necesitan diferentes anchuras de rendija del monocromador?



13.24 Las absorbancias de soluciones que contienen K_2CrO_4 en 0.05 M KOH se midieron en una celda de 1 cm a 375 nm. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Conc. de K_2CrO_4 , g/L	A a 375 nm
0.0050	0.123
0.0100	0.247
0.0200	0.494
0.0300	0.742
0.0400	0.991

Determine la absorptividad del ion cromato, CrO_4^{2-} en $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ y la absorptividad molar del cromato en $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ a 375 nm.

-  **13.25** Las absorbancias de las soluciones que contienen Cr como dicromato $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ en 1.0 M H_2SO_4 se midieron a 440 nm en una celda de 1 cm. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Conc. de Cr, $\mu\text{g/mL}$	A a 440 nm
10.00	0.034
25.00	0.085
50.00	0.168
75.00	0.252
100.00	0.335
200.00	0.669

Determine la absorptividad del dicromato ($\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$) y la absorptividad molar en ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) a 440 nm.

-  **13.26** Se quiere determinar un compuesto X mediante espectrofotometría UV-visible. Se elabora una curva de calibración a partir de soluciones patrón de X con los resultados siguientes: 0.50 ppm, $A = 0.24$; 1.5 ppm, $A = 0.36$; 2.5 ppm, $A = 0.44$; 3.5 ppm, $A = 0.59$; 4.5 ppm, $A = 0.70$. solución de concentración desconocida de X tiene una absorbancia de $A = 0.50$. Determine la pendiente y la intersección con el eje Y de la curva de calibración, el error estándar en Y, la concentración de la solución de X y la desviación estándar en la concentración de X. Trace una gráfica de la curva de calibración y determine la concentración incógnita en forma manual en la gráfica. Compare ésta con la que se obtiene en la recta de regresión.

Problema de reto

- 13.27** Las siguientes preguntas se refieren a la incertidumbre de la concentración relativa en la espectrofotometría.
- Si la incertidumbre de la concentración relativa se obtiene mediante la ecuación 13.13, por medio del cálculo infinitesimal demuestre que la incertidumbre mínima se presenta a 36.8% de T . ¿Cuál es la absorbancia que reduce al mínimo la incertidumbre de la concentración? Suponga que s_T es independiente de la concentración.
 - En condiciones de ruido de disparo limitado, la incertidumbre de la concentración se obtiene con la ecuación 13.14. Otra forma de la ecuación para el caso de ruido de disparo limitado es¹²

$$\frac{s_c}{c} = \frac{-kT^{-1/2}}{\ln T}$$

donde k es una constante. Aplique el cálculo infinitesimal y deduzca la transmitancia y la absorbancia que reduzca al mínimo la incertidumbre de la concentración.

- Explique cómo podría determinar en forma experimental si un espectrofotómetro estaba funcionando en las condiciones del caso I, caso II o caso III.

¹²J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1988, cap. 13.

Aplicaciones de la espectrometría por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible

Las medidas de absorción en las regiones ultravioleta y visible se utilizan ampliamente para identificar y determinar una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas. Es probable que los métodos de absorción molecular en las regiones ultravioleta/visible sean los más utilizados de todas las técnicas de análisis cuantitativo en los laboratorios químicos, ambientales, forenses y clínicos en todo el mundo.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio de red <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

14A LA MAGNITUD DE LAS ABSORTIVIDADES MOLARES

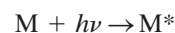
De acuerdo con la experiencia, en la espectrometría por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible¹ se observan absortividades molares (valores ϵ que van desde cero hasta un máximo del orden de $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Para un máximo de absorción particular, la magnitud de ϵ depende de la sección transversal de captura (sección 13B, ecuación 13.5) de las especies y de la probabilidad de que tenga lugar una transición que absorba energía. Se ha demostrado que la relación entre ϵ y estas variables es

$$\epsilon = 8.7 \times 10^{19} PA$$

donde P es la probabilidad de la transición y A el área blanco de la sección transversal en centímetros cuadrados por molécula.² A partir de estudios de difracción de electrones y de rayos X se ha determinado que el área para las moléculas orgánicas representativas es de alrededor de $10^{-15} \text{ cm}^2/\text{molécula}$, y que las probabilidades de transición varían de cero a uno. Para las transiciones permitidas de acuerdo con la mecánica cuántica, los valores de P están comprendidos entre 0.1 y 1, lo que ocasiona bandas de absorción intensas ($\epsilon_{\text{máx}} = 10^4$ a $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Los picos de absorción con absortividades molares menores que 10^3 se clasifican como de baja intensidad. Son el resultado de transiciones prohibidas cuya probabilidad de suceder es menor que 0.01.

14B ESPECIES ABSORBENTES

La absorción de radiación ultravioleta o visible por parte de 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 lo muestra la ecuación



El producto de la absorción del fotón $h\nu$ por la especie M es una especie excitada electrónicamente simbolizada por M^* . El tiempo de vida de la especie excitada

¹ Algunas referencias útiles sobre métodos de absorción son E. J. Meehan, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, E. J. Meehan e I. M. Kolthoff, eds., parte 1, vol. 7, capítulos 1 a 3, Nueva York: Wiley, 1981; R. P. Bauman, *Absorption Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1962; F. Grum, en *Physical Methods of Chemistry*, A. Weissberger y B. W. Rossiter, eds., vol. I, parte III B, capítulo 3, Nueva York: Wiley-Interscience, 1972; H. H. Jaffé y M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1962; G. F. Lothian, *Absorption Spectrophotometry*, 3a. ed. Londres: Adam Hilger, 1969; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, cap. 13, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.

² E. A. Braude, *J. Chem. Soc.*, **1950**, p. 379.

es breve (10^{-8} a 10^{-9} s). Alguno de entre varios procesos de relajación ocasionan que M^* salga del estado de excitación. La forma de relajación más común supone la conversión de la energía de excitación en calor, como lo demuestra



La relajación puede ocurrir también por medio de un proceso fotoquímico, como la descomposición de M^* para dar lugar a nuevas especies. Otra posibilidad es que la relajación ocasione reemisión de fluorescencia o fosforescencia. Es importante destacar que el tiempo de vida de M^* es en general tan pequeño que su concentración en cualquier momento es insignificante. Además, la cantidad de energía térmica desarrollada en la relajación es también muy pequeña. Por consiguiente, las mediciones de absorción perturban en forma mínima el sistema en estudio, excepto cuando tiene lugar la descomposición fotoquímica.

Por lo general, la absorción de radiación ultravioleta o visible es resultado de la excitación de los electrones de enlace. Debido a esto, las longitudes de onda de las bandas de absorción se pueden correlacionar con los tipos de enlaces de la especie en estudio. Por tanto, la espectroscopía de absorción molecular es valiosa para identificar grupos funcionales en una molécula. Pero lo más importante son las aplicaciones de la espectroscopía de absorción ultravioleta y visible en la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes.

Como ya se mencionó en la sección 6C, la absorción de la radiación ultravioleta y visible que manifiestan las moléculas ocurre en general en una o más bandas de absorción electrónicas, cada una de las cuales está conformada por muchas líneas discretas muy juntas. Cada línea surge de la transición de un electrón que va del estado fundamental a uno de los estados energéticos vibracionales y rotacionales asociados con cada estado energético electrónico excitado. Puesto que hay tantos de estos estados vibracionales y rotacionales, y como sus energías difieren sólo ligeramente, en la banda representativa están contenidas muchas líneas muy juntas.

Como se puede ver en la figura 14.1a, el espectro de absorción visible para el vapor de 1,2,4,5-tetracina muestra la estructura fina que se debe a los numerosos niveles rotacionales y vibracionales asociados con los estados electrónicos de esta molécula aromática. En el estado gaseoso, las moléculas individuales de la tetracina están separadas lo suficiente entre sí para poder vibrar y girar con libertad, y las muchas líneas de absorción que aparecen son resultado de la gran cantidad de estados energéticos vibracionales y rotacionales.

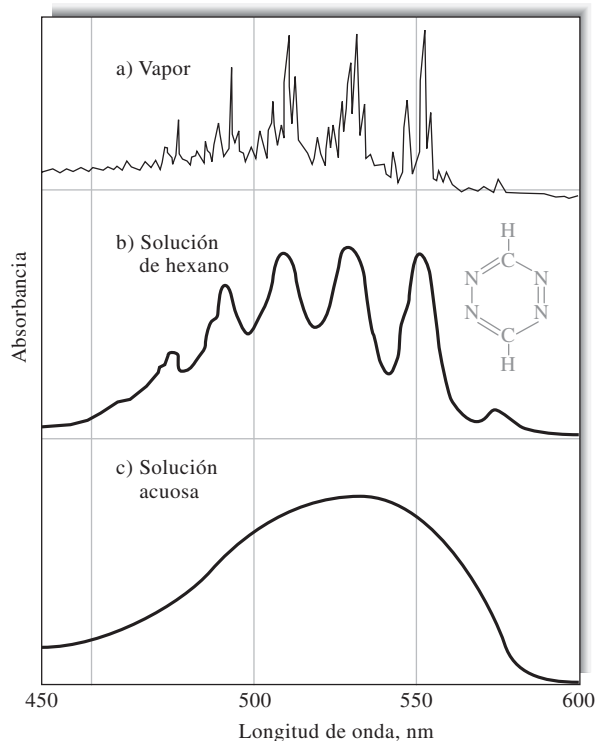


FIGURA 14.1 Espectros de absorción ultravioleta para 1,2,4,5-tetracina. En a) se muestra el espectro en la fase gaseosa, en él se pueden ver muchas líneas que se deben a las transiciones electrónicas, vibracionales y rotacionales. En un disolvente no polar b), se pueden observar las transiciones electrónicas, pero se pierde la estructura vibracional y rotacional. En un disolvente polar c), las potentes fuerzas intermoleculares hacen que los picos electrónicos se doblen, lo que da sólo una banda de absorción uniforme. (Tomado de S. F. Mason, *J. Chem. Soc.*, 1959, p. 1265.)

En el estado condensado o en solución, las moléculas de tetracina tienen poca libertad para girar, de modo que desaparecen las líneas causadas por las diferencias en la energía rotacional. Además, cuando las moléculas de solvente rodean a las moléculas de tetracina, las energías de los diversos niveles vibracionales se modifican de manera no uniforme, y la energía de un estado particular en una muestra de moléculas de soluto aparece como un solo pico ancho y pronunciado. Este efecto es más notable en disolventes polares, como el agua, que en los medios de hidrocarburos no polares. El efecto del disolvente se ilustra en la figura 14.1b y c.

14B.1 Absorción de los compuestos orgánicos

Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética porque contienen

TABLA 14.1 Características de absorción de algunos cromóforos comunes.

Cromóforo	Ejemplo	Solvente	$\lambda_{\text{máx}}$, 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	$\pi \rightarrow \pi^*$
Carbonilo	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CCH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	196	2000	—
			225	160	—
			186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	180	grande	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	CH_3COOH	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amida	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CNH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	Agua	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctano	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Eter etílico	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrato	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxano	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

electrones de valencia que pueden ser excitados para llegar 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 los componentes de la atmósfera también absorben radiación en forma intensa. Dichas transiciones requieren la excitación de n electrones no enlazantes hacia orbitales σ^* . Las absorptividades molares de $n \rightarrow \sigma^*$ transiciones son de bajas a intermedias, y por lo regular varían entre 100 y 3000 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. A causa de las dificultades experimentales asociadas con la región ultravioleta de vacío, la mayoría de las investigaciones espectrofotométricas de compuestos orgánicos involucran longitudes de onda superiores a 185 nm.

La mayoría de las aplicaciones de espectroscopía de absorción en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones n y π al estado excitado π^* porque la energía requerida para estos procesos lleva las bandas de absorción hacia dentro de la región ultravioleta-visible (200 a 700 nm). Ambas transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ requieren la presencia de un grupo funcional no saturado que aporte los orbitales π . A las moléculas que contienen dichos grupos funcionales y son capaces de absorber la radiación UV-visible se les denomina *cromóforos*.

En general, los espectros electrónicos de moléculas orgánicas que contienen cromóforos son complejos porque la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas ocasiona una

intrincada combinación de líneas traslapadas. El resultado es una banda de absorción ancha que a menudo parece ser continua. La compleja naturaleza de los espectros dificulta o imposibilita el análisis teórico detallado. No obstante, es posible deducir enunciados cualitativos o semicuantitativos en relación con los tipos de transiciones electrónicas causantes de un espectro de absorción en particular a partir de consideraciones sobre los orbitales moleculares.

En la tabla 14.1 se enumeran los cromóforos orgánicos comunes y las longitudes de onda aproximadas a las cuales presentan absorción. Los datos para la ubicación ($\lambda_{\text{máx}}$) y la intensidad máxima ($\epsilon_{\text{máx}}$) sirven sólo como una guía aproximada para la identificación, porque ambas se ven influenciadas por los efectos del solvente, así como por otros detalles estructurales de la molécula. Además, la conjugación entre dos o más cromóforos tiende a ocasionar desplazamientos en los máximos de absorción a longitudes de onda más largas. Para finalizar, los efectos vibracionales ensanchan los picos de absorción en las regiones ultravioleta y visible, lo cual dificulta con frecuencia la determinación precisa de la absorción máxima. Las absorptividades molares para las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ son normalmente bajas y por lo regular varían de 10 a 100 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Por otra parte, los valores para las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ oscilan casi siempre entre 1000 y 15 000 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. En la figura 14.2 se muestran espectros de absorción típicos.

Los compuestos orgánicos saturados que contienen heteroátomos como oxígeno, nitrógeno, azufre o haló-

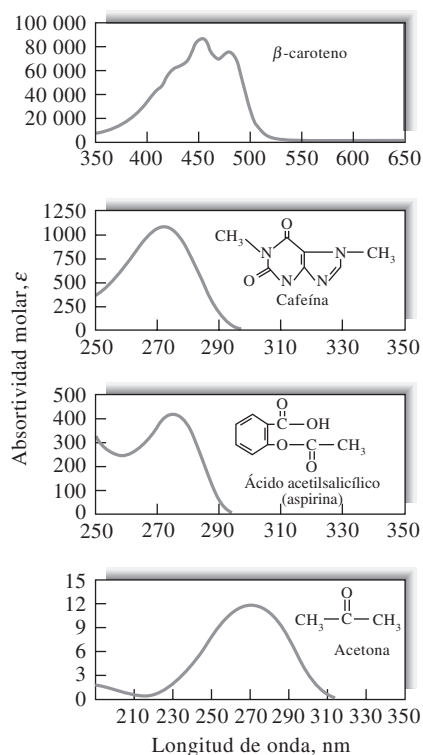


FIGURA 14.2 Espectros de absorción de compuestos orgánicos típicos.

genos cuentan con electrones no enlazantes que se pueden excitar mediante radiación en el intervalo de 170 a 250 nm. En la tabla 14.2 se enlistan ejemplos de dichos compuestos. Algunos de ellos, como los alcoholes y los éteres, son solventes comunes, de modo que su absorción en esta región impide cuantificar la absorción de los analitos disueltos en estos compuestos a longitudes de onda por debajo de 180 a 200 nm. En ocasiones, la absorción en esta región se usa para determinar halógenos y compuestos con azufre.

14B.2 Absorción de especies inorgánicas

Algunos aniones inorgánicos presentan bandas de absorción ultravioleta que son resultado de electrones no enlazantes que se excitan. Entre los ejemplos están los iones nitrato (313 nm), carbonato (217 nm), nitrito (360 y 280 nm), azida (230 nm) y tritocarbonato (500 nm).

En general, los iones y complejos de elementos en las dos primeras series de transición absorben bandas anchas de radiación visible en por lo menos uno de sus estados de oxidación y, como resultado, son de colores (véase por ejemplo la figura 14.3). En este caso, la absorción involucra transiciones entre orbitales d llenos

TABLA 14.2 Absorción por parte de compuestos orgánicos que contienen heteroátomos con electrones no enlazantes.

Compuesto	$\lambda_{\text{máx}}$, nm	$\epsilon_{\text{máx}}$
CH_3OH	167	1480
$(\text{CH}_3)_2\text{O}$	184	2520
CH_3Cl	173	200
CH_3I	258	365
$(\text{CH}_3)_2\text{S}$	229	140
CH_3NH_2	215	600
$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	227	900

y no llenos con energías que dependen de los ligandos enlazados a los iones metálicos. Las diferencias de energías entre estos orbitales d , y, por tanto, la posición del máximo de absorción correspondiente, dependen de la posición del elemento en la tabla periódica, de su estado de oxidación y de la naturaleza del ligando unido a él.

Los espectros de absorción de iones de las series de transición de los lantánidos y actínidos difieren de manera notable de los que se muestran en la figura 14.3. Los electrones que se ocupan de la absorción en estos elementos ($4f$ y $5f$, respectivamente) están protegidos contra influencias externas por medio de electrones que ocupan orbitales con números cuánticos principales más grandes. Entonces, las bandas tienden a ser angostas y relativamente no se ven afectadas por

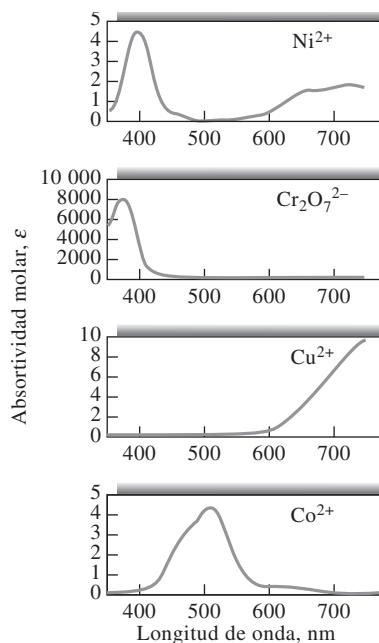


FIGURA 14.3 Espectros de absorción de soluciones acuosas de iones metálicos de transición.

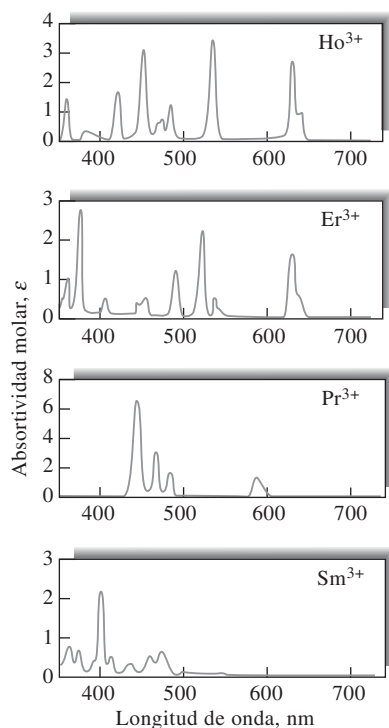


FIGURA 14.4 Espectros de absorción de soluciones acuosas de iones de tierras raras.

la especie unida mediante los electrones externos (véase figura 14.4).

14B.3 Absorción por transferencia de carga

Desde el punto de vista cuantitativo, la absorción por transferencia de carga tiene particular importancia porque las absorptividades molares son muy altas ($\epsilon > 10\,000$), lo cual ocasiona elevada sensibilidad. Muchos complejos inorgánicos y orgánicos manifiestan este tipo de absorción, por lo que se llaman complejos de transferencia de carga.

Un complejo de transferencia de carga consiste en un grupo donador de electrones enlazado a uno que acepta electrones. Cuando este producto absorbe radiación, un electrón que proviene del donador es transferido a un orbital que está muy relacionado con el receptor. Por consiguiente, el estado excitado es producto de una clase de proceso de oxidorreducción interno. Este comportamiento difiere del de un cromóforo orgánico en el que el electrón excitado está en un orbital molecular y lo comparten dos o más átomos.

Ejemplos comunes de tales complejos son el complejo fenólico de hierro(III), el complejo de 1,10-fe-

nantrolina de hierro(II), el complejo de yoduro de yodo molecular y el complejo hexacianoferrato(II)-hexacianoferrato(III), causante del color del azul de Prusia. El color rojo del complejo hierro(III)-tiocianato es otro ejemplo de la absorción por transferencia de carga. La absorción de un fotón da como resultado la transferencia de un electrón desde el ion tiocianato a un orbital que está muy relacionado con el ion del hierro(III). El producto es una especie excitada que contiene predominantemente hierro(II) y el radical tiocianato SCN. Como en otros tipos de excitación electrónica, el electrón de este complejo vuelve a su estado original tras un breve periodo. Pero, en ocasiones, podría tener lugar la disociación del complejo excitado, originando productos de oxidación/reducción fotoquímica. En la figura 14.5 se presentan tres espectros de complejos de transferencia de carga.

En la mayoría de los complejos de transferencia de carga que contienen un ion metálico, el metal actúa como receptor de electrones. Unas excepciones son los complejos 1,10-fenantrolina con el hierro(II) o el cobre(I), donde el ligando es el que acepta el electrón y el ion metálico es el donador. Se conocen algunos otros ejemplos de este tipo de complejos.

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

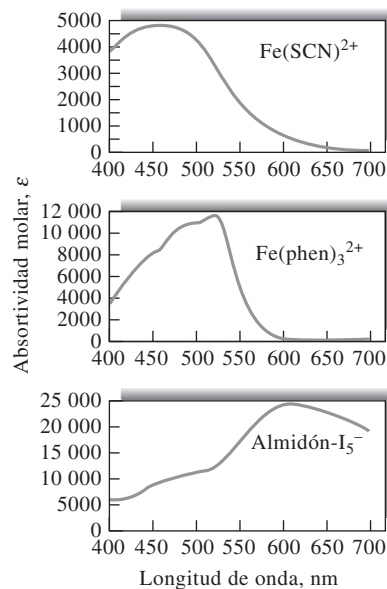


FIGURA 14.5 Espectros de absorción de complejos de transferencia de carga acuosos.



Simulación: aprenda más sobre **espectros de absorción**.

14C APLICACIONES CUALITATIVAS DE LA ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN EN LAS REGIONES ULTRAVIOLETA Y VISIBLE

Las mediciones espectrométricas con radiación ultravioleta son útiles para detectar grupos de cromóforos como los que se proporcionan en la tabla 14.1.³ Puesto que grandes partes hasta de las moléculas orgánicas más complejas son transparentes a la radiación por arriba de 180 nm, la aparición de uno o más picos en la región de 200 a 400 nm es un indicio claro de la presencia de grupos insaturados o de átomos como el azufre o los halógenos. A menudo, la identidad de los grupos absorbentes se puede determinar al comparar el espectro de un analito con los de moléculas simples compuestas por varios grupos de cromóforos.⁴ Por lo regular, los espectros en la región ultravioleta carecen de la suficiente estructura fina para permitir que un analito sea identificado en forma definitiva. Por consiguiente, los datos cualitativos ultravioleta se tienen que complementar con otra evidencia física o química, como los espectros infrarrojos, de resonancia magnética nuclear y de masas, así como información sobre las temperaturas de solubilidad y los puntos de fusión y de ebullición.

14C.1 Solventes

Los espectros en la región ultravioleta para el análisis cualitativo se miden usando casi siempre soluciones de un analito diluido. En el caso de compuestos volátiles, los espectros de fase gaseosa son más útiles a menudo que los espectros de fase líquida o de soluciones. Compare por ejemplo la figura 14.1a y la 14.1b. Los espectros de fase gaseosa se pueden obtener dejando que una o dos gotas del líquido puro se evaporen y equilibren con la atmósfera en una celda o cubeta con tapón.

Al elegir un solvente no sólo se tiene que tener en cuenta su transparencia, sino también sus posibles efectos sobre el sistema absorbente. Casi siempre, los disolventes polares, como agua, alcoholes, ésteres y cetonas, tienden a borrar la estructura fina del espectro originado por los cambios vibracionales. Es más proba-

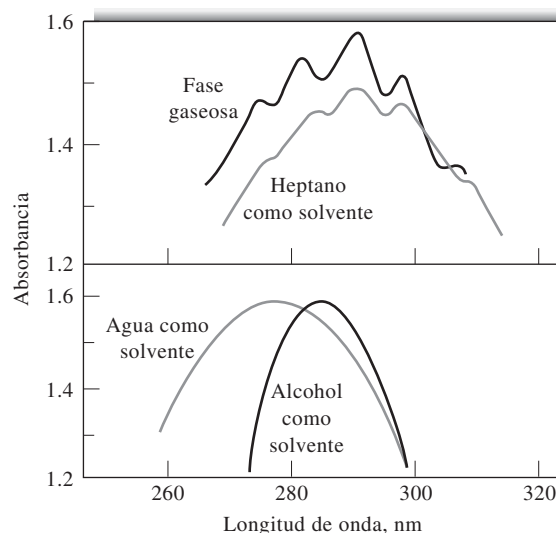


FIGURA 14.6 Efecto del solvente en el espectro de absorción del acetaldehído.

ble observar espectros parecidos a los de fase gaseosa (véase figura 14.6) cuando se utilizan solventes no polares, como los hidrocarburos. Además, las posiciones de los máximos de absorción se ven afectadas por la naturaleza del solvente. La regla es utilizar el mismo solvente cuando se comparan espectros de absorción con fines de identificación.

En la tabla 14.3 se enumeran algunos solventes comunes y la longitud de onda aproximada por abajo de la cual no pueden usarse debido a la absorción. Estas longitudes de onda, denominadas *longitudes de onda de corte*, dependen en gran medida de la pureza del solvente.⁵ Entre los solventes habituales para espec-

⁵ La mayoría de los proveedores de reactivos químicos en Estados Unidos ofrece grados espectroquímicos de solventes. Los solventes de grado espectral han sido tratados para eliminar las impurezas y cumplen o exceden los requisitos establecidos en *Reagent Chemicals*, 9a. ed., Washington, DC: American Chemical Society, 2000. Los suplementos y actualizaciones se pueden obtener en <http://pubs.acs.org/reagents/index.html>.

TABLA 14.3 Solventes para las regiones ultravioleta y visible.

Solvente	Límite inferior de longitud de onda, nm	Solvente	Límite inferior de longitud de onda, nm
Agua	180	Éter dietílico	210
Etanol	220	Acetona	330
Hexano	200	Dioxano	320
Ciclohexano	200	Cellosolve	320
Tetracloruro de carbono	260		

³ Un análisis detallado de la espectroscopia de absorción ultravioleta para la identificación de grupos funcionales orgánicos se encuentra en R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5a. ed., capítulo 6, Nueva York: Wiley, 1991.

⁴ H. H. Perkampus, *UV-VIS Atlas of Organic Compounds*, 2a. ed., Hoboken, NJ: Wiley-VCH, 1992. Además, en el pasado, varias organizaciones han publicado catálogos de espectros que todavía pueden ser útiles, como el American Petroleum Institute, *Ultraviolet Spectral Data*, A.P.I. Research Project 44. Pittsburgh: Carnegie Institute of Technology; *Sadtler Handbook of Ultraviolet Spectra*, Philadelphia: Sadtler Research Laboratories; American Society for Testing Materials, Committee E-13, Philadelphia.

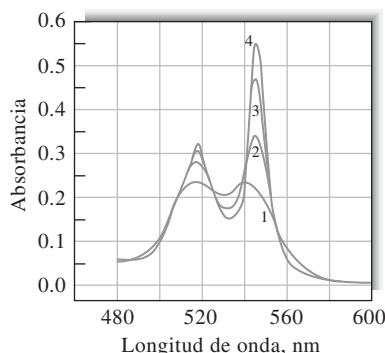


FIGURA 14.7 Espectros de citocromo *c* reducido a cuatro anchos de banda del espectro. 1) 20 nm, 2) 10 nm, 3) 5 nm y 4) 1 nm. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

trofotometría ultravioleta se incluyen agua, etanol de 95%, ciclohexano y 1,4-dioxano. Para la región visible, cualquier solvente incoloro es útil.

14C.2 Efecto de la anchura de la rendija

El efecto de la variación de la anchura de la rendija y, por tanto, del ancho de banda efectivo, se demostró ya para los espectros de fase gaseosa en la figura 13.8. El efecto en los espectros de soluciones se ilustra para el citocromo *c* reducido en la figura 14.7. Es evidente que las alturas de los picos y la separación están distorsionadas en anchos de banda más amplios. Por esta razón, los espectros para aplicaciones cualitativas se deben medir con anchuras de rendija mínimas.

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 ultravioleta y visible es útil para detectar la presencia de ciertos grupos funcionales que actúan como cromóforos. 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 solvente, indica en definitiva la presencia de un grupo carbonilo. Este desplazamiento recibe el nombre de *hipsocrómico* o *hacia el azul*. 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. Se puede obtener una confirmación de la presencia de una amina aromática o de una estructura fenólica al comparar los efectos del pH sobre los espectros de soluciones que contienen a la muestra con los que se proporcionan en la tabla 14.4 para el fenol y la anilina.

Los espectros en la región UV de hidrocarburos aromáticos se caracterizan por tres conjuntos de bandas que se originan a partir de las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$. Por ejemplo, el benceno tiene un pico de absorción potente a 184 nm ($\epsilon_{\text{máx}} \approx 60\,000$); una banda más débil, denominada banda E_2 a 204 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 7900$); y un pico aun más débil, llamado banda B a 256 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 200$). Las bandas de longitud de onda larga de vapor de benceno, 1,2,4,5-tetracina (véase figura 14.1a) y muchos otros aromáticos contienen una serie de picos agudos debido a la superposición de transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas básicas. Como se muestra en la figura 14.1, los solventes tienden a reducir, y a veces a eliminar, esta estructura fina como lo hacen ciertos tipos de sustitución.

TABLA 14.4 Características de absorción de los compuestos aromáticos.

Compuesto		Banda E_2		Banda B	
		$\lambda_{\text{máx}}, \text{nm}$	$\epsilon_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}, \text{nm}$	$\epsilon_{\text{máx}}$
Benceno	C_6H_6	204	7900	256	200
Tolueno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	207	7000	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	7600	265	240
Fenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	211	6200	270	1450
Ion fenolato	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$	235	9400	287	2600
Anilina	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$	230	8600	280	1430
Ion anilinio	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_3^+$	203	7500	254	160
Tiofenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$	236	10 000	269	700
Naftaleno	C_{10}H_8	286	9300	312	289
Estireno	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CH}_2$	244	12 000	282	450

Las tres bandas características del benceno están fuertemente afectadas por la sustitución anular; los efectos sobre las dos bandas de longitud de onda larga son de particular interés porque se pueden estudiar con el equipo espectrofotométrico común. En la tabla 14.4 se ilustran los efectos de algunos sustituyentes anulares comunes.

Por definición, un *auxocromo* es un grupo funcional que no absorbe por sí mismo en la región ultravioleta, pero que produce el efecto de desplazar los picos de los cromóforos hacia longitudes de onda más largas, así como de incrementar sus intensidades. Este desplazamiento hacia longitudes de onda más largas se llama desplazamiento *batocrómico* o *hacia el rojo*. Observe en la tabla 14.4 que el $-\text{OH}$ y el $-\text{NH}_2$ tienen un efecto auxocrómico sobre el cromóforo benceno, en particular respecto a la banda B. Los sustituyentes auxocrómicos poseen por lo menos un par de electrones n capaces de interactuar con los electrones p del anillo. Al parecer, esta interacción tiene el efecto de estabilizar el estado π^* y por tanto de disminuir su energía, y aumenta la longitud de onda de la banda correspondiente. Observe que el efecto auxocrómico es más pronunciado para el anión fenolato que para el propio fenol, tal vez porque el anión tiene un par extra de electrones no compartidos que contribuyen a la interacción. Por otra parte, con la anilina los electrones no enlazantes se perdieron al formarse el catión anilinio y desaparece el efecto auxocrómico.

14D ANÁLISIS CUANTITATIVO MEDIANTE MEDICIONES DE ABSORCIÓN

La espectroscopía de absorción basada en la radiación ultravioleta y visible es una de las herramientas más útiles con las que cuenta el científico para el análisis cuantitativo.⁶ Entre las características importantes de los métodos espectrofotométricos y fotométricos están 1) gran aplicabilidad tanto para sistemas orgánicos como inorgánicos, 2) límites de detección de 10^{-4} a 10^{-5} M (en algunos casos, ciertas modificaciones pueden hacer que disminuyan los límites de detección),⁷ 3) selectividad de moderada a alta, 4) buena exactitud (por lo regular, se encuentran incertidumbres relativas de 1 a 3%, aunque con precauciones especiales los errores se pueden reducir a algunas décimas de porcentaje) y 5) adquisición de datos fácil y adecuada.

⁶Para mayor información práctica y detallada sobre prácticas espectrofotométricas, véase *Techniques in Visible and Ultraviolet Spectrometry*, vol. I, *Standards in Absorption Spectroscopy*, C. Burgess y A. Knowles, eds., London: Chapman & Hall, 1981; J. R. Edisbury, *Practical Hints on Absorption Spectrometry*, Nueva York: Plenum Press, 1968.

⁷Véase por ejemplo, T. D. Harris, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, p. 741A.

14D.1 Campo de aplicación

Las aplicaciones de los métodos cuantitativos de absorción ultravioleta-visible no sólo son numerosas, sino que abarcan todos los campos en los que se requiere información química cuantitativa. Por ejemplo, el lector puede hacerse una idea del campo de aplicación de la espectrofotometría consultando la serie de artículos publicados periódicamente en *Analytical Chemistry*⁸ así como las monografías que tratan este tema.⁹

Aplicaciones en especies absorbentes

En las tablas 14.1, 14.2 y 14.4 se enlistan los grupos de cromóforos orgánicos más comunes. La determinación espectrofotométrica de cualquier compuesto orgánico que contiene uno o más de estos grupos es factible. En la bibliografía se encuentran muchos ejemplos de este tipo de determinaciones.

También numerosas especies inorgánicas absorben radiación UV y visible, por lo que son susceptibles a la determinación directa. Ya se mencionó que muchos iones de los metales de transición son de colores cuando están en solución, por lo que se pueden determinar por medio de mediciones espectrofotométricas. Pero además existen otras especies que también presentan bandas de absorción características. Como ejemplos se pueden citar los iones nitrito, nitrato y cromato, los óxidos de nitrógeno, los halógenos y el ozono.

Aplicaciones en especies no absorbentes

Numerosos reactivos reaccionan en forma selectiva con especies no absorbentes y generan productos de gran absorción en las regiones ultravioleta y visible. Por lo regular, la aplicación satisfactoria de tales reactivos en el análisis cuantitativo requiere que la reacción en que se forma el color sea casi completa. Si la cantidad de producto está limitada por el analito, la absorbancia del producto es proporcional a la concentración del analito. Los reactivos que generan color también se utilizan a menudo para determinar especies absorbentes, como los iones de los metales de transición. Con frecuencia, la absorptividad molar del producto es varios órdenes de magnitud superior a la de la especie antes de la reacción.

Una gran cantidad de agentes complejantes se usan para determinar especies inorgánicas. Entre los reactivos inorgánicos representativos están el ion tiocianato

⁸L. G. Hargis, J. A. Howell y R. E. Sutton, *Anal. Chem.* (revisión), **1996**, 68, p. 169; J. A. Howell y R. E. Sutton, *Anal. Chem.* (revisión), **1998**, 70, p. 107.

⁹H. Onishi, *Photometric Determination of Traces of Metals*, parte IIA, parte IIB, 4a. ed., Nueva York: Wiley, 1986, 1989; *Colorimetric Determination of Nonmetals*, 2a. ed., D. F. Boltz, ed., Nueva York: Interscience, 1978; E. B. Sandell y H. Onishi, *Photometric Determination of Traces of Metals*, 4a. ed., Nueva York: Wiley, 1978; F. D. Snell, *Photometric and Fluorometric Methods of Analysis*, Nueva York: Wiley, 1978.

para el hierro, cobalto y molibdeno; 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. Entre los ejemplos están el dietilditiocarbamato para la determinación del cobre, la difenilditiocarbazona para el plomo, 1,10-fenantroleno para la determinación de hierro y la dimetilglioxima para el níquel. En la aplicación de esta última reacción para determinar níquel por medios fotométricos, se extrae una solución acuosa del catión con una solución del agente quelante en un líquido orgánico inmiscible. La absorbancia de la capa orgánica rojo brillante resultante funciona como una medida de la concentración del metal.

14D.2 Detalles del procedimiento

El primer paso de cualquier análisis fotométrico o espectrofotométrico es el establecimiento de condiciones de trabajo que originen una relación reproducible, de preferencia lineal, entre la absorbancia y la concentración del analito.

Selección de la longitud de onda

Por lo regular, si desea la más alta sensibilidad, las medidas de absorbancia espectrofotométricas se hacen a una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción porque el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto. Además, la absorbancia es casi constante con longitud de onda a una absorción máxima, lo cual produce un buen cumplimiento de la ley de Beer (figura 13.5). Para finalizar, las pequeñas incertidumbres que surgen por no reproducir con precisión los parámetros de longitud de onda del instrumento tienen menos influencia a una absorción máxima.

Variables que influyen en la absorbancia

Entre las variables comunes que influyen en el espectro de absorción de una sustancia están la naturaleza del solvente, el pH de la solución, la temperatura, las altas concentraciones de electrolito y la presencia de sustancias que interfieren. Los efectos de estas variables deben conocerse y se deben elegir las condiciones para el análisis de manera que las pequeñas e incontroladas variaciones en sus magnitudes no afecten la absorbancia.

Limpieza y manipulación de las celdas

Para que el análisis espectrofotométrico sea exacto es necesario el uso de cubetas ajustadas de buena calidad. Éstas deben calibrarse con regularidad, una respecto a otra, para detectar las diferencias que pueden

surgir por ralladuras, ataques por ácidos y desgaste por el uso. Es igualmente importante usar técnicas apropiadas de limpieza y secado de las celdas. Erickson y Surles¹⁰ recomiendan la siguiente secuencia de limpieza para las caras externas de las cubetas. Antes de la medición, las superficies de la celda se limpian con un papel para lentes empapado con metanol de calidad para espectrometría. El papel se sostiene con una pinza al efectuar la limpieza. Después de la limpieza, se deja evaporar el metanol, con lo que las superficies de la celda quedan sin contaminantes. Los autores demostraron que este método era mejor que el procedimiento usual de limpiar las superficies de la celda con papel seco para lentes, el cual aparentemente deja películas y películas en la superficie.

Determinación de la relación entre absorbancia y concentración

El método de los patrones externos (véase sección 1D.2) es el que se usa con frecuencia para establecer la relación entre absorbancia y concentración. Después de decidir las condiciones para el análisis, se prepara la curva de calibración a partir de una serie de soluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras. Rara vez es seguro suponer que se cumpla la ley de Beer y utilizar sólo un patrón para determinar la absortividad molar. Los resultados de un análisis *nunca* se deben basar en los valores de absortividad molar encontrados en las publicaciones especializadas.

Lo ideal es que los patrones de calibración tengan una composición parecida a la de las muestras por analizar, no sólo en cuanto a la concentración del analito, sino también respecto a la concentración de las otras especies presentes en la matriz de la muestra. Esto puede reducir al mínimo 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 porque estos aniones forman complejos incoloros con los iones metálicos. Un efecto es que la reacción deseada es menos completa y el resultado son absorbancias menores. El efecto de matriz del sulfato y fosfato puede contrarrestarse añadiendo a los patrones cantidades de estas dos especies similares a las que se encuentran en las muestras. Por desgracia, cuando se analizan materiales complejos como suelos, minerales y plantas fósiles, la preparación de patrones semejantes a las muestras suele ser imposible o en extremo difícil. En estos casos, el *método de adición estándar* es

¹⁰J. O. Erickson y T. Surles, *Amer. Lab.*, **1976**, 8 (6), p. 50.

útil para contrarrestar los efectos de la matriz que alteran la pendiente de la curva de calibración. No obstante, no hay compensación con dicho método si hay especies absorbentes extrañas, a menos que estén presentes en la misma concentración en la solución blanco.

Método de adición estándar

El método de adición estándar puede adoptar varias formas.¹¹ La que se selecciona con mayor frecuencia para los análisis fotométricos y espectrofotométricos, y que se trata con detalle en el sección 1D.3, requiere la adición de uno o más volúmenes iguales de solución patrón a alícuotas de la muestra. Después, cada solución se diluye hasta un volumen fijo antes de medir su absorbancia. En el ejemplo 14.1 se ilustra un procedimiento con hojas de cálculo para el método de adiciones múltiples mediante el cual se determina nitrito de manera fotométrica.

EJEMPLO 14.1

El nitrito se suele determinar mediante un procedimiento espectrofotométrico en el que se utiliza la reacción de Griess. La muestra que contiene nitrito se hace reaccionar con sulfanilimida y N-(1-naftil)etilen-diamina para que forme una especie coloreada que absorbe radiación a 550 nm. Se sacan alícuotas de 5 mL de la muestra y se vacían en matraces volumétricos de 50.00 mL. Luego, en cada matraz, se agregan con una pipeta 0.00, 2.00, 4.00, 6.00 y 8.00 mL de una solución patrón que contiene 10.00 μM de nitrito, y se añaden los reactivos que forman el color. Después de la solución por volumen, se mide la absorbancia de cada una de las cinco soluciones a 550 nm. Las absorbancias son 0.139, 0.299, 0.486, 0.689 y 0.865, respectivamente. Diseñe una hoja de cálculo para determinar la concentración de nitrito en la muestra original y su desviación estándar.

Solución

La hoja de cálculo se muestra en la figura 14.8. Observe que el resultado final indica que la concentración de nitrito en la muestra original es $2.8 \pm 0.3 \mu\text{M}$. La desviación estándar se calcula a partir de la recta de regresión¹² mediante un valor de x extrapolado de -1.385 mL y un valor y de 0.000 como se ilustra en el ejemplo 1.1 del capítulo 1.

Si se quiere ahorrar tiempo o muestra, es posible efectuar un análisis de adición estándar usando sólo dos incrementos de muestra. En este caso, una sola adición de $V_s \text{ mL}$ de patrón se añadiría a una de las dos muestras. Este procedimiento se basa en la ecuación 14.1 (véase sección 1D.3).

$$c_x = \frac{A_1 c_s V_s}{(A_2 - A_1) V_x} \quad (14.1)$$

El método de adición única se ilustra en el ejemplo 14.2.

EJEMPLO 14.2

Una muestra de 2.00 mL de orina se trató con un reactivo que genera color con fosfato, después de lo cual la muestra se diluyó hasta 100 mL. A una segunda muestra de 2.00 mL se le añadieron exactamente 5.00 mL de una solución de fosfato que contenía 0.0300 mg de fosfato por mililitro, y se le trató de la misma forma que la muestra original. La absorbancia de la primera solución fue 0.428, la de la segunda fue 0.538. Calcule la concentración de fosfato en miligramos por mililitro de la muestra.

Solución

Se sustituye en la ecuación 14.1 y se obtiene

$$\begin{aligned} c_x &= \frac{(0.428)(0.0300 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{mL})(5.00 \text{ mL})}{(0.538 - 0.428)(2.00 \text{ mL muestra})} \\ &= 0.292 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{mL muestra} \end{aligned}$$

Análisis de mezclas de sustancias absorbentes

La absorbancia total de una solución a una longitud de onda dada, es igual a la suma de las absorbancias de los componentes individuales en la solución (ecuación 13.9). Esta relación hace posible en principio determinar las concentraciones de los constituyentes individuales de una mezcla, incluso si su espectro se superpone por completo. Por ejemplo, en la figura 14.9 se ve el espectro de una solución que contiene una mezcla de la especie M y la especie N, así como los espectros de cada uno de los componentes. Es evidente que no hay longitud de onda en la cual la absorbancia de esta mezcla se deba exclusivamente a uno de los componentes. Para analizar la mezcla, primero se determina la absorptividad molar para M y N a longitudes de onda λ_1 y λ_2 con concentraciones suficientes de las dos soluciones patrón para estar seguros de que se cumple con la ley de Beer en un intervalo de absorbancia que abarque la absorbancia de la muestra. Observe que las longitudes de onda se seleccionan de manera que las

¹¹ Véase M. Bader, *J. Chem. Educ.*, **1980**, 57, p. 703.

¹² Para más información sobre los métodos de adición estándar con la ayuda de hojas de cálculo véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, caps. 4 y 12, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

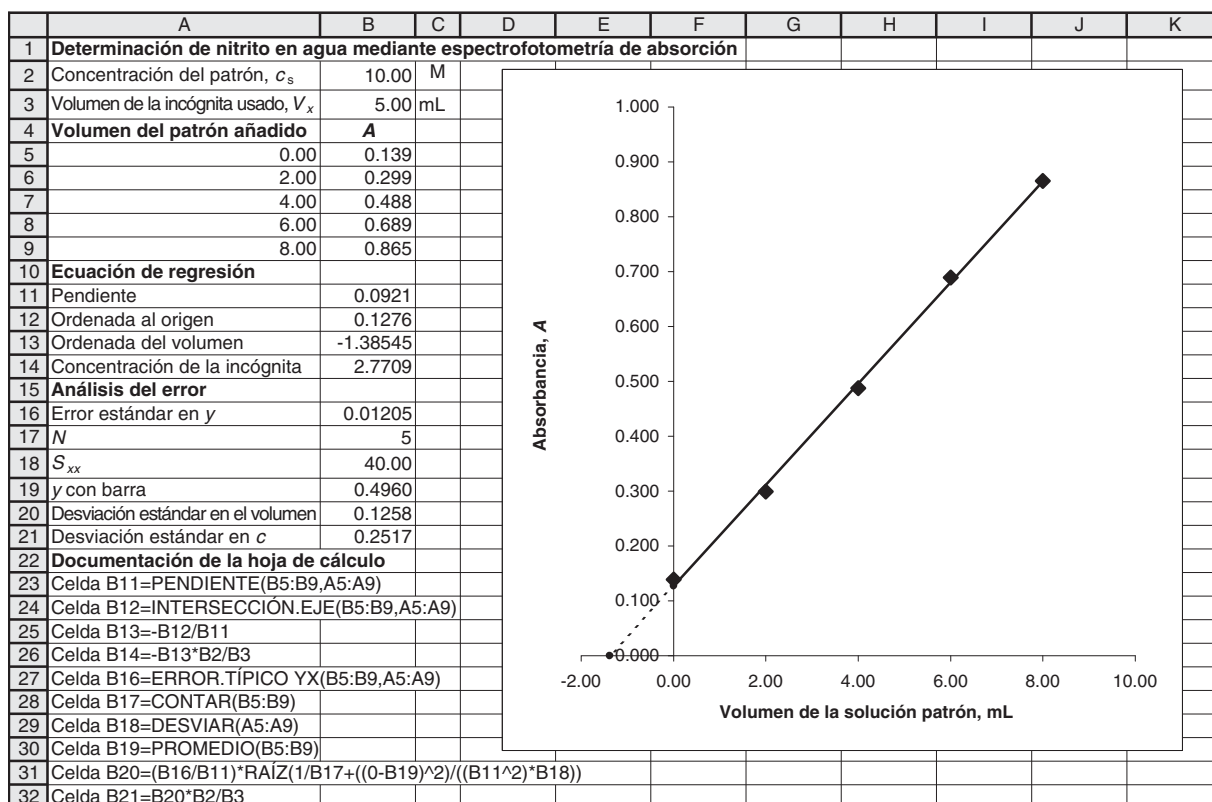


FIGURA 14.8 Hoja de cálculo para determinar la concentración de nitrito mediante múltiples adiciones de patrón.

absortividades molares de los dos componentes difieren de manera importante. Por consiguiente, a λ_1 , la absortividad molar del componente M es mucho mayor que la del componente N. Lo inverso se cumple para λ_2 . Para terminar el análisis, la absorbancia de la muestra se determina a las mismas dos longitudes de onda. A partir de las absortividades molares conocidas y la longitud de la trayectoria, se cumplen las siguientes ecuaciones:

$$A_1 = \varepsilon_{M_1} b c_M + \varepsilon_{N_1} b c_N \quad (14.2)$$

$$A_2 = \varepsilon_{M_2} b c_M + \varepsilon_{N_2} b c_N \quad (14.3)$$

donde el subíndice 1 indica medición a la longitud de onda λ_1 , y el subíndice 2 quiere decir medición a la longitud de onda λ_2 . Con los valores conocidos de ε y b , las ecuaciones 14.2 y 14.3 representan dos ecuaciones con dos incógnitas (c_M y c_N) que se pueden resolver. Las relaciones son válidas sólo si se cumple la ley de Beer en ambas longitudes de onda y los dos constituyentes se comportan de manera independiente uno del otro. La exactitud mayor se obtiene al elegir longitudes de onda a las cuales las diferencias en absortividades molares son grandes.



Clases interactivas: aprenda más acerca de **calibración y análisis de mezclas**.

Las mezclas compuestas por más de dos especies absorbentes se pueden analizar, en principio por lo menos, si se efectúa una medición más de absorbancia por cada componente añadido. Las incertidumbres en los datos resultantes se incrementan cuando la cantidad de mediciones aumenta. Algunos espectrofotómetros

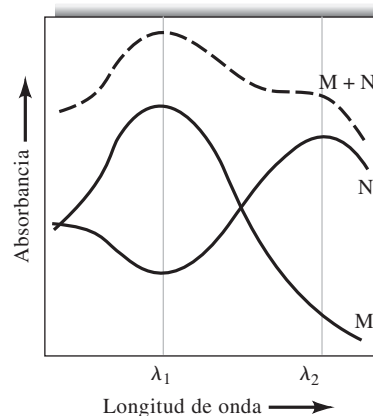


FIGURA 14.9 Espectro de absorción de una mezcla de dos constituyentes (M + N) con espectros de cada uno de ellos. Las líneas verticales discontinuas indican longitudes de onda óptimas para la determinación de los dos componentes.

con detector en serie tienen la capacidad de reducir estas incertidumbres mediante un elevado número de determinaciones del sistema. Es decir, utilizan mucho 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 soluciones patrón de cada uno de los componentes.

Los métodos que procesan los datos con computadora y que se basan en el análisis factorial o en el análisis de los componentes principales han sido perfeccionados para determinar la cantidad de componentes y sus concentraciones o absortividades en mezclas.¹³ Por lo regular, estos métodos se aplican a datos obtenidos con espectrómetros equipados con detectores en serie.

14D.3 Espectrofotometría derivada y de longitud de onda dual

En la espectrofotometría derivada los espectros se obtienen representando gráficamente la primera derivada o una de orden superior de la absorbancia o de la transmitancia respecto a la longitud de onda en función de la longitud de onda.¹⁴ A menudo, estas representaciones gráficas revelan detalles espectrales que se pierden en un espectro ordinario. Además, a veces se puede medir la concentración de un analito en presencia de una interferencia, o de dos o más analitos en una mezcla con más facilidad y exactitud mediante los métodos con derivada. Desafortunadamente, las ventajas de los espectros por derivadas se contrarrestan al menos en forma parcial a causa de la degradación en la relación señal-ruido que acompaña a la obtención de las derivadas. Sin embargo, en muchas zonas de las regiones ultravioleta y visible la relación señal-ruido no es un factor limitante. Incluso si la relación señal-ruido se degrada por derivación, se pueden aplicar métodos de suavización para ayudar a mejorar la precisión.

Para obtener los espectros con derivadas se utiliza una variedad de métodos. En el caso de espectrofotómetros digitales controlados por computadora, la derivación se puede llevar a cabo numéricamente utilizando procedimientos como la suavización polinomial de mínimos cuadrados de derivadas que se trata en la sección 5C.2. Con los antiguos instrumentos analógicos, las derivadas de los datos espectrales se pueden obtener de manera electrónica mediante un circuito amplifica-

dor operacional adecuado (véase sección 3E.4). Otra técnica utiliza la oscilación mecánica de una placa de refracción para barrer de manera repetitiva un intervalo de longitud de onda de unos pocos nanómetros a través de la rendija de salida de un monocromador mientras se barre el espectro. A esta técnica se le conoce como *modulación de la longitud de onda*. Otra posibilidad es barrer el espectro usando dos longitudes de onda desplazadas unos nanómetros, lo cual se llama *espectrofotometría de longitud de onda dual*.

Aplicaciones de los espectros de derivadas

Muchas de las aplicaciones más importantes de la espectroscopía de derivadas en las regiones ultravioleta y visible se relacionan con las identificaciones cualitativas de especies. El detalle amplificado de un espectro de derivadas hace posible distinguir entre compuestos que tienen espectros superpuestos, esta técnica se llama *intensificación de características*.¹⁵ En la figura 14.10 se ilustra la manera en que una gráfica de derivadas puede revelar los detalles de un espectro formado por tres picos de absorción superpuestos. Hay que hacer notar que tomar una derivada aumenta el ruido, por lo que es indispensable usar esta técnica en espectros de alta calidad; en caso de no cumplir con este requisito, los espectros de derivadas pueden originar características que no están presentes en la realidad.

Está demostrado que la espectrofotometría de derivadas también es útil para determinar de manera simultánea dos o más constituyentes de mezclas. Se han propuesto varios métodos para el análisis cuantitativo de mezclas. La altura de pico a pico se usa como la altura máxima en las longitudes de onda en el cruce cero para componentes individuales. Más recientemente se han utilizado las técnicas estadísticas de varias variables, como mínimos cuadrados parciales y el análisis de los componentes principales, para determinar las concentraciones. Los métodos de derivadas se aplican para determinar metales traza en mezclas. Por ejemplo, las cantidades traza de Mn y Zn se determinan en mezclas mediante la formación de complejos con 5,8-dihidroxi-1,4-naftoquinona.¹⁶ Asimismo, los métodos de derivadas se usan mucho en las preparaciones farmacéuticas y en las mezclas de vitaminas.¹⁷

Las espectrofotometrías de derivadas y de longitud de onda dual ya demostraron ser muy útiles sobre todo en la obtención de espectros de absorción en las regiones ultravioleta/visible de analitos presentes en solu-

¹³E. R. Malinowski, *Factor Analysis in Chemistry*, 3a. ed., cap. 9, Nueva York: Wiley, 2002.

¹⁴Para más información, véase G. Talsky, *Derivative Spectrophotometry Low and High Order*, Nueva York: VCH, 1994; T. C. O'Haver, *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, p. 91A; F. Sanchez Rojas, C. Bosch Ojeda y J. M. Cano Pavon, *Talanta*, **1988**, *35*, p. 753; C. Bosch Ojeda, F. Sanchez Rojas y J. M. Cano Pavon, *Talanta*, **1995**, *42*, p. 1195.

¹⁵Aplicaciones de hojas de cálculo en las que se utilizan las técnicas de derivadas para intensificar las características se pueden consultar en S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, pp. 312-315, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

¹⁶H. Sedaira, *Talanta*, **2000**, *51*, p. 39.

¹⁷F. Aberastuari, A. I. Jimenez, F. Jimenez y J. J. Arias, *J. Chem. Educ.*, **2001**, *78*, p. 793.

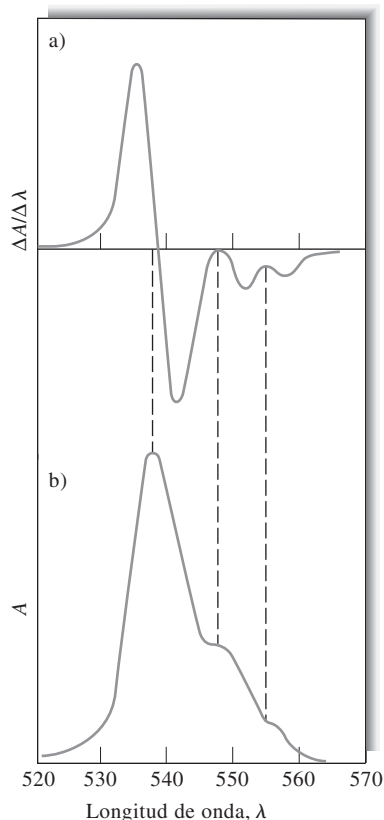


FIGURA 14.10 a) Comparación de un espectro de derivadas b) con un espectro de absorción estándar.

ciones turbias, en las que la dispersión de la luz elimina los detalles de un espectro de absorción. Por ejemplo, tres aminoácidos, triptófano, tirosina y fenilalanina, contienen cadenas aromáticas secundarias que presentan bandas de absorción claras en la zona de 240 a 300 nm. Sin embargo, estos picos claros no se ven en los espectros de las preparaciones de proteínas características, como la albúmina bovina o las del huevo, porque las moléculas grandes de la proteína dispersan con fuerza la radiación, por lo que sólo hay un pico de absorción suave como el que aparece en la figura 14.11a. La estructura fina aromática se descubre en los espectros de primera y segunda derivada, como lo 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, y mide las absorbancias a dos longitudes de onda en las cuales la interferencia tiene absorptividades molares idénticas. En cambio, el analito debe absorber radiación con más intensidad en una de estas longitudes de onda que en la otra. Entonces, la diferencia de absorbancia es directamente proporcional a la concentración de analito.

14E TITULACIONES FOTOMÉTRICAS Y ESPECTROFOTOMÉTRICAS

Las mediciones fotométricas o espectrofotométricas son útiles para localizar el punto de equivalencia de una titulación, siempre que el analito, el reactivo o el producto de la titulación absorban radiación.¹⁸ Otra posibilidad es que un indicador absorbente proporcione el cambio de absorbancia necesario para localizar el punto de equivalencia.

14E.1 Curvas de titulación

Una curva de titulación o valoración fotométrica es una representación gráfica de la absorbancia, corregida por los cambios de volumen, en función del volumen del titulante. En muchas titulaciones, la curva consta de dos regiones lineales con diferentes pendientes: una tiene lugar al principio de la titulación y la otra se localiza más allá de la zona del punto de equivalencia. El punto final es la intersección de las porciones lineales extrapoladas de la curva. También se pueden determinar de manera automática los puntos finales mediante titulación hasta una absorbancia fija o calculando la

¹⁸Para más información respecto a esta técnica, véase J. B. Headridge, *Photometric Titrations*, Nueva York: Pergamon, 1961; M. A. Leonard, en *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, ed., vol. 8, cap. 3, Nueva York: Elsevier, 1977.

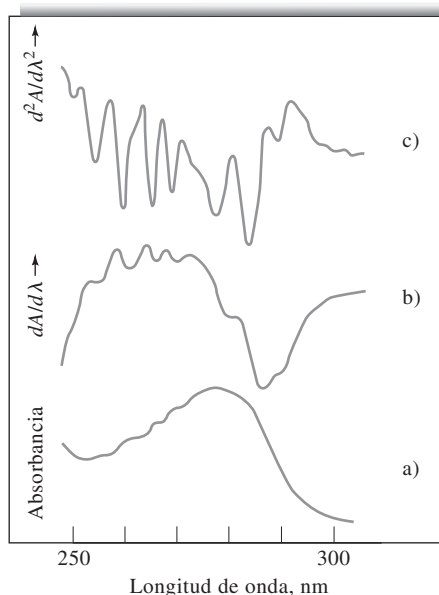


FIGURA 14.11 Espectros de absorción de albúmina bovina: a) espectro ordinario, b) espectro de la primera derivada, c) espectro de la segunda derivada. (Reimpreso con permiso de J. E. Cahill y F. G. Padera, *Amer. Lab.*, 1980, 12 (4), p. 109. Copyright 1980 de International Scientific Communications, Inc.)

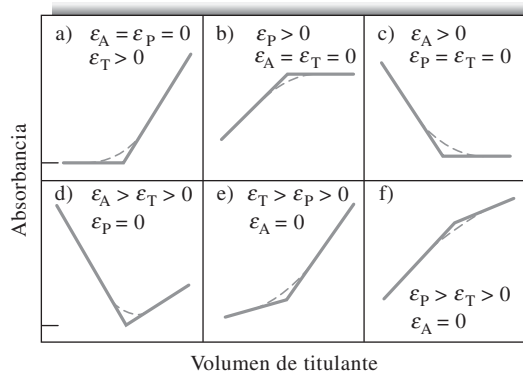


FIGURA 14.12 Curvas de titulación fotométrica características. Las absorptividades molares del analito, el producto y el titulante se indican como ε_A , ε_P , ε_T , respectivamente.

derivada para convertir la curva del segmento lineal en una curva en forma de sigmoide.

En la figura 14.12 se ilustran algunas curvas características de titulación fotométrica. La figura 14.12a es la curva de titulación de una especie no absorbente con un titulante absorbente que reacciona con el analito para formar un producto no absorbente. Un ejemplo es la titulación del ion tiosulfato con el ion triyoduro. La curva de titulación de la formación de un producto absorbente a partir de reactivos no absorbentes se muestra en la figura 14.12b. Un ejemplo es la titulación del ion yoduro con una solución patrón de ion yodato para formar triyoduro. Las figuras restantes ilustran las curvas obtenidas con diversas combinaciones de analitos, titulantes y productos absorbentes.

Con el fin de obtener curvas de titulación con partes lineales que se puedan extrapolar, los sistemas absorbentes deben apegarse a la ley de Beer. Además, las absorbancias deben corregirse por los cambios de volumen, multiplicando la absorbancia observada por $(V + v)/V$, donde V es el volumen original de la solución y v es el volumen de titulante añadido. En muchos métodos se usan sólo los cambios en la absorbancia para localizar los puntos finales mediante varias técnicas. Con esto, no es necesario el cumplimiento riguroso de la ley de Beer.

14E.2 Instrumentación

Por lo regular, las titulaciones fotométricas se llevan a cabo con un espectrofotómetro o un fotómetro modificado de tal modo que el recipiente de titulación esté estacionario en la trayectoria de la luz. Como opción se puede utilizar una celda tipo sonda, como la que se muestra en la figura 13.18. Después de establecer los parámetros del instrumento a una longitud de onda conveniente, o de que se inserta un filtro aceptable, se efectúa de la manera usual el ajuste de 0% de T . Se

deja pasar la radiación a través de la solución que contiene el analito hacia el transductor y el instrumento se ajusta a una lectura de absorbancia adecuada variando la intensidad de la fuente o la sensibilidad del transductor. Por lo general, es innecesario medir la verdadera absorbancia, porque los valores relativos son perfectamente válidos cuando el objetivo es detectar el punto final. Los datos de la titulación se recogen sin modificar el ajuste del instrumento. La potencia de la fuente de radiación y la respuesta del transductor deben ser constantes durante la titulación fotométrica. Con frecuencia se utilizan recipientes cilíndricos y es importante evitar cualquier movimiento de la celda para que la longitud de la trayectoria siga siendo constante.

Para las titulaciones fotométricas se usan tanto fotómetros de filtro como espectrofotómetros. Varias compañías que fabrican instrumentos producen en la actualidad equipo fotométrico para titulaciones.

14E.3 Aplicaciones de las titulaciones fotométricas

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

Los puntos finales que se obtienen a partir de las curvas de titulación fotométrica en un segmento lineal poseen la ventaja de que los datos experimentales se toman bastante lejos de la región del punto de equivalencia, donde la absorbancia cambia de manera gradual. Por consiguiente, la constante de equilibrio de la reacción no requiere ser tan grande como la que se necesita para una curva de titulación sigmoide que depende de observaciones cercanas al punto de equivalencia (por ejemplo, puntos finales obtenidos con un potenciómetro o con un indicador). Por la misma razón, se pueden titular soluciones más diluidas mediante detección fotométrica.

El punto final obtenido fotométricamente se ha aplicado a muchos tipos de reacciones. Por ejemplo, la mayor parte de los agentes oxidantes tienen espectros de absorción característicos y, por tanto, producen puntos finales detectables fotométricamente. Los indicadores ácidos o bases no absorben, pero la introducción de indicadores acido-base facilita las titulaciones de neutralización fotométricas. El punto final obtenido con métodos fotométricos también se ha aprovechado en las titulaciones con EDTA (ácido etilendiaminate-



Simulación: aprenda más acerca de las **titulaciones espectrofotométricas**.

traacético) y con otros agentes complejantes.¹⁹ La figura 14.13a ilustra la aplicación de esta técnica para determinar la dureza total del agua de la llave mediante negro de eriocromo T como indicador. La absorbancia del indicador se controla a 610 nm.²⁰

El punto final detectado fotométricamente se ha adaptado también a las titulaciones de precipitación. En las *titulaciones turbidimétricas*, el producto sólido suspendido tiene el efecto de disminuir la potencia radiante de la fuente de luz por la dispersión de las partículas del precipitado. El punto final se observa cuando deja de formarse precipitado y la cantidad de luz que llega al detector se vuelve constante. El punto final en algunas titulaciones de precipitación también se puede detectar como se muestra en la figura 14.13b por adición de un indicador. En este caso, el titulante Ba^{2+} reacciona con SO_4^{2-} para formar BaSO_4 insoluble. Luego de que se alcanzó el punto final, el exceso de iones de Ba^{2+} reacciona con un indicador, Thorin, para formar un complejo coloreado que absorbe luz a 523 nm.²¹

14F MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS CINÉTICOS

Los métodos cinéticos para análisis²² difieren en una manera fundamental de los métodos de equilibrio o estequiométricos que se han tratado. En los métodos cinéticos, las mediciones se efectúan en condiciones *dinámicas* en las que las concentraciones de reactivos y productos están cambiando en función del tiempo. En cambio, las titulaciones o procedimientos que utilizan agentes complejantes para formar productos absorbentes se ejecutan en sistemas que tienen que llegar al equilibrio o al estado estable de modo que las concentraciones estén *estáticas*. La mayor parte de los métodos cinéticos se apoyan en la espectrofotometría como técnica para supervisar la reacción.

La diferencia entre los dos tipos de métodos se ilustra en la figura 14.14, en la cual se presenta el avance respecto al tiempo de la reacción



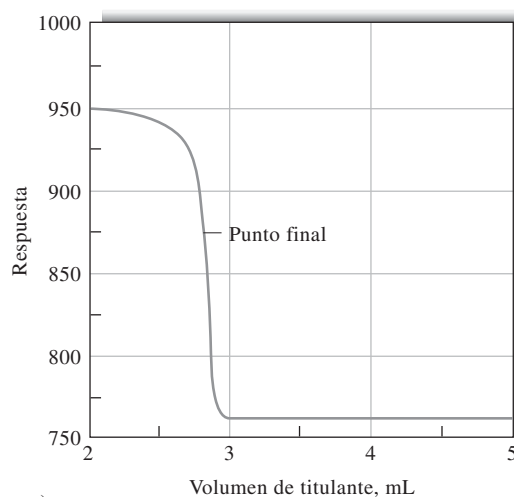
donde A representa el analito, R es el reactivo y P es el producto. Los métodos de equilibrio funcionan en la

¹⁹Un estudio sobre las titulaciones con EDTA se encuentra en D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, cap. 17.

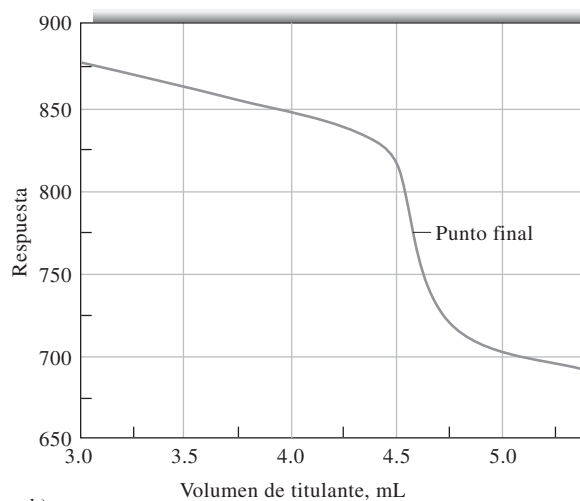
²⁰Para mayor información sobre este método véase *Metrohm, Application Bulletin*, 33/4e, Metrohm AG, Herisau, Switzerland.

²¹Véase *Metrohm, Application Bulletin*, 140/3e, Metrohm AG, Herisau, Switzerland.

²²Para información adicional consulte D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., cap. 29, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004; H. O. Mottola, *Kinetic Aspects of Analytical Chemistry*, Nueva York: Wiley, 1988.



a)



b)

FIGURA 14.13 Curvas de titulación fotométrica: a) dureza total del agua, b) determinación de sulfato. En a) la dureza total del agua se obtiene mediante titulación con EDTA 0.10 M a 620 nm para 100 mL de solución que contenía dureza total de 2.82 mmol/L. El indicador fue negro de eriocromo T. En b), 10.0 mL de una solución que contiene sulfato se tituló con BaCl_2 0.050 M usando Thorin como indicador y a una longitud de onda de 523 nm. La respuesta mostrada es proporcional a la transmitancia. (Tomado de A. L. Underwood, *Anal. Chem.*, **1954**, 26, p. 1322. Figura 1, p. 1323. Copyright 1954 American Chemical Society.)

región más allá del tiempo t_e , cuando las concentraciones volumétricas de los reactivos y el producto se han vuelto constantes y el sistema químico está en equilibrio. En cambio, los métodos cinéticos se ejecutan durante el periodo que va desde 0 hasta t_e , cuando las

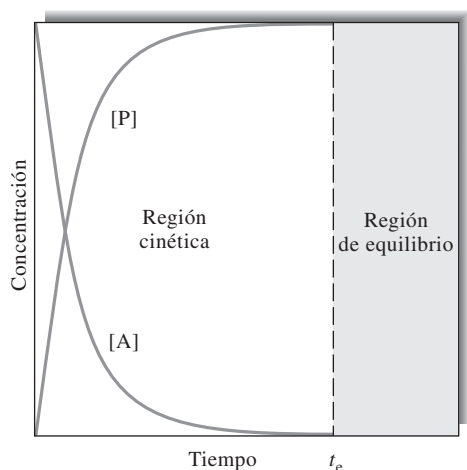


FIGURA 14.14 Cambio en la concentración del analito [A] y producto [P] en función del tiempo. Las concentraciones del analito y del producto cambian en forma continua hasta el tiempo t_e . Éste es el régimen cinético. En la región de equilibrio, después de t_e , las concentraciones del analito y del producto están estáticas.

concentraciones del analito y el producto están cambiando en forma continua.

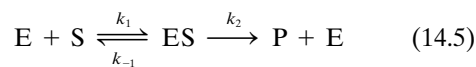
Los métodos cinéticos pueden ser más selectivos que los de equilibrio si los reactivos y las condiciones se escogen de tal manera que se lleven al máximo las diferencias en las velocidades a las cuales reaccionen el analito y los posibles interferentes. En los métodos que se basan en el equilibrio, la selectividad se efectúa al aumentar las diferencias en las constantes de equilibrio.

14F.1 Tipos de reacciones

En los métodos cinéticos se pueden emplear diversos tipos de reacciones. Las reacciones catalizadas están entre las más populares; en ellas se determina un catalizador de acuerdo con la manera en que influye en la velocidad de reacción, o bien, se elige uno de los reactivos. Por ejemplo, el yoduro es un catalizador en la reacción de Ce(IV) con As(III). Las cantidades traza de I^- se pueden determinar al medir la velocidad de esta reacción en función de la concentración de I^- . Por lo regular, se usa el método de patrones externos para preparar una curva de calibración de velocidad contra concentración de yoduro. Más de 40 cationes inorgánicos y más de 15 aniones se han determinado con base en su efecto catalítico.

También mediante métodos cinéticos se han determinado catalizadores orgánicos. Las aplicaciones más importantes de las reacciones catalizadas en los análisis orgánicos requieren el uso de enzimas como cata-

lizadores. El comportamiento de una gran cantidad de enzimas es compatible con el mecanismo general



En este denominado *mecanismo de Michaelis-Menten*, la enzima E reacciona en forma reversible con el sustrato S para formar el complejo enzima-sustrato ES. Entonces, este complejo se descompone en forma irreversible para formar los productos y la enzima regenerada. Con frecuencia, la velocidad de esta reacción cumple con la ley de la velocidad

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{k_2[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]} = \frac{k_2[E]_0[S]}{K_m + [S]} \quad (14.6)$$

donde K_m es la constante de Michaelis $(k_{-1} + k_2)/k_1$. En estas condiciones en las que la enzima está saturada con sustrato, $[S] \gg K_m$, la velocidad $d[P]/dt$ es directamente proporcional a la concentración inicial de la enzima $[E]_0$:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[E]_0$$

Por tanto, las mediciones de la velocidad se pueden usar para obtener la actividad de la enzima (concentración), $[E]_0$.

Asimismo, los sustratos se pueden determinar mediante métodos cinéticos. En estas condiciones en las que $[S] \ll K_m$, la ecuación 14.6 se reduce a

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{k_2}{K_m}[E]_0[S] = k'[S]$$

donde $k' = k_2/K_m$. En este caso, la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración del sustrato $[S]$. Si las medidas se toman cerca del inicio de la reacción ($<5\%$ de la reacción), $[S] \approx [S]_0$ y la velocidad es directamente proporcional a la concentración inicial del sustrato.²³

Las regiones donde la enzima y el sustrato se pueden determinar mediante métodos cinéticos se ilustran en la figura 14.15, en la que se puede ver una gráfica de velocidad inicial contra concentración del sustrato. Se ve que la velocidad inicial es proporcional a la concentración del sustrato a muy bajas concentraciones, pero la velocidad es proporcional a la concentración de la enzima cuando la concentración del sustrato es muy alta.

Además de las reacciones catalizadas, los métodos cinéticos de análisis también se pueden aplicar en reacciones no catalizadas. Por ejemplo, se puede determinar el fosfato midiendo la velocidad de su reacción

²³ Para saber las condiciones necesarias para que la reacción de una enzima ocurra en su etapa inicial refiérase a J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, p. 697.



Simulación: aprenda más acerca de los **métodos cinéticos**.

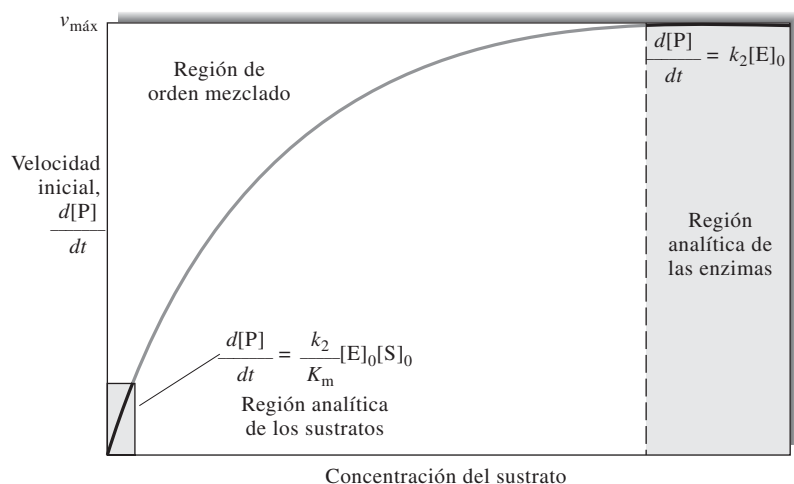


FIGURA 14.15 Gráfica de la velocidad inicial de la formación del producto en función de la concentración del sustrato, en la que se muestra las partes de la curva útiles para la determinación del sustrato y la enzima.

con el molibdato para formar una especie heteropolí, 12-molibdenofosfato. Se puede alcanzar más sensibilidad reduciendo el 12-molibdenofosfato con ácido ascórbico u otro agente reductor para formar azul de fosfomolibdeno, una especie intensamente coloreada. En cualquier caso, la velocidad de formación del producto es directamente proporcional a la concentración del fosfato.

14F.2 Instrumentos

Los métodos cinéticos basados en reacciones con vidas medias mayores a 10 s pueden efectuarse en un espectrofotómetro ordinario equipado con compartimiento de celda y dispositivos para introducir y mezclar muestras y reactivos. Las velocidades de reacción dependen en gran medida de la temperatura, por lo que es necesario controlarla en alrededor de 0.1°C para tener una buena reproducibilidad. En muchos espectrofotómetros comerciales hay aditamentos que permiten alcanzar ciertas velocidades. En el caso de reacciones muy lentas, la introducción y la mezcla de la muestra se pueden llevar a cabo antes de poner la mezcla de reacción en el compartimiento de la celda. Se cuenta con una celda estacionaria en la que se colocan todos los reactivos, excepto uno. El reactivo que se requiere para iniciar la reacción se introduce entonces mediante una jeringa o pipeta y la reacción resultante se supervisa mientras la mezcla se agita. En el caso de los espectrómetros de un solo canal, la reacción se vigila a una sola longitud de onda midiendo la absorbancia en función del tiempo. Los instrumentos equipados con detectores en serie facilitan la toma de espectros enteros a diferentes tiempos para analizarlos después.

Los métodos de flujo continuo, como el análisis por inyección de flujo (véase capítulo 33), también se utilizan para controlar la introducción y reacción de la

muestra. Un método de gran aceptación con inyección de flujo es introducir la muestra y los reactivos en corrientes que fluyen y luego se detiene el flujo con la mezcla de reacción que está en la celda de flujo espectrofotométrica. En el caso de reacciones con vidas medias menores a 10 s, es popular la técnica de *mezcla con fluido detenido*; en ésta, las corrientes de reactivo y muestra se mezclan con rapidez y el flujo de solución mezclada se detiene de manera repentina. El avance de la reacción se vigila entonces en un lugar ligeramente corriente abajo respecto al punto en donde se hizo la mezcla. El aparato que se ilustra en la figura 14.16 se diseñó para efectuar mezclas con flujo detenido y para facilitar las mediciones en una escala de tiempo de milisegundos.

14F.3 Tipos de métodos cinéticos

Los métodos cinéticos se pueden clasificar de acuerdo con la manera en que se efectúen las mediciones.²⁴ Con los *métodos diferenciales* se calcula la velocidad de reacción y se le relaciona con la concentración del analito. Las velocidades se determinan a partir de la pendiente de la curva de absorbancia contra tiempo. En el caso de los *métodos integrales*, se utiliza una forma integrada de la ecuación de la velocidad y se determina la concentración del analito a partir de los cambios de absorbancia que se producen en varios tiempos. Los métodos de ajuste de curvas adecuan un modelo matemático a la curva de absorbancia contra tiempo y calculan los parámetros del modelo, sin olvidar la concentración del analito. Los métodos más complejos utilizan parámetros del modelo para determinar el valor del equilibrio o la respuesta de estado estable.

²⁴Para una revisión de los métodos cinéticos resueltos mediante hojas de cálculo refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, cap. 13, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

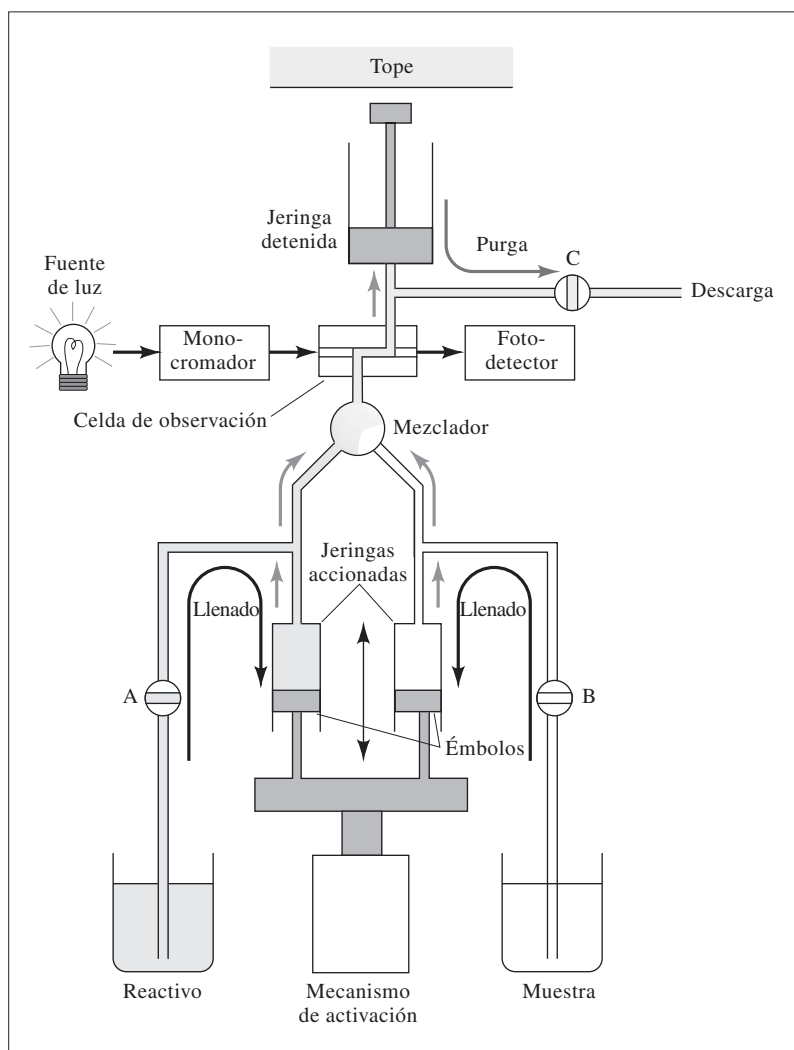


FIGURA 14.16 Aparato para mezcla con fluido detenido. Para iniciar el experimento, las jeringas se llenan con reactivo y muestra, y se cierran las válvulas A, B y C. El mecanismo de activación se pone en marcha para desplazar con rapidez hacia el frente los émbolos de las jeringas. El reactivo y la muestra se combinan en el mezclador y pasan de inmediato a la celda de observación, en ese momento se detiene la jeringa. Cuando la jeringa detenida se llena, el émbolo choca con el tope, el flujo cesa casi de manera instantánea y hay una descarga recién mezclada de solución en la celda de observación espectrofotométrica. Cuando los sistemas están muy bien diseñados, el tiempo entre la mezcla y la observación puede ser del orden de 2 a 4 ms.

Estos métodos son capaces de proporcionar compensación de los errores porque la posición de equilibrio es menos sensible a variables experimentales como temperatura, pH y concentraciones de los reactivos. En la figura 14.17 se ilustra el uso de este procedimiento para predecir la absorbancia de equilibrio a partir de datos obtenidos durante el régimen cinético de la curva absorbancia contra tiempo. La absorbancia de equilibrio se relaciona luego con la concentración del analito en la manera acostumbrada.

14G ESTUDIOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS DE IONES COMPLEJOS

La espectrofotometría es una herramienta valiosa para descubrir la composición de iones complejos en solu-

ción y para determinar sus constantes de formación (valores K_f). Las mediciones cuantitativas de absorción son muy útiles para estudiar la formación de complejos porque se pueden efectuar sin trastocar los equilibrios que están en estudio. Aunque muchos estudios espectrofotométricos de complejos requieren sistemas en los cuales un reactivo o producto absorba radiación, también se pueden estudiar con resultados satisfactorios los sistemas no absorbentes. Por ejemplo, la composición y la constante de formación de un complejo de hierro(II) y un ligando no absorbente pueden determinarse al medir los decrementos de la absorbancia que ocurren cuando las soluciones del complejo de hierro(II) absorbente de 1,10-fenantrolina se mezclan con varias cantidades del ligando no absorbente. El buen éxito de este procedimiento depende de los valores bien conocidos de la *constante de formación*

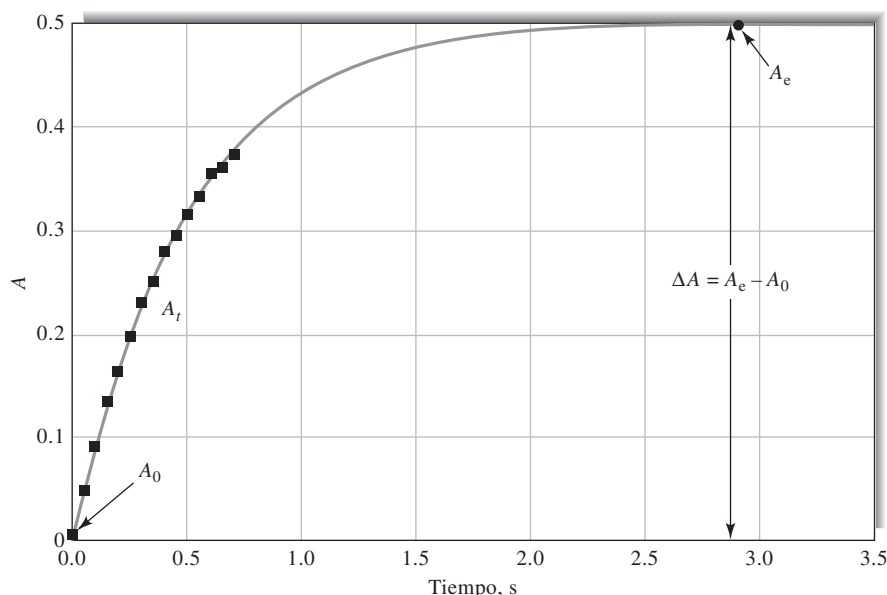


FIGURA 14.17 Enfoque predictivo en los métodos cinéticos. Un modelo matemático, que es la línea continua, se usa para ajustar la respuesta, que se representa con los cuadritos, durante el régimen cinético de una reacción. El modelo se usa entonces para predecir la absorbancia de equilibrio, A_e , la cual se relaciona con la concentración del analito. En el ejemplo que se muestra, la absorbancia se grafica contra el tiempo y los primeros datos se usan para la predicción de A_e , el valor de equilibrio que se ilustra como el círculo negro. (Tomado de G. L. Mieling y H. L. Pardue, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, pp. 1611-1618. American Chemical Society.)

($K_f = 2 \times 10^{21}$) y la composición del complejo de hierro(II) de 1,10-fenantrolina (3:1).

Las técnicas más comunes que se utilizan para los estudios complejo-ion son 1) método de las variaciones continuas, 2) método de la relación molar, 3) método de la relación de pendientes y 4) métodos de ajuste de curvas con ayuda de computadora.

14G.1 Método de las variaciones continuas

En este método, las soluciones del catión y del ligando con concentraciones analíticas idénticas se mezclan de tal manera que el volumen total y la cantidad total de moles de los reactivos en cada mezcla son constantes, pero la relación molar de los reactivos varía en forma sistemática, por ejemplo, 1:9, 8:2, 7:3, etcétera. Entonces se mide la absorbancia de cada solución en una longitud de onda apropiada y se corrige por cualquier absorbancia que la mezcla pudiera manifestar si no ocurriera reacción alguna. Por ejemplo, si el ligando absorbe sólo radiación UV o visible, la absorbancia corregida sería la absorbancia de la mezcla de reacción menos la absorbancia del ligando si no hubiera reac-

cionado. La absorbancia corregida se grafica contra la fracción en volumen de un reactivo, es decir, $V_M/(V_M + V_L)$, donde V_M es el volumen de la solución del catión y V_L es el volumen de la solución del ligando. En la figura 14.18 se ilustra una gráfica representativa de variaciones continuas. Se presenta un máximo, o un mínimo si el complejo es menos absorbente que los reactivos, cuando se da una relación de volumen V_M/V_L que corresponde a la relación de combinación del catión y el ligando en el complejo. En la figura 14.18, $V_M/(V_M + V_L)$ es 0.33 y $V_L/(V_M + V_L)$ es 0.66. Por tanto, V_M/V_L es 0.33/0.66, lo cual significa que el complejo tiene la fórmula ML_2 .²⁵

La curvatura de las líneas experimentales de la figura 14.18 es el resultado de que la reacción de formación de complejos es incompleta. La constante de formación del complejo se puede evaluar mediante mediciones de las desviaciones respecto a las líneas rectas teóricas, las cuales representan la curva que resultaría

²⁵ Refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, cap. 12, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, donde se proporciona un procedimiento con hojas de cálculo para el método de variación continua.

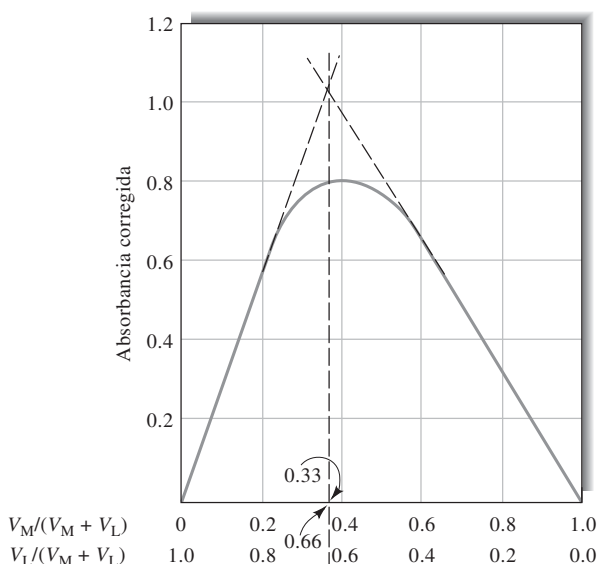


FIGURA 14.18 Gráfica de variación continua para el complejo 1:2 ML_2 .

si la reacción entre el ligando y el metal fuese completa. Es posible deducir modelos matemáticos para facilitar el cálculo del valor K_f o se pueden aplicar métodos de ajuste de curvas con ayuda de computadora (véase la sección 14G.4).

14G.2 Método de la relación molar

En este método se prepara una serie de soluciones en las cuales la concentración analítica de un reactivo, casi siempre el catión, se mantiene constante mientras la del otro varía. Luego se elabora una gráfica de la absorbancia contra la relación molar de los reactantes. Si la constante de formación es razonablemente favorable, se obtienen dos rectas de diferentes pendientes que se cortan en una relación molar que corresponde a la relación de combinación en el complejo. Las gráficas características se proporcionan en la figura 14.19. Observe que el ligando del complejo 1:2 absorbe en la longitud de onda seleccionada, de modo que la pendiente más allá del punto de equivalencia es mayor que cero. Se deduce que el catión no complejoado que está en el complejo 1:1 absorbe radiación, porque la absorbancia del punto inicial es mayor que cero.

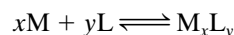
Las constantes de formación se pueden evaluar a partir de los datos de la porción curva de las gráficas de relación molar donde la reacción es menos completa. Si se forman dos o más complejos, podrían ocurrir

cambios sucesivos de la pendiente en la gráfica de la relación molar siempre que los complejos tengan distintas absorptividades molares y constantes de formación.

14G.3 Método de la relación de pendientes

Este método es útil en particular para complejos débiles, pero es aplicable sólo a sistemas en los cuales se forma un complejo sencillo. En el método se supone que 1) la reacción de formación de complejos puede ser forzada a terminar mediante un exceso de cualquier reactivo y 2) en estas condiciones se cumple la ley de Beer.

Considere la reacción en la cual se forma el complejo M_xL_y mediante la reacción de x moles del catión M con y moles de un ligando L :



Las expresiones de balance de masa para este sistema son

$$c_M = [M] + x[M_xL_y]$$

$$c_L = [L] + y[M_xL_y]$$

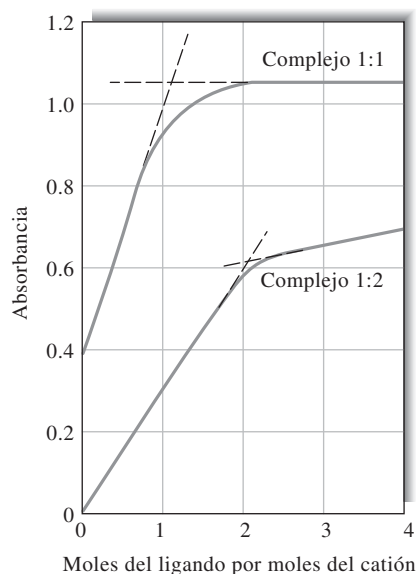


FIGURA 14.19 Gráficas de la relación molar para un complejo 1:1 y uno 1:2. El complejo 1:2 es el más estable de los dos como lo indica la similitud de la curva experimental con las rectas extrapoladas. Cuanto más cercana es la curva a las rectas extrapoladas, más grande es la constante de formación del complejo; cuanto más grande es la desviación respecto a las rectas, más pequeña es la constante de formación del complejo.



Simulación: aprenda más acerca de la **determinación de la composición de complejos**.

donde c_M y c_L son las concentraciones molares analíticas de los dos reactivos. Ahora se supone que a concentraciones analíticas muy altas de L, el equilibrio se desplaza en forma marcada a la derecha y $[M] \ll x[M_xL_y]$. En estas condiciones, la primera expresión de balance de masa se simplifica a

$$c_M = x[M_xL_y]$$

Si el sistema se apeg a la ley de Beer

$$A_1 = \varepsilon b[M_xL_y] = \varepsilon b c_M / x$$

donde ε es la absorptividad molar de M_xL_y y b es la longitud de la trayectoria. Una gráfica de absorbancia en función de c_M es lineal cuando hay suficiente L presente para justificar la suposición de que $[M] \ll x[M_xL_y]$. La pendiente de esta gráfica es $\varepsilon b/x$.

Cuando c_M es muy grande, se supone que $[L] \ll y[M_xL_y]$, y la segunda ecuación de balance de masa se reduce a

$$c_L = y[M_xL_y]$$

y

$$A_2 = \varepsilon b[M_xL_y] = \varepsilon b c_L / y$$

Una vez más, si las suposiciones que se han hecho son válidas, se tiene que una gráfica de A contra c_L es lineal a altas concentraciones de M. La pendiente de esta recta es $\varepsilon b/y$.

La relación entre las pendientes de las dos líneas rectas da la relación de combinación entre M y L:

$$\frac{\varepsilon b/x}{\varepsilon b/y} = \frac{y}{x}$$

14G.4 Métodos ejecutados con computadora para determinar las constantes de formación de los complejos

Varios métodos distintos dependen del ajuste de curva con computadora para determinar las constantes de formación de complejos. Se ilustra un procedimiento, pero hay muchos otros.²⁶

²⁶Por ejemplo, véase, K. A. Connors, *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*, Nueva York: Wiley, 1988; F. J. C. Rossotti y H. Rossotti, *The Determination of Stability Constants*, Nueva York: McGraw-Hill, 1961.

Principios

Considere la formación de un complejo ML 1:1 formado por el ion metálico M y el ligando L. Una vez más, para generalizar, se omiten las cargas:



Si el ion metálico no complejo y el complejo absorben radiación a la longitud de onda del análisis, es posible escribir

$$A = \varepsilon_{ML}b[ML] + \varepsilon_Mb[M] \quad (14.7)$$

La expresión para el balance de masas en el caso del ion metálico es

$$c_M = [M] + [ML]$$

Si se despeja $[M]$ y se sustituye en la ecuación 14.7, se obtiene

$$\begin{aligned} A &= \varepsilon_{ML}b[ML] + \varepsilon_Mb(c_M - [ML]) \\ &= \varepsilon_{ML}b[ML] + \varepsilon_Mbc_M - \varepsilon_Mb[ML] \end{aligned} \quad (14.8)$$

Cuando la concentración del ligando es cero, $[ML] = 0$ y la absorbancia $A_{L=0}$ se calcula mediante

$$A_{L=0} = \varepsilon_Mbc_M$$

Si se sustituye esta expresión en la ecuación 14.8 y se reacomodan los términos se llega a

$$\begin{aligned} \Delta A &= A - A_{L=0} = \varepsilon_{ML}b[ML] - \varepsilon_Mb[ML] \\ &= \Delta \varepsilon b[ML] \end{aligned} \quad (14.9)$$

donde ΔA es la diferencia en absorbancia con y sin el ligando presente, y $\Delta \varepsilon$ es la diferencia en las absorptividades molares de ML y M.

A partir de la expresión de la constante de formación se puede escribir $[ML] = K_f \times [M][L]$. Además, si los experimentos se efectúan en presencia de un exceso de ligando, $c_L \approx [L]$. Si se sustituyen estas expresiones y la expresión del balance de masa de $[M]$ en la ecuación 14.9, se obtiene

$$\frac{\Delta A}{b} = \Delta \varepsilon K_f c_L [M] = \Delta \varepsilon K_f c_L \{c_M - [ML]\}$$

Se efectúan algunas operaciones en esta expresión para obtener

$$\frac{\Delta A}{b} = \frac{\Delta \varepsilon K_f c_L c_M}{1 + K_f c_L} \quad (14.10)$$

Análisis de datos

La ecuación 14.10 es el fundamento de varios métodos que se resuelven mediante computadora para determinar la constante de formación K_f . En el experimento común, se usa una concentración constante de metal y se varía la concentración del ligando c_L . Luego se mide el cambio de la absorbancia ΔA en función de la concentración total del ligando, y se analizan desde el punto de vista estadístico los resultados para obtener K_f . Por desgracia, la relación que se muestra en la ecuación 14.10 no es lineal y, por consiguiente, se tiene que aplicar la regresión no lineal, a menos que se transforme la ecuación en una forma lineal.²⁷ Es posible hacer lineal la ecuación si se obtiene el recíproco de ambos miembros:

$$\frac{b}{\Delta A} = \frac{1 + K_f c_L}{\Delta \epsilon K_f c_L c_M} = \frac{1}{\Delta \epsilon K_f c_L c_M} + \frac{1}{\Delta \epsilon c_M} \quad (14.11)$$

Una gráfica con dos recíprocos de $b/\Delta A$ contra $1/c_L$ debe ser una recta de pendiente $1/\Delta \epsilon K_f c_M$ y una ordenada al origen de $1/\Delta \epsilon c_M$. Algunas veces, esta ecuación se llama ecuación de Benesi-Hildebrand.²⁸

Mediante la regresión lineal se puede obtener la constante de formación así como $\Delta \epsilon$ si se conoce c_M . Los parámetros de mínimos cuadrados que se obtienen son óptimos sólo para la ecuación hecha lineal, pero podrían no ser óptimos para la ecuación no lineal. Por tanto, la regresión no lineal es la preferida para determinar los parámetros K_f y $\Delta \epsilon$. Hay muchos programas para computadora que efectúan regresiones no lineales. Se pueden utilizar algunos con hojas de cálculo como Excel, pero no proporcionan cálculos estadísticos de la bondad del ajuste o de los errores estándar de los parámetros. En el ejemplo 14.3 se ilustra el uso de Excel para dichos cálculos. Otros programas, como Origin, Minitab, GraphPad Prism y TableCurve, ofrecen valores estadísticos más completos.

EJEMPLO 14.3

Con el fin de calcular la constante de formación de un complejo 1:1, se determinaron los valores de absorbancia de la tabla siguiente a diferentes concentraciones de ligando y a una concentración de metal de 1.00×10^{-3} M. Tanto el ion metálico no complejo como el complejo absorben radiación en la longitud de

onda a la que se efectúa el análisis. La longitud de la trayectoria de la celda es de 10 cm. Use una hoja de cálculo para determinar la constante de formación.

[L], M	A
0.0500	1.305
0.0400	1.215
0.0300	1.158
0.0200	1.034
0.0100	0.787
0.0050	0.525
0.0000	0.035

Solución

Primero se utiliza la ecuación 14.11, la forma linealizada de la ecuación 14.10. En este caso, se necesita calcular $1/[L]$ y $b/\Delta A$. La hoja de cálculo resultante se presenta en la figura 14.20. El valor de K_f determinado mediante este método es 96 y $\Delta \epsilon$ es 152. Luego se tiene que utilizar el Solver de Excel para obtener los resultados de la ecuación no lineal 14.10.²⁹ Se empieza con los valores iniciales de los parámetros $K_f = 10$ y $\Delta \epsilon = 50$. Como se ve en la figura 14.21a, el ajuste no es bueno con estos valores. Con las determinaciones iniciales se calculan los valores predichos por el modelo y se obtienen las diferencias entre el modelo y los valores de los datos (residuos). Luego Solver reduce al mínimo la suma de los cuadrados de los residuos para obtener los valores del mejor ajuste que se muestran en la figura 14.21b. Entonces el ajuste es muy bueno, como se puede ver en la gráfica. Los parámetros de regresión no lineal son $K_f = 97$ y $\Delta \epsilon = 151$.

Generalización para equilibrio complicado

La ecuación 14.10 se puede modificar para ajustar muchos otros casos. Se puede generalizar para explicar la formación de complejos polinucleares y para el caso de equilibrios múltiples. Sin embargo, la espectroscopía de absorción en las regiones UV y visible no se adapta muy bien a los equilibrios múltiples debido a que no es específico y porque cada equilibrio que se añade suma dos incógnitas, un término de la constante de formación y un término de la absorptividad molar.

La introducción de los sistemas espectrométricos con detectores en serie ha dado origen a varios nue-

²⁷Véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8ª. ed., cap. 8, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

²⁸H. Benesi y J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, p. 2703.

²⁹Si desea mayor información sobre el uso de Excel en la regresión no lineal, refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, cap. 13, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

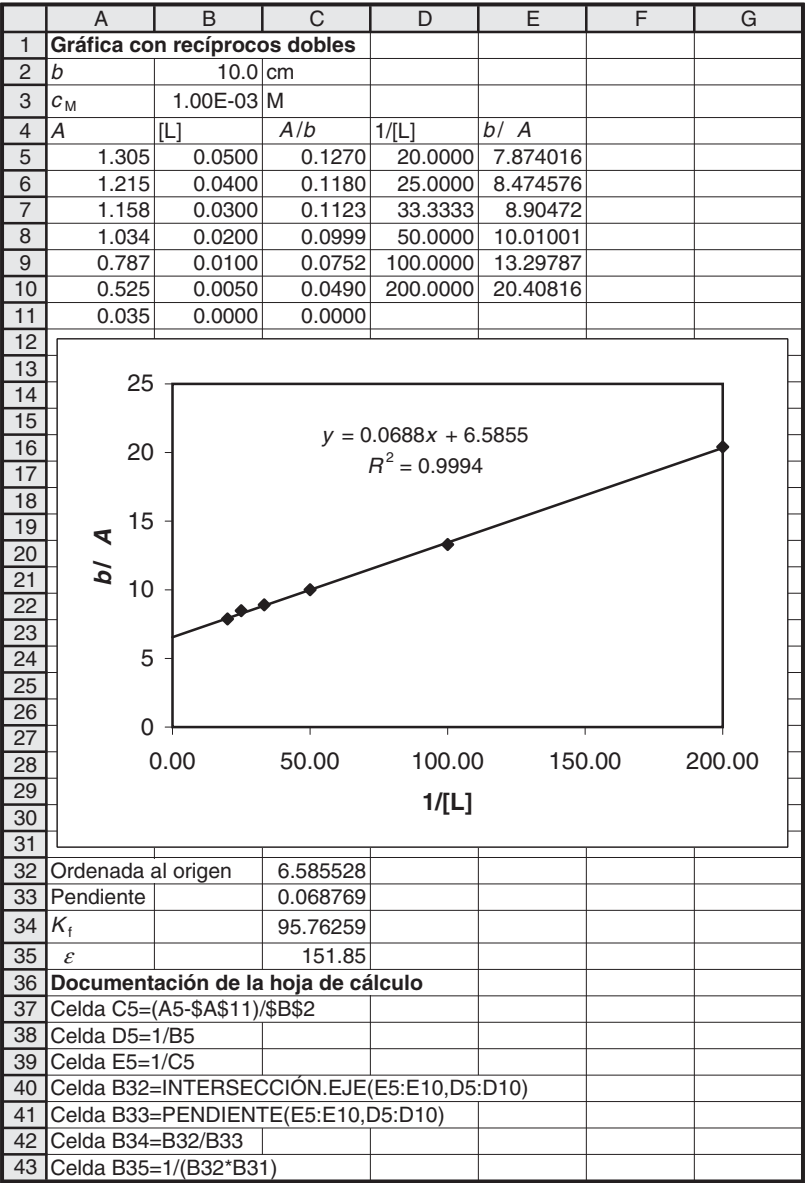


FIGURA 14.20 Hoja de cálculo para calcular la constante de formación de un complejo a partir de los datos de absorbancia y mediante una gráfica con recíprocos dobles. La ecuación 14.10 se hace lineal al calcular los recíprocos en las columnas D y E. La pendiente y la ordenada al origen de mínimos cuadrados se dan en la gráfica y en las celdas abajo de la gráfica. Los parámetros K_f y $\Delta\epsilon$ se determinan en las celdas B34 y B35.

vos procedimientos de análisis de datos. En lugar de usar datos de una sola longitud de onda, dichos procedimientos pueden aprovechar en forma simultánea datos de diferentes longitudes de onda. Mediante las modernas computadoras, ecuaciones similares a la 14.10 se pueden ajustar casi en forma simultánea a varias longitudes de onda utilizando programas para ajustar curvas, como TableCurve (Systat Software).

Si se conocen las constantes de formación o se determinan mediante los métodos apenas mencionados,

hay varios programas para determinar la composición de las especies a varias concentraciones. Los programas HALTAFALL³⁰ y COMICS³¹ son los que han tenido más aceptación durante muchos años para hacer

³⁰N. Ingri, W. Kalolowicz, L. G. Sillén y B. Warnqvist, *Talanta*, **1967**, *14*, p. 1261.
³¹D. D. Perrin y I. G. Sayce, *Talanta*, **1967**, *14*, p. 833.

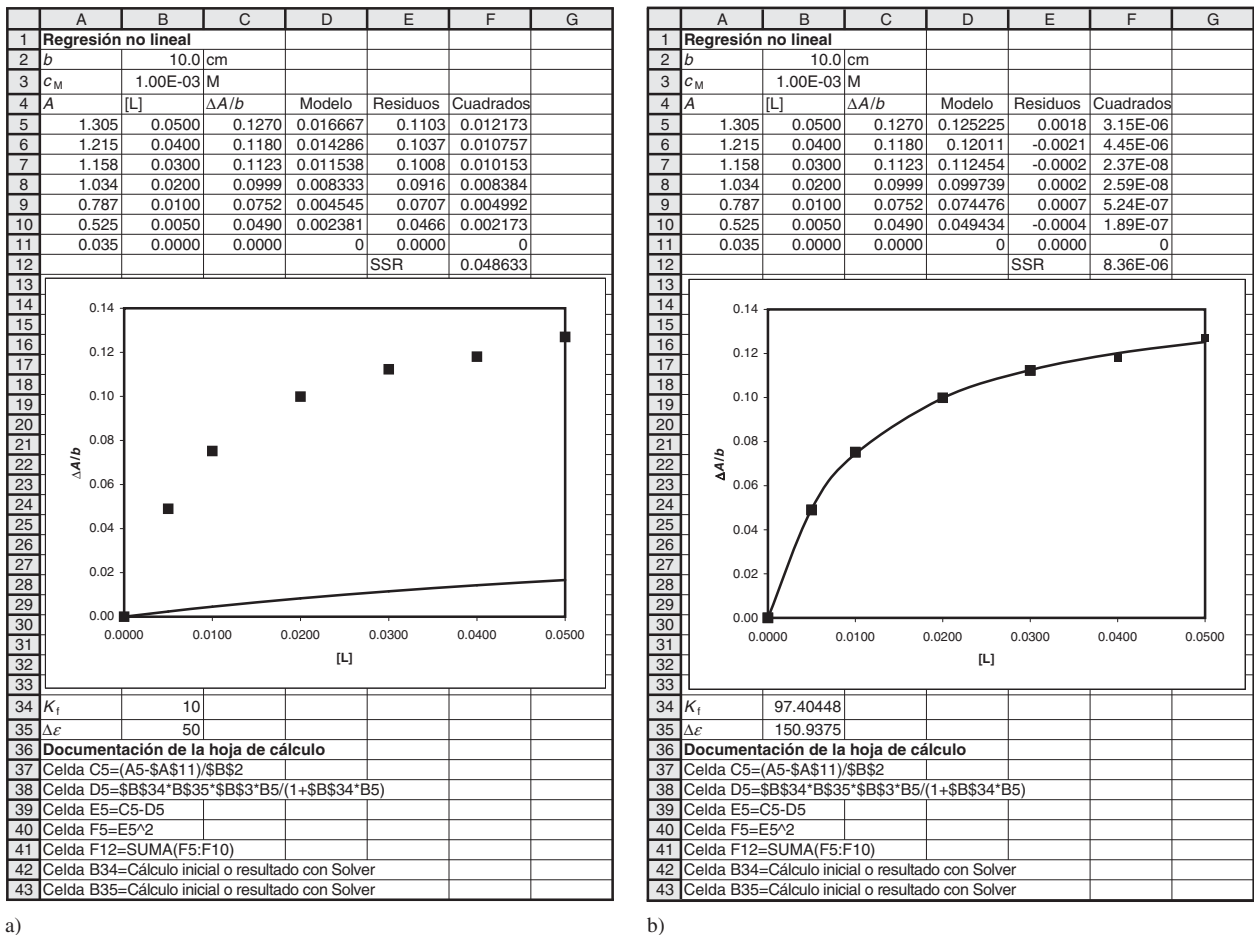


FIGURA 14.21 Hojas de cálculo para determinar las constantes de formación mediante regresión no lineal. a) Los resultados del modelo (ecuación 14.10) se calculan en la columna D con las determinaciones iniciales de $K_f = 10$ y $\Delta\epsilon = 50$. La gráfica muestra los valores del modelo (línea continua) y los datos (puntos). La diferencia entre los valores de los datos (columna C) y los valores del modelo (columna D) son los residuos que se muestran en la columna E. Los cuadrados de éstos se calculan en la columna F y se suman en la celda F12 (SSR). En b), el Solver de Excel ha reducido al mínimo el valor de la celda F12 para obtener los valores de mejor ajuste que se muestran en las celdas B34 y B35. Los valores del modelo se muestran una vez más como la línea continua en la gráfica.

determinaciones en sistemas complejos. Estos programas utilizan las constantes de formación y las expresiones de balance de masa para calcular la composición

de las especies en función de las concentraciones iniciales. Hay diversas versiones modernas, sin olvidar algunas que trabajan en un ambiente Windows.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

*14.1 Una alícuota de 25.0 mL de una solución acuosa de quinina se diluyó hasta 50.0 mL y se determinó que su absorbancia es de 0.656 a 348 nm cuando se midió en

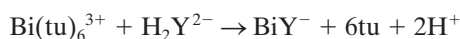
una celda de 2.50 cm. Una segunda alícuota de 25.0 mL se mezcló con 10.00 mL de una solución que contenía 25.7 ppm de quinina; después de diluir hasta 50.0 mL, esta solución presentó una absorbancia de 0.976 (celda de 2.50 cm). Calcule la concentración, en partes por millón, de quinina en la muestra.

- *14.2 Una muestra de 0.5990 g de un plaguicida se descompuso mediante calcinación húmeda y, a continuación, se diluyó hasta 200.0 mL en un matraz volumétrico. El análisis se completó tratando las alícuotas de esta solución como se indica.

Volumen de muestra tomado, mL	Volúmenes de reactivo utilizados, mL			Absorbancia, A, 545 nm (celdas de 1.00 cm)
	2.75 ppm Cu ²⁺	Ligando	H ₂ O	
5.00	0.00	20.0	25.0	0.723
5.00	1.00	20.0	24.0	0.917

Calcule el porcentaje de cobre en la muestra.

- 14.3 Trace una curva de titulación fotométrica para la titulación de Sn²⁺ con MnO₄⁻. ¿Qué color de radiación se debe usar para esta titulación? Explique.
- 14.4 El hierro(III) reacciona con tiocianato para formar el complejo rojo Fe(SCN)²⁺. Grafique una curva de titulación fotométrica para Fe(III) con ion tiocianato cuando se utiliza un fotómetro con un filtro verde para reunir datos. ¿Por qué se usa un filtro verde?
- 14.5 El ácido etilendiaminotetraacético separa bismuto(III) de su complejo con tiourea:



donde tu es la molécula de tiourea (NH₂)₂CS. Pronostique la forma de la curva para la titulación fotométrica con base en este proceso, dado que el bismuto(III) o el complejo de tiourea es la única especie en el sistema que absorbe luz a 465 nm, la longitud de onda elegida para el análisis.

- *14.6 Los datos siguientes (celdas de 1.00 cm) se obtuvieron en una titulación espectrofotométrica de 10.00 mL de Pd(II) con 2.44×10^{-4} M Nitroso R (O. W. Rollins y M. M. Oldham, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, p. 262).

Volumen de R nitroso R, mL	A ₅₀₀
0	0
1.00	0.147
2.00	0.271
3.00	0.375

Calcule la concentración de la solución Pd(II), dado que la relación entre ligando y catión en el producto coloreado es de 2:1.

- *14.7 Una muestra de 3.65 g de petróleo se desintegró mediante calcinación húmeda y después se diluyó en un matraz volumétrico para obtener 500 mL. Se determinó el cobalto tratando alícuotas de 25.00 mL de esta solución diluida como sigue:

Volumen del reactivo, mL			
Co(II), 4.25 ppm	Ligando	H ₂ O	Absorbancia (celda de 1.00 cm)
0.00	20.00	5.00	0.276
5.00	20.00	0.00	0.491

Suponga que el quelato de Co(II)-ligando cumple con la ley de Beer y calcule el porcentaje de cobalto en la muestra original.

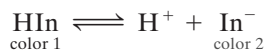
- *14.8** La determinación simultánea de cobalto y níquel se puede basar en la absorción de sus respectivos complejos con 8-hidroxiquinolinol. Las absorptividades molares correspondientes a sus máximos de absorción son las siguientes:

	Absortividad molar, ϵ	
	365 nm	700 nm
Co	3529	428.9
Ni	3228	10.2

Calcule la concentración molar de níquel y cobalto en cada una de las siguientes soluciones, con base en los siguientes datos:

Solución	Absorbancia, A (celdas de 1.00 cm)	
	365 nm	700 nm
a)	0.426	0.026
b)	0.792	0.081

- *14.9** Cuando se midió en una celda de 1.00 cm una solución 7.50×10^{-5} M de la especie A presentó absorbancias de 0.155 y 0.755 a 475 y 700 nm, respectivamente. Una solución de 4.25×10^{-5} M de la especie B dio absorbancias de 0.702 y 0.091 en las mismas condiciones. Calcule las concentraciones de A y B en soluciones que dieron los siguientes resultados de absorbancia en una celda de 2.50 cm: a) 0.439 a 475 nm y 1.025 a 700 nm; b) 0.662 a 475 nm y 0.815 a 700 nm.
- *14.10** El indicador ácido-básico HIn experimenta la siguiente reacción en una solución acuosa diluida:



Se obtuvieron los siguientes datos de absorbancia para una solución 5.00×10^{-4} M de HIn en NaOH 0.1 M y HCl 0.1 M. Las mediciones se realizaron a las longitudes de onda de 485 nm y 625 nm en celdas de 1.00 cm.

NaOH 0.1 M	$A_{485} = 0.075$	$A_{625} = 0.904$
HCl 0.1 M	$A_{485} = 0.487$	$A_{625} = 0.181$

En la solución de NaOH, prácticamente todo el indicador está presente como In^- ; en la solución ácida está todo prácticamente en forma de HIn.

- Calcule las absorptividades molares para In^- y HIn a 485 y 625 nm.
- Determine la constante de disociación ácida del indicador si una solución amortiguadora de pH 5.00 que contiene una pequeña cantidad de indicador presenta una absorbancia de 0.567 a 485 nm y 0.395 a 625 nm (celdas de 1.00 cm).
- ¿Cuál es el pH de una solución que contiene una pequeña cantidad del indicador y que manifiesta una absorbancia de 0.492 a 485 nm y 0.245 a 635 nm (celdas de 1.00 cm)?
- Una alícuota de 25.00 mL de una solución de un ácido orgánico débil purificado HX necesitó exactamente 24.20 mL de solución patrón de una base fuerte para alcanzar el punto final con fenolftaleína. Cuando se añadieron

exactamente 12.10 mL de la base a una segunda alícuota de 25.00 mL del ácido, que contiene una pequeña cantidad del mismo indicador, la absorbancia fue de 0.333 a 485 nm y 0.655 a 625 nm (celdas de 1.00 cm). Calcule el pH de la solución y la K_a del ácido débil.

- e) ¿Cuál sería la absorbancia de una solución que era 2.00×10^{-4} M en el indicador a 485 y a 625 nm, amortiguada a un pH = 6.000 (celdas de 1.50 cm)?



- 14.11** Tras las diluciones oportunas de una solución patrón, se obtuvieron concentraciones de hierro que se presentan a continuación. Luego se obtuvo el complejo de hierro(II)-1,10-fenantrolina en alícuotas de 25.0 mL de estas soluciones y después cada una de ellas se diluyó hasta 50.0 mL. Se registraron las siguientes absorbancias a 510 nm (celdas de 1.00 cm):

Concentración de Fe(II) en las soluciones originales, ppm	A_{510}
4.00	0.160
10.0	0.390
16.0	0.630
24.0	0.950
32.0	1.260
40.0	1.580

- a) Construya una curva de calibración a partir de estos datos.
 b) Por medio del método de los mínimos cuadrados deduzca una ecuación que relacione la absorbancia con la concentración de hierro(II).
 c) Calcule la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada al origen.



- 14.12** El método desarrollado en el problema 14.11 se aplicó en la determinación rutinaria de hierro en alícuotas de 25.0 mL de aguas subterráneas. Expresa la concentración de Fe en ppm de muestras que dieron los datos de absorbancia que siguen (en celdas de 1.00 cm). Determine la desviación estándar del resultado. Suponga que los datos de absorbancia son la media de tres medidas y repita los cálculos.

- a) 0.143 c) 0.068 e) 1.512
 b) 0.675 d) 1.009 f) 0.546



- 14.13** El cobre(II) forma un complejo 1:1 con el agente complejante orgánico R en un medio ácido. La formación del complejo se puede supervisar en forma espectrofotométrica a 480 nm. Mediante los datos siguientes reunidos en condiciones de pseudoprimer orden trace una curva de calibración de velocidad contra concentración de R. Determine la concentración de cobre(II) en una incógnita cuya velocidad en las mismas condiciones fue de $6.2 \times 10^{-3} \text{ A s}^{-1}$.

$c_{\text{Cu}^{2+}}$, ppm	Velocidad, A s^{-1}
3.0	3.6×10^{-3}
5.0	5.4×10^{-3}
7.0	7.9×10^{-3}
9.0	1.03×10^{-2}

- *14.14** El aluminio forma un complejo 1:1 con 2-hidroxi-1-naftaldehído *p*-metoxibenzoilhidroxonal, el cual absorbe radiación UV a 285 nm. En condiciones de pseudoprimer orden, la gráfica de la velocidad inicial de reacción (unidades

de absorbancia por segundo) contra la concentración de aluminio (en μM) es una línea recta descrita por la siguiente ecuación

$$\text{velocidad} = 1.74c_{\text{Al}} - 0.225$$

Determine la concentración del aluminio en una solución que manifiesta una velocidad de 0.76 unidades de absorbancia por segundo en las mismas condiciones experimentales.

***14.15** La enzima monoaminaoxidasa cataliza la oxidación de aminas para obtener aldehídos. En el caso de la triptamina, la K_m de la enzima es $4.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ y $v_{\text{máx}} = k_2[E]_0 = 1.6 \times 10^{-3} \mu\text{M}/\text{min}$ a un pH de 8. Determine la concentración de una solución de triptamina que reacciona a una velocidad de $0.18 \mu\text{M}/\text{min}$ en presencia de monoaminaoxidasa en las condiciones descritas. Suponga que $[\text{triptamina}] \ll K_m$.

14.16 La sal de sodio del ácido 2-quinizarinsulfónico (NaQ) forma un complejo con Al^{3+} que absorbe radiación con fuerza a 560 nm .³² a) Use los datos del trabajo de Owens y Yoe para determinar la fórmula del complejo. En todas las soluciones, $c_{\text{Al}} = 3.7 \times 10^{-5} \text{ M}$, y todas las mediciones se efectuaron en celdas de 1.00 cm . b) Calcule la absorptividad molar del complejo.

c_Q, M	A_{560}
1.00×10^{-5}	0.131
2.00×10^{-5}	0.265
3.00×10^{-5}	0.396
4.00×10^{-5}	0.468
5.00×10^{-5}	0.487
6.00×10^{-5}	0.498
8.00×10^{-5}	0.499
1.00×10^{-4}	0.500

 **14.17** Los datos siguientes se obtuvieron en una investigación sobre la relación de pendientes del complejo formado por Ni^{2+} y el ácido 1-ciclopenteno-1-ditiocarboxílico (CDA). Las mediciones se realizaron a 530 nm en celdas de 1.00 cm .

$c_{\text{CDA}} = 1.00 \times 10^{-3} \text{ M}$		$c_{\text{Ni}} = 1.00 \times 10^{-3} \text{ M}$	
c_{Ni}, M	A_{530}	c_{CDA}, M	A_{530}
5.00×10^{-6}	0.051	9.00×10^{-6}	0.031
1.20×10^{-5}	0.123	1.50×10^{-5}	0.051
3.50×10^{-5}	0.359	2.70×10^{-5}	0.092
5.00×10^{-5}	0.514	4.00×10^{-5}	0.137
6.00×10^{-5}	0.616	6.00×10^{-5}	0.205
7.00×10^{-5}	0.719	7.00×10^{-5}	0.240

- a) Determine la fórmula del complejo. Use mínimos cuadrados lineales para analizar los datos.
b) Calcule la absorptividad molar del complejo y su incertidumbre.

 **14.18** Los datos sobre absorción que siguen se registraron a 390 nm en celdas de 1.00 cm para un estudio sobre variación continua del producto coloreado formado con Cd^{2+} y el reactivo complejante R.

³²E. G. Owens y J. H. Yoe, *Anal. Chem.*, **1959**, *31*, p. 385.

Solución	Volúmenes de reactivo, mL		A_{390}
	$c_{\text{Ca}} = 1.25 \times 10^{-4} \text{ M}$	$c_{\text{R}} = 1.25 \times 10^{-4} \text{ M}$	
0	10.00	0.00	0.000
1	9.00	1.00	0.174
2	8.00	2.00	0.353
3	7.00	3.00	0.530
4	6.00	4.00	0.672
5	5.00	5.00	0.723
6	4.00	6.00	0.673
7	3.00	7.00	0.537
8	2.00	8.00	0.358
9	1.00	9.00	0.180
10	0.00	10.00	0.000

- Determine la relación entre ligando y metal en el producto.
- Calcule un valor promedio de la absorptividad molar del complejo y su incertidumbre. Suponga que en los segmentos lineales de la gráfica el metal está complejoado por completo.
- Calcule K_f del complejo mediante la relación estequiométrica determinada en a) y los datos de absorción en el punto de intersección de las dos líneas extrapoladas.



14.19 El paladio(II) forma un complejo de color intenso a $\text{pH} = 3.5$ con arsenazo III a 660 nm.³³ Se pulverizó un meteorito por medio de un molino de bolas y el polvo resultante fue sometido a digestión con varios ácidos minerales fuertes. La solución resultante se evaporó para que se secara, luego se disolvió en ácido clorhídrico diluido y se separó de agentes que ocasionan interferencias por medio de cromatografía de intercambio de iones. La solución resultante que contiene una cantidad desconocida de Pd(II) se diluyó hasta 50.00 mL con una solución amortiguadora de $\text{pH} 3.5$. Se transfirieron alícuotas de 10 mL de esta solución de analito a seis matraces volumétricos de 50 mL. Se preparó entonces una solución patrón $1.00 \times 10^{-5} \text{ M}$ en Pd(II). Los volúmenes de la solución estándar que se proporcionan en la tabla se vaciaron con una pipeta en los matraces volumétricos junto con 10.00 mL de arsenazo III 0.01 M. Cada solución se diluyó luego a 50 mL y se midió la absorbancia de cada una de ellas a 660 nm en celdas de 1.00 cm.

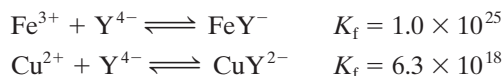
Volumen de la solución patrón, mL	A_{660}
0.00	0.216
5.00	0.338
10.00	0.471
15.00	0.596
20.00	0.764
25.00	0.850

- Incorpore los datos en una hoja de cálculo y elabore una gráfica de adiciones estándar de los datos.
- Determine la pendiente y la ordenada al origen de la recta.

³³J. G. Sen Gupta, *Anal. Chem.*, **1967**, 39, p. 18.

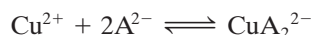
- c) Determine la desviación estándar de la pendiente y la ordenada al origen.
 d) Calcule la concentración de Pd(III) en la solución del analito.
 e) Determine la desviación estándar de la concentración medida.

14.20 A partir de las reacciones siguientes

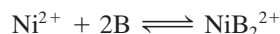


y de información adicional que señala que entre los reactivos y productos diversos sólo CuY^{2-} absorbe radiación a 750, explique cómo Cu(II) se podría utilizar como indicador en la titulación fotométrica de Fe(III) con H_2Y^{2-} . Reacción:
 $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{Y}^{2-} \rightarrow \text{FeY}^- + 2\text{H}^+$.

***14.21** El quelato 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, 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 solución en la cual la concentración analítica de Cu^{2+} es de $2.15 \times 10^{-4} \text{ M}$ y la de A^{2-} es $9.00 \times 10^{-3} \text{ M}$ tiene una absorbancia de 0.759 cuando se mide en una celda de 1.00 cm a 480 nm. Una solución en la cual las concentraciones analíticas de Cu^{2+} y de A^{2-} son $2.15 \times 10^{-4} \text{ M}$ y $4.00 \times 10^{-4} \text{ M}$, respectivamente, tiene una absorbancia de 0.654 cuando se mide en las mismas condiciones. Utilice esta información para calcular la constante de formación K_f del proceso



***14.22** La mezcla del reactivo quelante B con Ni(II) origina NiB_2^{2+} , muy coloreado, cuyas soluciones cumplen con la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones a 395 nm. Siempre que la concentración analítica del agente quelante exceda a la de Ni(II) en un factor de 5 o más, el catión existe dentro de los límites de observación, enteramente en forma de complejo. Con los datos siguientes calcule la constante de formación K_f del proceso



Concentración analítica, M		
Ni^{2+}	B	A_{395} (celdas de 1.00 cm)
2.00×10^{-4}	2.20×10^{-1}	0.844
2.00×10^{-4}	1.50×10^{-3}	0.316



14.23 Para determinar la constante de formación de un complejo 1:1, las absorbancias que siguen se midieron a 470 nm en una celda de 2.50 cm para las concentraciones del ligando que se muestran. La concentración total del metal fue $c_M = 7.50 \times 10^{-4} \text{ M}$.

[L], M	A
0.0750	0.679
0.0500	0.664
0.0300	0.635
0.0200	0.603
0.0100	0.524
0.0050	0.421
0.0000	0.056

- a) Aplique la regresión lineal y la ecuación de Benesi-Hildebrand (ecuación 14.11) para determinar la constante de formación y la diferencia en las absorptividades molares a 470 nm.
- b) Use la regresión no lineal y la ecuación 14.10 para calcular los valores de K_f y $\Delta\epsilon$. Comience con las estimaciones iniciales de $K_f = 50$ y $\Delta\epsilon = 50$.

Problema de reto

- 14.24** a) Demuestre matemáticamente que el máximo en la gráfica de las variaciones continuas se presenta en una relación combinada que da la composición del complejo.
- b) Demuestre que la constante de formación global del complejo ML_n es

$$K_f = \frac{\left(\frac{A}{A_{\text{extr}}}\right)c}{\left[c_M - \left(\frac{A}{A_{\text{extr}}}\right)c\right]\left[c_L - n\left(\frac{A}{A_{\text{extr}}}\right)c\right]^n}$$

donde A es la absorbancia experimental a un valor dado sobre el eje x en una gráfica de variaciones continuas, A_{extr} es la absorbancia determinada a partir de las líneas extrapoladas que corresponden al mismo punto del eje x , c_M es la concentración molar analítica del metal, c_L es la concentración molar analítica del ligando y n es la relación del ligando respecto al metal en el complejo.³⁴

- c) ¿Con base en qué supuestos es válida la ecuación?
- d) ¿Qué es c ?
- e) Analice las consecuencias de que haya un máximo en una gráfica de variaciones continuas en un valor menor que 0.5.
- f) Calabrese y Khan³⁵ caracterizaron el complejo formado con I_2 e I^- usando el método de las variaciones continuas. Combinaron soluciones de I_2 e I^- 2.60×10^{-4} M en la manera usual para obtener el siguiente conjunto de datos. Con dichos datos determine la composición del complejo I_2/I^- .

$V(I_2 \text{ soln}), \text{ mL}$	A_{350}
0.00	0.002
1.00	0.121
2.00	0.214
3.00	0.279
4.00	0.312
5.00	0.325
6.00	0.301
7.00	0.258
8.00	0.188
9.00	0.100
10.00	0.001

- g) Al parecer, la gráfica de las variaciones continuas es asimétrica. Refiérase al trabajo de Calabrese y Khan y explique dicha asimetría.
- h) Mediante la ecuación del inciso a) determine la constante de formación del complejo para cada uno de los tres puntos centrales de la gráfica de variaciones continuas.

³⁴ J. Inczédy, *Analytical Applications of Complex Equilibria*, Nueva York: Wiley, 1976.

³⁵ V. T. Calabrese y A. Khan, *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104, p. 1287.

- i)* Explique cualquier tendencia que se observe en los tres valores de la constante de formación en función de la asimetría de la gráfica.
- j)* Determine la incertidumbre en la constante de formación mediante este método.
- k)* ¿Qué efecto, si hay alguno, ejerce la constante de formación en la aptitud para determinar la composición del complejo con el método de las variaciones continuas?
- l)* Analice las diversas ventajas y los errores potenciales del uso del método de las variaciones continuas como un sistema general para determinar la composición y la constante de formación de un compuesto complejo.

Espectrometría molecular por luminiscencia

En este capítulo se consideran tres tipos de métodos ópticos relacionados entre sí: *fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia moleculares*. En todos ellos, las moléculas del analito se excitan para generar una especie cuyo espectro de emisión suministra información para el análisis cualitativo y cuantitativo. Los métodos se conocen en conjunto como *procedimientos luminiscentes moleculares*.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

La fluorescencia y la fosforescencia se parecen en que la excitación se consigue mediante la absorción de fotones. Como consecuencia, se alude a menudo a los dos fenómenos con el término más general de *fotoluminiscencia*. Como se verá más adelante en este mismo capítulo, las transiciones energéticas electrónicas que causan la fluorescencia no cambian el espín del electrón. Por esta razón, los estados excitados en los que hay fluorescencia presentan vida corta ($<10^{-5}$ s). En cambio, las emisiones de fosforescencia están acompañadas por un cambio en el espín del electrón, y los tiempos de vida de los estados excitados son mucho más largos, con frecuencia del orden de segundos o hasta de minutos. En la mayoría de los casos, la fotoluminiscencia, tanto si es de fluorescencia como de fosforescencia, se presenta a longitudes de onda más largas que las de la radiación que se utiliza para la excitación.

El tercer tipo de luminiscencia, la quimioluminiscencia, se basa en la radiación que emite una especie excitada que se forma en el curso de una reacción química. En algunos casos, la especie excitada es el producto de una reacción entre el analito y un reactivo adecuado, casi siempre un oxidante fuerte como el ozono o el peróxido de hidrógeno. El resultado es el espectro de emisión característico del producto de oxidación del analito o del reactivo, en lugar del espectro del analito. En otros casos, el analito no participa directamente en la reacción quimioluminiscente, más bien inhibe o ejerce un efecto catalítico en una reacción quimioluminiscente.

La medición de la intensidad de la fotoluminiscencia o de la quimioluminiscencia facilita la determinación cuantitativa de un conjunto de especies inorgánicas y orgánicas importantes cuando están presentes en cantidades de trazas. En la actualidad, el número de métodos fluorométricos es mucho más grande que la cantidad de aplicaciones de los procedimientos fosforescentes y quimioluminiscentes.

Uno de los aspectos más interesantes de los métodos luminiscentes es su inherente sensibilidad, con límites de detección que son casi siempre de uno a tres órdenes de magnitud inferiores a los encontrados en la espectroscopía por absorción. En efecto, en el caso de especies seleccionadas en condiciones controladas, se han detectado moléculas únicas mediante espectroscopía por fluorescencia. Otra ventaja de los métodos fotoluminiscentes radica en sus amplios intervalos de linealidad, que también son a menudo significativamente mayores que los de los métodos de absorción. Puesto que los estados excitados son muy susceptibles de ser inactivados por colisiones u otros procesos, muchas moléculas no manifiestan fluorescencia o fosforescencia. Debido a tales procesos de desactivación, los métodos luminiscentes cuantitativos están sometidos a

graves efectos de interferencia. Por esta razón, las mediciones de luminiscencia se combinan con técnicas de separación como cromatografía y electroforesis. Los detectores de fluorescencia son en particular valiosos como detectores para cromatografía de líquidos (capítulo 28) y electroforesis capilar (capítulo 30).

En general, los métodos luminiscentes se aplican menos en el análisis cuantitativo que los métodos por absorción porque la cantidad de especies que absorben radiación ultravioleta/visible es mucho mayor que la de especies que manifiestan fotoluminiscencia tras la absorción de radiación en esta región del espectro.¹

15A TEORÍA DE LA FLUORESCENCIA Y LA FOSFORESCENCIA

La fluorescencia tiene lugar en sistemas químicos gaseosos, líquidos y sólidos, tanto sencillos como complejos. El tipo más sencillo de fluorescencia es el que manifiestan los vapores atómicos diluidos, tema que se trata en el capítulo 9. Por ejemplo, los electrones 3s de los átomos de sodio vaporizados pueden ser excitados para pasar al estado 3p cuando absorben radiación de longitudes de onda de 589.6 y 589.0 nm. Después de 10^{-8} s, los electrones vuelven al estado fundamental emitiendo radiación de estas dos mismas longitudes de onda en todas las direcciones. Este tipo de fluorescencia, en la cual la radiación absorbida se vuelve a emitir sin cambio de frecuencia, se conoce como *radiación de resonancia* o *fluorescencia de resonancia*.

Muchas especies moleculares también presentan fluorescencia de resonancia, pero lo más frecuente es encontrar bandas de fluorescencia o de fosforescencia molecular centradas en longitudes de onda más largas que la línea de resonancia. Este desplazamiento hacia longitudes de onda más largas, o menores energías, se denomina *desplazamiento Stokes* (véase sección 6C.6).

15A.1 Estados excitados que producen fluorescencia y fosforescencia

Las características de los espectros de fluorescencia y fosforescencia se pueden explicar mediante las consideraciones que se explican en la sección 14B.1 sobre orbitales moleculares. Sin embargo, para comprender la

diferencia entre los dos fenómenos fotoluminiscentes se requiere un repaso sobre el espín del electrón y las diferencias entre los estados excitados sencillo/triple.

Espín del electrón

El principio de exclusión de Pauli establece que no puede haber dos electrones en un átomo cuyos cuatro números cuánticos sean iguales. Esta restricción requiere que no haya más de dos electrones en un orbital y, además, el espín de cada uno debe ser opuesto al del otro. En estas condiciones, se dice que los espines están apareados o emparejados. Debido al emparejamiento de los espines, la mayoría de las moléculas no presenta un campo magnético neto, por eso se dice que son diamagnéticas, es decir, no son atraídas ni repelidas por campos magnéticos estáticos. Por el contrario, los radicales libres, que contienen electrones desemparejados, poseen un momento magnético y, por consiguiente, los atrae un campo magnético. Por eso se dice que los radicales libres son *paramagnéticos*.

Estados excitados sencillo/triple

Un estado electrónico de una molécula en el cual todos los espines de los electrones están emparejados se llama *estado sencillo* y cuando la molécula se expone a un campo magnético no se produce una división de niveles energéticos. Por otro lado, el estado fundamental de un radical libre es un estado *doble*, porque hay dos orientaciones posibles que puede tomar el electrón impar en un campo magnético, lo cual proporciona ligeras diferencias de energía al sistema.

Cuando uno de un par de electrones de una molécula es excitado y pasa a un nivel de energía superior, se forma un *estado sencillo* o *triple*. En el estado sencillo excitado, el espín del electrón promocionado continúa emparejado con el electrón del estado fundamental. Pero en el estado triple, los espines de los dos electrones ya no forman una pareja y, por tanto, son paralelos, es decir, tienen la misma dirección. Estos estados se pueden representar como se observa en la figura 15.1, donde las flechas representan la dirección del espín. La nomenclatura de sencillo, doble y triple procede de consideraciones espectroscópicas de *multiplicidad*, que en este caso no interesan. Observe que el estado triple excitado es menos energético que el correspondiente estado sencillo excitado.

Las propiedades de una molécula en el estado triple excitado difieren de manera significativa de las del estado sencillo excitado. Por ejemplo, una molécula es paramagnética en el estado triple y diamagnética en el sencillo. Lo más importante es el hecho de que una transición sencillo a triple, o viceversa, que también supone un cambio en el estado electrónico, es un suceso significativamente menos probable que la correspon-

¹ Si desea estudiar más sobre la teoría y las aplicaciones de la fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia, véase J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2a. ed., Nueva York: Kluwer Academic Publishing/Plenum Press, 1999; *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. Schulman, ed., Nueva York: Wiley, parte I, 1985; parte 2, 1988, parte 3, 1993; E. L. Wehry en *Physical Methods of Chemistry*, 2a. ed., volumen VIII, capítulo 3, B. W. Rossiter y R. C. Baetzold, eds., Nueva York: Wiley, 1993; G. G. Guilbault, *Practical Fluorescence*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1990.

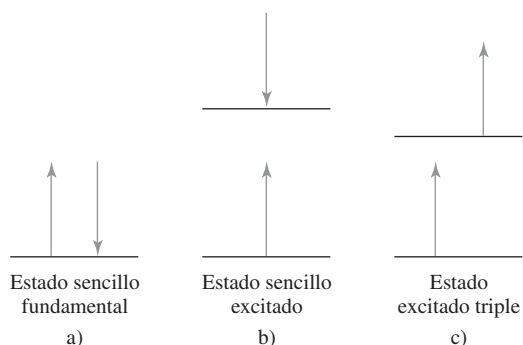


FIGURA 15.1 Estados electrónicos del espín de moléculas. En a) se ilustra el estado electrónico fundamental. En el estado energético más bajo, es decir, el fundamental, los espines siempre están emparejados, por lo que se dice que el estado es sencillo. En b) y c) se muestran los estados electrónicos excitados. b) Si los espines siguen formando pareja en el estado excitado, la molécula está en un estado excitado sencillo. c) Si los espines ya no están emparejados, la molécula está en un estado excitado triple.

diente transición sencillo a sencillo. Por tanto, el tiempo de vida medio de un estado triple excitado dura a veces desde 10^{-4} hasta varios segundos, mientras que el tiempo de vida medio para un estado sencillo excitado es de $\sim 10^{-8}$. Además, es baja la probabilidad de que tenga lugar la excitación inducida por radiación de una molécula en el estado fundamental a un estado

triple excitado, y las bandas de absorción debidas a este proceso son varios órdenes de magnitud menos intensos que los correspondientes a las transiciones análogas sencillo a sencillo. Más adelante se verá que, en ciertas moléculas, un estado triple excitado puede poblarse a partir de un estado sencillo excitado. Con frecuencia, la emisión de fosforescencia es el resultado de dicho proceso.

Diagramas de nivel de energía para las moléculas fotoluminiscentes

La figura 15.2 es un diagrama parcial de niveles de energía, llamado *diagrama de Jablonski*, para una molécula fotoluminiscente típica. La línea horizontal gruesa que se encuentra en la parte inferior de la figura representa la energía del estado fundamental de la molécula, que normalmente está en estado sencillo y se designa S_0 . A temperatura ambiente, este estado representa la energía de la mayor parte de las moléculas en una solución.

Las líneas gruesas superiores son los niveles de energía de los estados vibracionales fundamentales de tres estados electrónicos excitados. Las dos líneas situadas a la izquierda representan los estados electrónicos sencillo primero (S_1) y segundo (S_2). La línea de la derecha (T_1) representa la energía del primer estado electrónico *triple*. Como suele ocurrir, la energía del primer estado triple excitado es menor que la energía del correspondiente estado sencillo.

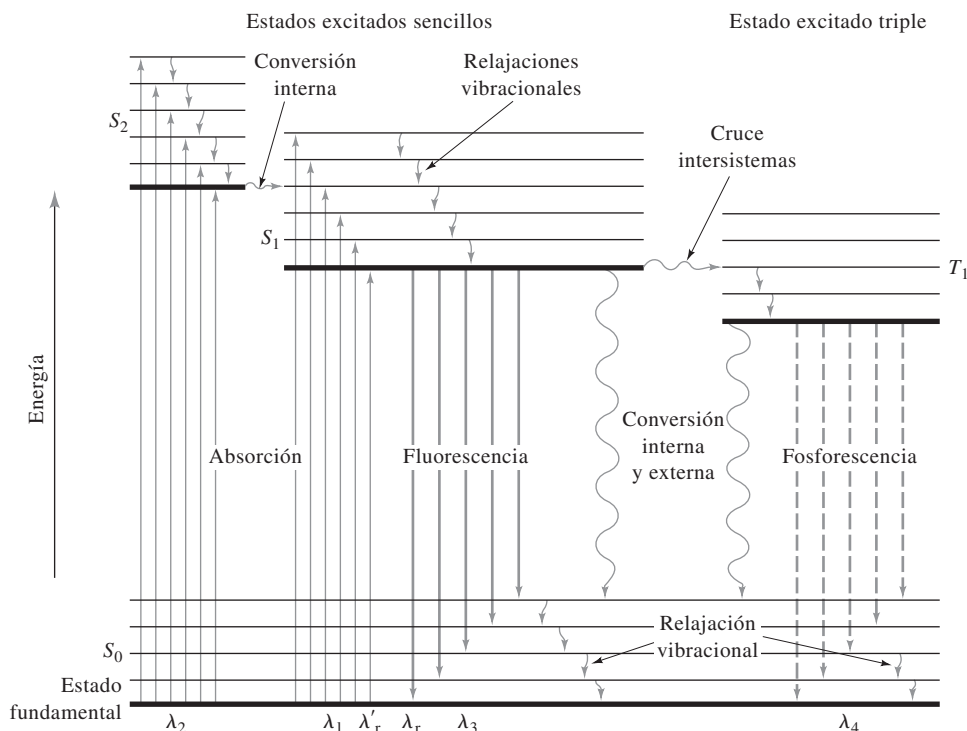


FIGURA 15.2 Diagrama parcial de los niveles de energía para un sistema fotoluminiscente.

Tal como lo sugieren las rectas horizontales finas, con cada uno de los cuatro estados electrónicos están asociados numerosos niveles de energía vibracionales. Como muestra la figura 15.2, las transiciones de absorción ocurren desde el estado fundamental electrónico sencillo (S_0) hacia varios niveles vibracionales de estados electrónicos sencillos excitados (S_1 y S_2). Observe que no se muestra la excitación directa hacia el estado triple. Puesto que en esta transición hay un cambio en la multiplicidad, tiene una baja probabilidad de suceder. Una transición de probabilidad baja de este tipo se llama *transición prohibida*.

Las moléculas excitadas hacia los estados electrónicos S_1 y S_2 pierden con rapidez el exceso de energía vibracional y se relajan, con lo que adquieren el nivel vibracional fundamental de ese estado electrónico. Este proceso en el que no hay radiación se denomina *relajación vibracional*.

15A.2 Velocidades de absorción y de emisión

La velocidad a la cual se absorbe un fotón de radiación es enorme, y su valor es del orden de 10^{-14} a 10^{-15} s. Por otro lado, la emisión fluorescente tiene lugar a una velocidad significativamente más baja. Por lo regular, la fluorescencia se presenta en 10^{-5} a 10^{-10} s. Como ya se señaló, la velocidad promedio de una transición triple a sencillo es menor que la correspondiente transición sencillo a sencillo. Entonces, para que haya emisión fosforescente se requieren tiempos comprendidos entre 10^{-4} y 10 s o más.

15A.3 Procesos de desactivación

Una molécula excitada puede volver a su estado fundamental mediante una combinación de varias etapas mecánicas. Como lo muestran las flechas verticales rectas con punta hacia abajo de la figura 15.2, dos de estas etapas, fluorescencia y fosforescencia, requieren la emisión de un fotón de radiación. Las otras etapas de desactivación, indicadas por flechas onduladas, son procesos no radiantes. El camino más propicio hacia el estado fundamental es aquel que reduce al mínimo el tiempo de vida del estado excitado. Por consiguiente, si la desactivación por fluorescencia es más rápida que los procesos no radiantes, se observa tal emisión. En cambio, si una trayectoria no radiante tiene una constante de velocidad más favorable, no hay fluorescencia o es menos intensa.

La fotoluminiscencia está limitada a sistemas con características estructurales y ambientales que hacen que la velocidad de los procesos de relajación o desactivación no radiantes disminuya hasta el punto en el que el proceso de emisión pueda competir cinéticamente con ellos. Respecto a la cuestión cuantitativa, se entienden bien los procesos de emisión, pero apenas se empiezan a comprender los procesos de desactivación.

Relajación vibracional

Como se muestra en la figura 15.2, una molécula puede ser promovida para llegar a cualquiera de los diversos niveles vibracionales durante el proceso de excitación electrónico. Las colisiones entre moléculas de las especies excitadas y las del solvente ocasionan una transferencia de energía rápida y un incremento minúsculo de la temperatura del solvente. La relajación vibracional es tan eficaz que el tiempo de vida medio de una molécula excitada en forma *vibracional* es 10^{-12} s o menos, un periodo significativamente más corto que el tiempo de vida medio de un estado excitado con medios *electrónicos*. Como consecuencia, la fluorescencia de una solución siempre involucra una transición *desde el nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado*. Sin embargo, se producen varias líneas de emisión muy próximas, y la transición puede finalizar en cualquiera de los niveles vibracionales del estado fundamental (figura 15.2).

Una consecuencia de la eficacia de la relajación vibracional es que la banda de fluorescencia para una transición electrónica dada se desplaza hacia menores frecuencias o longitudes de onda más largas respecto a la banda de absorción (el desplazamiento Stokes). El traslape sólo tiene lugar en el pico de resonancia relacionado con transiciones entre el nivel vibracional más bajo del estado fundamental y el nivel correspondiente de un estado excitado. En la figura 15.2 la longitud de onda de la radiación absorbida que produce el pico de resonancia λ_r se representa como λ'_r .

Conversión interna

Con esta expresión se describen los procesos intermoleculares por los cuales la molécula pasa a un estado electrónico de más baja energía sin emitir radiación. Estos procesos ni están bien definidos ni se entienden bien, pero es evidente que son muy eficaces.

La conversión interna es un cruce entre dos estados de la misma multiplicidad (sencillo-sencillo o triple-triple). Es eficaz en particular cuando dos niveles de energía electrónicos están lo suficientemente próximos como para que haya traslape de los niveles de energía vibracional. Esta situación es la que se ilustra en la figura 15.2 para los dos estados sencillos excitados S_2 y S_1 . En los traslapes que se muestran, las energías potenciales de los dos estados excitados son idénticas, lo cual facilita un cruce eficaz desde S_2 y S_1 . Asimismo, la conversión interna ocurre entre el estado S_1 y el estado electrónico fundamental S_0 . Por lo regular, es más probable la conversión interna a través de niveles vibracionales traslapados que la pérdida de energía por fluorescencia a partir de un estado excitado superior. Por consiguiente, en referencia de nuevo a la figura 15.2, la excitación producida por la banda de radiación

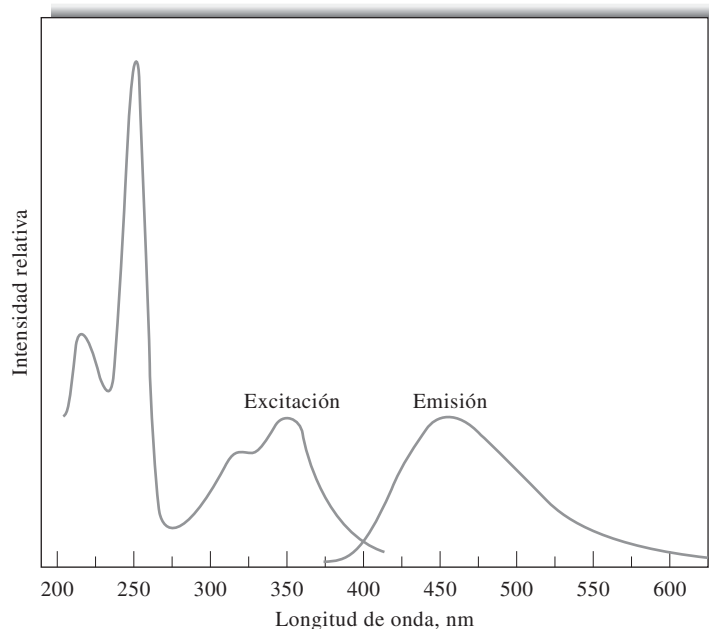


FIGURA 15.3 Excitación de fluorescencia y espectros de emisión de una solución de quinina.

llamada λ_2 produce casi siempre una banda de fluorescencia centrada en una longitud de onda λ_3 con exclusión de una banda que resultaría de una transición entre S_2 y S_0 . En este caso, la molécula excitada pasa del estado electrónico superior al estado vibracional más bajo del estado electrónico excitado más bajo mediante una serie de relajaciones vibracionales, una conversión interna y relajaciones posteriores. En estas circunstancias, la fluorescencia tiene lugar sólo en λ_3 sin importar que las radiaciones de longitud de onda λ_1 o λ_2 sean las responsables de la excitación. La quinina proporciona un ejemplo clásico de este tipo de comportamiento (véase problema 15.13). Esta sustancia, presente en la naturaleza, posee dos bandas de excitación analíticamente útiles, una centrada en 250 nm y la otra en 350 nm. Sin importar qué longitud de onda se utilice para excitar la molécula, la longitud de onda del máximo de emisión es 450 nm (véase figura 15.3).

Los mecanismos del proceso de conversión interna $S_1 \rightarrow S_0$ que se muestran en la figura 15.2 aún no se comprenden del todo. En el caso de algunas moléculas, los niveles vibracionales del estado fundamental se superponen con los del primer estado electrónico excitado, y la desactivación ocurre con rapidez por el mecanismo antes descrito. Esta situación prevalece en los compuestos alifáticos, por ejemplo, y explica el hecho de que estas especies rara vez emitan fluorescencia. En esta clase de compuestos, la desactivación por transferencia de energía a través de los niveles vibracionales superpuestos tiene lugar tan rápido que no hay tiempo para que ocurra la fluorescencia.

Asimismo, la conversión interna podría ocasionar el fenómeno de la *predisociación*. En este caso, el elec-

trón se mueve desde un estado electrónico superior a un nivel vibracional superior de un estado electrónico más bajo, en el que la energía vibracional es lo suficientemente grande como para provocar la rotura de un enlace. Las moléculas grandes tienen mayor probabilidad de contener enlaces con fuerzas menores a la energía de excitación electrónica de los cromóforos. La rotura de estos enlaces puede ser consecuencia de la absorción por un cromóforo, seguida de la conversión interna de la energía electrónica en energía vibracional asociada con el enlace débil.

La predisociación debe distinguirse de la *disociación*, ya que en esta última la radiación absorbida excita de manera directa al electrón de un cromóforo para que llegue a un nivel vibracional suficientemente alto para producir la rotura del enlace del cromóforo. En este caso, no interviene la conversión interna. Los procesos de disociación también compiten con el proceso de fluorescencia.

Conversión externa

La desactivación de un estado electrónico excitado puede comprender la interacción y la transferencia de energía entre la molécula excitada y el solvente u otros solutos. Estos procesos se llaman *conversión externa*. Entre la evidencia de la conversión externa se encuentra el marcado efecto que ejerce el solvente en la intensidad de la fluorescencia de la mayor parte de las especies. Además, aquellas condiciones que tienden a reducir la cantidad de colisiones entre partículas (baja temperatura y elevada viscosidad) tienden por lo general a aumentar la fluorescencia. Los detalles de los procesos de conversión externa se desconocen aún.

Es probable que las transiciones sin radiación al estado fundamental desde los estados excitados sencillo y triple más bajos (figura 15.2) requieran tanto conversiones externas como internas.

Cruce entre sistemas

El *cruce entre sistemas* es un proceso en el cual hay un cruce entre estados electrónicos de multiplicidad distinta. El proceso más común es del estado sencillo al estado triple ($S_1 \rightarrow T_1$) como se muestra en la figura 15.2. Como con la conversión interna, la probabilidad del cruce entre sistemas aumenta si los niveles vibracionales de los dos estados se superponen. Observe que en el cruce sencillo-triple que se muestra en la figura 15.2 el nivel vibracional sencillo más bajo se superpone a uno de los niveles vibracionales triples más elevados, por lo que es más probable un cambio de espín.

El cruce entre sistemas es más común en moléculas que contienen átomos pesados, como el yodo o el bromo (*efecto del átomo pesado*). Las interacciones espín-orbital aumentan en presencia de tales átomos y, de ese modo, se favorece un cambio en el espín. La presencia de especies paramagnéticas, como el oxígeno molecular, en la solución también favorece el cruce entre sistemas y, por consiguiente, disminuye la fluorescencia.

Fosforescencia

La desactivación de estados electrónicos excitados también puede ser causada por la fosforescencia. Después del cruce entre sistemas para lograr un estado triple excitado, la desactivación posterior puede tener lugar por conversión interna o externa o por fosforescencia. Una transición triple $\rightarrow$ sencilla es mucho menos probable que una conversión sencilla-sencilla. La probabilidad de la transición y el tiempo de vida del estado excitado son inversamente proporcionales. Por tanto, el tiempo de vida promedio de un estado triple excitado respecto a la emisión es grande y varía desde 10^{-4} a 10 s o más. La emisión causada por una transición de este tipo podría persistir durante algún tiempo después de que la irradiación se haya interrumpido.

Las conversiones externas e internas compiten con tanto éxito con la fosforescencia que este tipo de emisión se observa en forma común sólo a temperaturas bajas en medios altamente viscosos o al aplicar técnicas especiales para proteger el estado triple.

15A.4 Variables que afectan la fluorescencia y la fosforescencia

Tanto la estructura molecular como el entorno químico determinan que una sustancia sea o no luminiscente. Estos factores también determinan la intensidad de emisión cuando tiene lugar la luminiscencia. En esta

sección se tratan brevemente los efectos de algunas de estas variables.

Rendimiento cuántico

El *rendimiento cuántico* o la *eficacia cuántica* de la fluorescencia o la fosforescencia es simplemente la relación entre la cantidad de moléculas que manifiestan luminiscencia y el número total de moléculas excitadas. En el caso de una molécula muy fluorescente como la fluoresceína, la eficacia cuántica, en determinadas condiciones, se aproxima a la unidad. Las especies químicas que no presentan fluorescencia apreciable tienen eficacias que se aproximan a cero.

La figura 15.2 y el análisis sobre los procesos de desactivación sugieren que el rendimiento cuántico de fluorescencia ϕ de un compuesto se puede calcular a partir de las constantes de velocidad relativas k_x para los procesos por los cuales queda inactivo el estado sencillo excitado más bajo. Estos procesos son fluorescencia (k_f), cruce entre sistemas (k_i), conversión externa (k_{ec}), conversión interna (k_{ic}), predisiociación (k_{pd}), y disociación (k_d). Es posible expresar estas relaciones mediante la ecuación

$$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ec} + k_{ic} + k_{pd} + k_d} \quad (15.1)$$

donde los términos k son las constantes de velocidad respectivas para los diversos procesos de desactivación.

La ecuación 15.1 facilita una interpretación cualitativa de muchos de los factores estructurales y del entorno que influyen en la intensidad de la fluorescencia. Aquellas variables que originan valores altos para la constante de velocidad de la fluorescencia k_f y valores bajos para los otros términos k_x intensifican la fluorescencia. La magnitud de k_f , la constante de velocidad de la predisiociación k_{pd} , y la constante de velocidad de la disociación k_d dependen principalmente de la estructura química; el resto de las constantes están fuertemente influenciadas por el entorno y, en menor medida, por la estructura.

Tipos de transiciones en fluorescencia

Es importante resaltar que la fluorescencia rara vez es consecuencia de la absorción de radiación ultravioleta de longitud de onda menor a 250 nm, porque tal radiación es suficientemente energética como para desactivar los estados excitados por predisiociación o disociación. Por ejemplo, una radiación de 200 nm corresponde a alrededor de 140 kcal/mol. La mayor parte de las moléculas tiene por lo menos algunos enlaces que se pueden romper con energías de esta magnitud. Por consiguiente, rara vez se observa fluorescencia debida a transiciones $\sigma^* \rightarrow \sigma$. En cambio, este tipo de emisión está confinada a los procesos menos energéticos $\pi^* \rightarrow \pi$ y $\pi^* \rightarrow n$.

Como ya se hizo notar, una molécula excitada electrónicamente regresa a su *estado excitado más bajo* mediante una serie de relajaciones vibracionales rápidas y conversiones internas que no producen emisión de radiación. Por tanto, la fluorescencia más común surge a partir de una transición desde el nivel vibracional más bajo del primer estado electrónico excitado a uno de los niveles vibracionales del estado electrónico fundamental. Por lo que se refiere a la mayoría de los compuestos fluorescentes, la radiación se produce por una transición $\pi^* \rightarrow n$ o $\pi^* \rightarrow \pi$ dependiendo de cuál de ellas es la menos energética.

Eficacia cuántica y tipo de transición

Se observó empíricamente que la fluorescencia se encuentra con más frecuencia en los compuestos en los que la transición de más baja energía es del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (π , estado sencillo excitado π^*) que en compuestos en los que la transición de menor energía es del tipo $n \rightarrow \pi^*$ (n , estado sencillo excitado π^*); es decir, la eficacia cuántica es mayor para las transiciones $\pi^* \rightarrow \pi$.

La mayor eficacia cuántica asociada con el estado π , π^* se puede explicar de dos maneras. Primero, la absorptividad molar de una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ es normalmente de 100 a 1000 veces superior que la de un proceso $n \rightarrow \pi^*$ y este valor representa una medida de la probabilidad de la transición. Por consiguiente, el tiempo de vida inherente asociado con el estado π , π^* es más corto (10^{-7} a 10^{-9} s comparado con 10^{-5} a 10^{-7} s para un estado n , π^*) y es mayor k_f en la ecuación 15.1.

Con frecuencia, la fosforescencia más eficaz ocurre a partir del estado excitado n , π^* el cual tiende a ser más corto en cuanto a vida y, por tanto, menos susceptible a la desactivación que un estado triple π , π^* . Asimismo, el cruce entre sistemas es menos probable para estados excitados π , π^* que para estados n , π^* porque la diferencia en energía entre los estados sencillo y triple es mayor y el acoplamiento espín-órbita es menos probable.

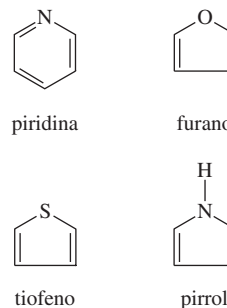
En resumen, la fluorescencia se relaciona más con el estado π , π^* porque tales estados excitados manifiestan tiempos de vida relativamente cortos (k_f es mayor) y porque es menos probable que tengan lugar los procesos de desactivación que compiten con la fluorescencia.

Fluorescencia y estructura

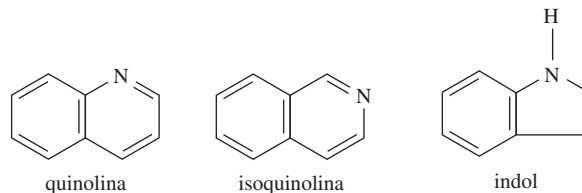
La fluorescencia más intensa y la más útil es la de los compuestos que contienen grupos funcionales aromáticos con transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de baja energía. Los compuestos que contienen grupos carbonilo en estructuras alifáticas y alicíclicas o estructuras con dobles enlaces altamente conjugados también presentan fluorescencia,

pero la cantidad de estos compuestos es pequeña comparada con el número de sistemas aromáticos.

La mayoría de los hidrocarburos aromáticos no sustituidos son fluorescentes en solución; la eficacia cuántica aumenta de ordinario en relación con la cantidad de anillos y con su grado de condensación. Los heterocíclicos sencillos, como la piridina, el furano, el tiofeno y el pirrol,



no presentan fluorescencia. Por otro lado, las estructuras de anillo condensado por lo regular sí son fluorescentes. En los heterocíclicos con nitrógeno, se supone que la transición electrónica de más baja energía requiere un sistema $n \rightarrow \pi^*$ que rápidamente se transforma en un estado triple e impide la fluorescencia. La condensación de anillos bencénicos para dar núcleos heterocíclicos, da como resultado un aumento en la absorptividad molar de la banda de absorción. En estas estructuras el tiempo de vida del estado excitado es más corto, y la fluorescencia se observa en compuestos como quinolina, isoquinolina e indol.



La sustitución en el anillo bencénico provoca desplazamientos en la longitud de onda de los máximos de absorción y cambios correspondientes en la emisión de fluorescencia. Además, la sustitución afecta con frecuencia la eficacia cuántica. Algunos de estos efectos se ilustran con los datos de los derivados del benceno que se proporcionan en la tabla 15.1.

La influencia de la sustitución de halógenos es sorprendente. La disminución de la fluorescencia con el aumento de la masa molar del halógeno es un ejemplo del efecto del átomo pesado (que ya se mencionó en la sección "Cruce entre sistemas"), el cual aumenta la probabilidad para el cruce entre sistemas hacia el estado triple. Se supone que la predisociación desem-

TABLA 15.1 Efecto de la sustitución en la fluorescencia del benceno.

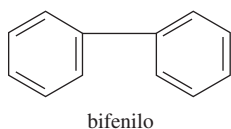
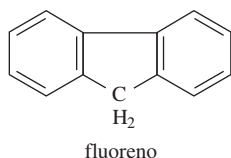
Compuesto	Fórmula	Longitud de onda de la fluorescencia, nm	Intensidad de fluorescencia relativa
Benceno	C_6H_6	270–310	10
Tolueno	$C_6H_5CH_3$	270–320	17
Propilbenceno	$C_6H_5C_3H_7$	270–320	17
Fluorobenceno	C_6H_5F	270–320	10
Clorobenceno	C_6H_5Cl	275–345	7
Bromobenceno	C_6H_5Br	290–380	5
Yodobenceno	C_6H_5I	—	0
Fenol	C_6H_5OH	285–365	18
Ion fenolato	$C_6H_5O^-$	310–400	10
Anisol	$C_6H_5OCH_3$	285–345	20
Anilina	$C_6H_5NH_2$	310–405	20
Ion anilinio	$C_6H_5NH_3^+$	—	0
Ácido benzoico	C_6H_5COOH	310–390	3
Benzonitrilo	C_6H_5CN	280–360	20
Nitrobenceno	$C_6H_5NO_2$	—	0

peña un papel importante tanto en el yodobenceno como en los nitroderivados, porque estos compuestos tienen enlaces que se rompen con facilidad y que son capaces de absorber la energía de excitación que sigue a la conversión interna.

Por lo general, la sustitución de un ácido carboxílico o de un grupo carbonilo en un anillo aromático inhibe la fluorescencia. En estos compuestos, la energía de la transición $n \rightarrow \pi^*$ es menor que la de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ y como ya se señaló antes, el rendimiento de la fluorescencia procedente de los sistemas $n \rightarrow \pi^*$ es normalmente bajo.

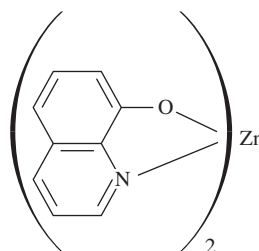
Efecto de la rigidez estructural

Desde el punto de vista empírico, se tiene que la fluorescencia se ve favorecida sobre todo en moléculas que poseen estructuras rígidas. Por ejemplo, las eficacias cuánticas para el fluoreno y el bifenilo son de casi 1.0 y 0.2, respectivamente, en condiciones de medición similares. La diferencia en el comportamiento se debe en gran medida a un aumento en la rigidez gracias al puente que forma el grupo metileno en el fluoreno. Se pueden citar muchos ejemplos similares.



También se ha recurrido a la influencia de la rigidez estructural para explicar el aumento de la fluorescencia

de ciertos agentes quelantes orgánicos cuando forman un complejo con un ion metálico. Por ejemplo, la intensidad de fluorescencia de la 8-hidroxiquinolina es mucho menor que la de su complejo con cinc:



La falta de rigidez de una molécula tal vez cause un aumento de la velocidad de conversión interna (k_{ic} de la ecuación 15.1), y el correspondiente aumento en la probabilidad de desactivación sin radiación. Una parte de una molécula no rígida puede sufrir vibraciones de baja frecuencia respecto a sus otras partes. Dichos movimientos explican sin duda ciertas pérdidas de energía.

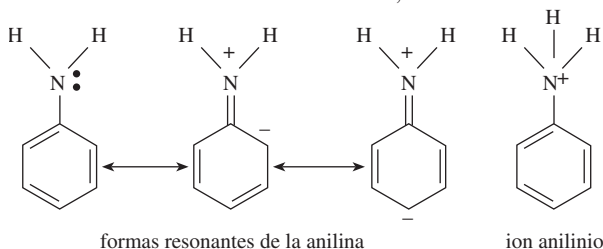
Efectos de la temperatura y del solvente

La eficacia cuántica de la fluorescencia disminuye en la mayoría de las moléculas al subir la temperatura, porque al aumentar la frecuencia de las colisiones cuando la temperatura es elevada aumenta la probabilidad de desactivación por conversión externa. Una disminución en la viscosidad del solvente aumenta también la probabilidad de conversión externa y ocasiona el mismo resultado.

La fluorescencia de una molécula disminuye en presencia de solventes que contienen átomos pesados o de solutos con dichos átomos en su estructura; algunos ejemplos son el tetrabromuro de carbono y el yoduro de etilo. El efecto es similar al que se observa cuando se introducen por sustitución átomos pesados en compuestos fluorescentes; las interacciones espín-orbital dan como resultado un aumento en la velocidad de formación del triplete y en la correspondiente disminución de la fluorescencia. Con frecuencia, cuando se desea resaltar la fosforescencia, se incorporan a los disolventes compuestos que contienen átomos pesados.

Efecto del pH en la fluorescencia

Por lo regular, la fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende del pH. Es probable que tanto la longitud de onda como la intensidad de emisión sean diferentes en las formas protonadas y no protonadas del compuesto. En la tabla 15.1 se ilustra este efecto con datos para el fenol y la anilina. Los cambios en la emisión de compuestos de este tipo se producen por el distinto número de especies resonantes que están relacionadas con las formas ácidas y básicas de las moléculas. Por ejemplo, la anilina tiene varias formas resonantes, pero el ion anilinio sólo tiene una. Es decir,



Las formas resonantes adicionales ocasionan un primer estado excitado más estable; la consecuencia es una fluorescencia en la región ultravioleta.

La fluorescencia de ciertos compuestos en función del pH se ha utilizado para detectar puntos finales en titulaciones ácido-base. Por ejemplo, la fluorescencia de la forma fenólica del ácido 1-naftol-4-sulfónico no es detectable por el ojo humano, ya que se origina en la región ultravioleta. Sin embargo, cuando el compuesto se transforma en ion fenolato con la adición de una base, la banda de emisión se desplaza hacia longitudes de onda de la región visible donde puede verse con claridad. Es interesante resaltar que este cambio ocurre a un pH diferente del pronosticado a partir de la constante de disociación ácida del compuesto. La explicación de esta discrepancia es que la constante de disociación ácida para la molécula *excitada* difiere



Simulación: aprenda más acerca de la **espectroscopia por luminiscencia**.

de la constante de la misma especie en el estado fundamental. Los cambios en las constantes de disociación de ácidos y bases con la excitación son comunes, y algunas veces son mayores hasta en cuatro o cinco órdenes de magnitud. Estas observaciones sugieren que los procedimientos analíticos basados en la fluorescencia requieren a menudo un control minucioso del pH.

Con frecuencia, la presencia de oxígeno disuelto reduce la intensidad de la fluorescencia de una solución. Este efecto podría ser el resultado de una oxidación, inducida fotoquímicamente, de las especies fluorescentes. Pero lo más común es que la supresión (*quenching*) se presente como una consecuencia de las propiedades paramagnéticas del oxígeno molecular, lo cual impulsa el cruce entre sistemas y la conversión de moléculas excitadas en el estado triple. Otras especies paramagnéticas tienden también a atenuar la fluorescencia.

Efecto de la concentración en la intensidad de fluorescencia

La potencia de la emisión fluorescente F es proporcional a la potencia radiante del haz de excitación absorbido por el sistema. Es decir,

$$F = \phi_f K'' (P_0 - P) = K' (P_0 - P) \quad (15.2)$$

donde P_0 es la potencia del haz que incide sobre la solución, P es su potencia después de atravesar una longitud b del medio, ϕ_f es la eficacia cuántica del proceso de fluorescencia y K'' es una constante que depende de las características geométricas y otros factores. La eficacia cuántica de la fluorescencia es una constante de un sistema dado, y de este modo el producto $\phi_f K''$ se agrupa en una nueva constante K' en el segundo miembro de la ecuación 15.2. Con el objeto de relacionar F con la concentración c de la especie fluorescente, se escribe la ley de Beer en la forma

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad (15.3)$$

donde ϵ es la absorptividad molar de las moléculas fluorescentes y ϵbc es la absorbancia A . Si se sustituye la ecuación 15.3 en la ecuación 15.2, se obtiene

$$F = K' P_0 (1 - 10^{-\epsilon bc}) \quad (15.4)$$

El término exponencial de la ecuación 15.4 se puede desarrollar como una serie de Maclaurin en

$$F = K' P_0 \left[2.303 \epsilon bc - \frac{(2.303 \epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2.303 \epsilon bc)^3}{3!} + \dots \right] \quad (15.5)$$

Siempre que $2.303 \epsilon bc = A < 0.05$, todos los términos posteriores entre corchetes son pequeños respecto al

primer término. En estas condiciones, el error relativo máximo cometido al ignorar todos los términos excepto el primero es de 0.13%. Por tanto, es posible escribir

$$F = 2.303 K' \epsilon bc P_0 \quad (15.6)$$

o bien, cuando P_0 es constante,

$$F = Kc = 2.303 K' \epsilon bc P_0 = 2.303 \phi_f K'' \epsilon bc P_0 \quad (15.7)$$

Por consiguiente, una gráfica de la potencia radiante de la fluorescencia de una disolución contra la concentración de las especies emisoras debería ser lineal a bajas concentraciones. Cuando c es tan elevada que la absorbancia es mayor que 0.05, los términos de mayor orden de la ecuación 15.5 adquieren importancia y la linealidad se pierde; entonces, F adopta un valor inferior al que se obtiene en la extrapolación de la línea recta de la gráfica. Esta absorción se conoce como *absorción primaria*.

Otro factor que se ocupa de las desviaciones negativas respecto a la linealidad a elevadas concentraciones es la *autoabsorción* o *absorción secundaria*. Ocurre cuando la longitud de onda de emisión se traslapa con una banda de absorción. Entonces, la fluorescencia disminuye porque la radiación emitida atraviesa la solución y es reabsorbida por otras moléculas en ella. La absorción secundaria puede ser ocasionada por las especies del analito o por otras presentes en la solución. Los efectos de estos fenómenos son tales que pueden hacer que aparezca un máximo en la gráfica de la fluorescencia contra la concentración. A los efectos de la absorción también se les llama *efectos internos del filtro*.

Supresión dinámica

Por lo general, el término *supresión* o *amortiguamiento* (*quenching*) se refiere a la transferencia de energía no radiante desde una especie excitada hacia otras moléculas. La *supresión* o *amortiguamiento dinámico*, también llamado *supresión por colisiones*, requiere el contacto entre la especie excitada y el agente supresor (Q). Este fenómeno se presenta con tal rapidez que los participantes en el choque pueden difundirse. La velocidad depende de la temperatura y la viscosidad. La concentración del agente supresor debe ser la suficiente para que haya una alta probabilidad de colisiones entre la especie excitada y el agente supresor durante el tiempo que dure el estado excitado.

En el caso de la conversión externa controlada por supresión o amortiguamiento dinámico con un solo agente supresor, la constante de la velocidad de conversión externa se puede escribir como

$$k_{ec} = k_q[Q] \quad (15.8)$$

donde k_q es la constante de velocidad de la supresión y $[Q]$ es la concentración del agente supresor. En ausencia de supresión ($k_{ec} = 0$) y si están ausentes la predisiociación y la disociación ($k_{pd} = k_d = 0$), la eficacia cuántica de la fluorescencia ϕ_f^0 se puede expresar a partir de la ecuación 15.1 como

$$\phi_f^0 = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ic}} \quad (15.9)$$

Con supresión, se puede escribir

$$\phi_f = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ic} + k_q[Q]} \quad (15.10)$$

Si se efectúa el cociente de la ecuación 15.9 entre la ecuación 15.10, se llega a la ecuación de Stern-Volmer

$$\frac{\phi_f^0}{\phi_f} = 1 + K_q[Q] \quad (15.11)$$

donde K_q es la constante de supresión o amortiguamiento de Stern-Volmer definida como $K_q = k_q/(k_f + k_i + k_{ic})$. Al reacomodar los términos se obtiene,

$$\frac{1}{\phi_f} = \frac{1}{\phi_f^0} + \frac{K_q[Q]}{\phi_f^0}$$

Una gráfica de $1/\phi_f$ contra $[Q]$ debe ser una recta con pendiente K_q/ϕ_f^0 y ordenada al origen $1/\phi_f^0$. La constante de Stern-Volmer se puede obtener a partir del cociente entre la ordenada al origen y la pendiente. La supresión dinámica reduce tanto el rendimiento cuántico de la fluorescencia como el tiempo de vida de la misma.

Puesto que la emisión de fluorescencia F es directamente proporcional a la eficacia cuántica ϕ_f (ecuación 15.2), la ecuación de Stern-Volmer se puede escribir en función de cantidades que se pueden medir con facilidad

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q[Q] \quad (15.12)$$

donde F_0 y F son las señales de fluorescencia en ausencia y en presencia del agente supresor, respectivamente. La constante de Stern-Volmer es precisamente la pendiente de una gráfica de F_0/F contra $[Q]$, y la ordenada al origen de la gráfica es la unidad. En el ejemplo 15.1 se ilustra la aplicación de la ecuación 15.12 para determinar los valores K_q .

EJEMPLO 15.1

La fluorescencia del sulfato de quinina (véase figura 15.3) es atenuada por las altas concentraciones de ion cloruro. Las señales siguientes de fluorescencia F se obtuvieron en función de la concentración del ion cloruro.

Intensidad de la fluorescencia, F	$[Cl^-], M$
180.0	0.00
87.5	0.005
58.0	0.010
43.2	0.015
35.0	0.020
28.5	0.025
14.5	0.030
19.1	0.040
15.7	0.050

Prepare una hoja de cálculo y determine la constante de supresión K_q .

Solución

La hoja de cálculo y la gráfica de Stern-Volmer se muestran en la figura 15.4. Los datos se registran en las columnas B y C, y F_0/F se calcula en la columna D. La pendiente y la desviación estándar son $K_q = 210 \pm 0.9 M^{-1}$, de acuerdo con lo que se obtuvo a partir de los valores estadísticos de la hoja de cálculo. Observe que la ordenada al origen está muy cerca de la unidad.

A menudo, la presencia de oxígeno disuelto reduce la intensidad de la fluorescencia de una solución. Algunas veces este efecto es resultado de una oxidación fotoquímica de la especie fluorescente. Pero lo más

común es que la supresión o amortiguamiento sea ocasionado por las propiedades paramagnéticas del oxígeno molecular, lo cual favorece el cruce entre sistemas y la conversión de moléculas excitadas en estado triple. Otras especies paramagnéticas también tienden a atenuar la fluorescencia. El oxígeno disuelto es un agente supresor eficaz del estado triple. Por esta razón, se desoxigenan las soluciones antes de efectuar las mediciones de fosforescencia.

Otros tipos de supresión

En el caso de la *supresión estática*, el agente supresor y el fluoróforo en estado fundamental forman un complejo llamado *complejo oscuro*. Por lo regular, la fluorescencia se observa sólo en un fluoróforo no enlazado. La disminución en la intensidad de la fluorescencia también se puede describir mediante la ecuación de Stern-Volmer en el caso de la supresión estática. No obstante, K_q de la ecuación 15.11 es ahora la constante de formación del complejo fluoróforo-agente supresor. Con la supresión estática no se afecta el tiempo de vida. Por tanto, las mediciones del tiempo de vida facilitan la distinción entre la supresión dinámica y la supresión estática.

En la *supresión o amortiguamiento amplio* o de Förster, la transferencia de energía ocurre sin que choquen las moléculas. El acoplamiento dipolo-dipolo entre el fluoróforo excitado y el agente supresor explica

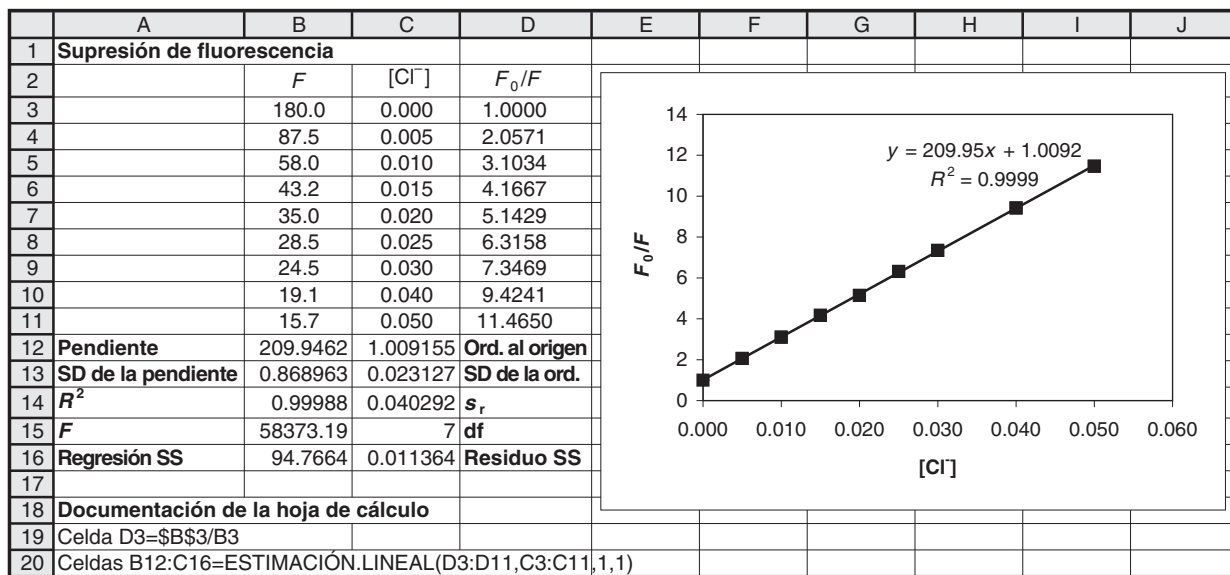


FIGURA 15.4 Hoja de cálculo y gráfica para determinar la constante de amortiguamiento en el caso del ion cloruro como agente supresor de la quinina.

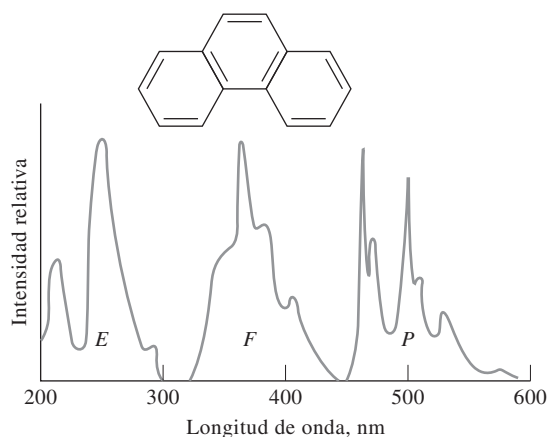


FIGURA 15.5 Espectros del fenantreno: *E*, excitación; *F*, fluorescencia; *P*, fosforescencia. (Tomado de W. R. Seitz, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, E. J. Meehan y I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 7, p. 169, Nueva York: Wiley, 1981. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

la transferencia. La dependencia del grado de supresión respecto a la concentración es complicada y no se apegá al comportamiento de Stern-Volmer.

15A.5 Espectros de emisión y de excitación

En la figura 15.5 se muestran los tres tipos de espectros fotoluminiscentes del fenantreno. El espectro de excitación *E* de la figura se obtiene midiendo la intensidad de la luminiscencia a una longitud de onda fija mientras se varía la longitud de onda de excitación. Como la primera etapa en la generación de la emisión fluorescente es la absorción de radiación para crear los estados excitados, el espectro de excitación es en esencia idéntico a un espectro de absorción obtenido en las mismas condiciones. Por otro lado, los espectros de fluorescencia y de fosforescencia (*F* y *P*, respectivamente), requieren excitación a una longitud de onda fija mientras se registra la intensidad de emisión en función de la longitud de onda.

Otro tipo de espectro de luminiscencia se ilustra en la figura 15.6. El *espectro de luminiscencia total* es una representación tridimensional o una gráfica con curvas de nivel. En forma simultánea, ambas muestran la señal de luminiscencia como una función de las longitudes de onda de excitación y de emisión. Con frecuencia, dicha información recibe el nombre de *matriz de excitación-emisión*. Aunque el espectro de luminiscencia total se puede obtener mediante un instrumento computarizado normal, se puede conseguir con más rapidez mediante sistemas con detectores en serie (véase la siguiente sección).

Algunos instrumentos para medir luminiscencia facilitan un barrido simultáneo tanto de las longitudes de onda de excitación como de las de la emisión con una pequeña diferencia de longitud de onda entre ellas. El espectro que resulta se conoce como un *espectro sincrónico*. Una señal de luminiscencia se obtiene sólo a longitudes de onda en las que se presentan

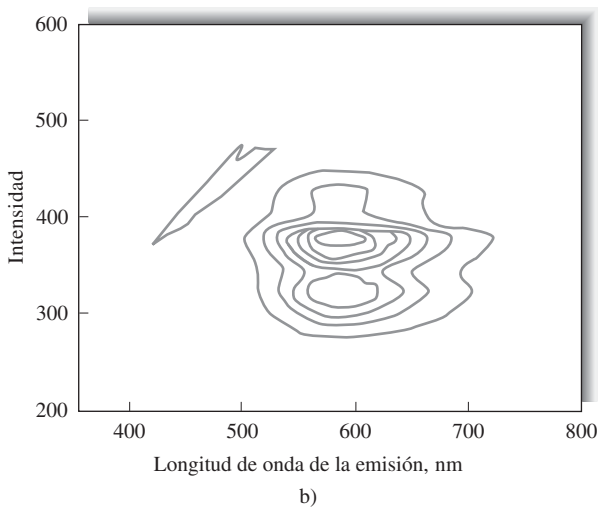
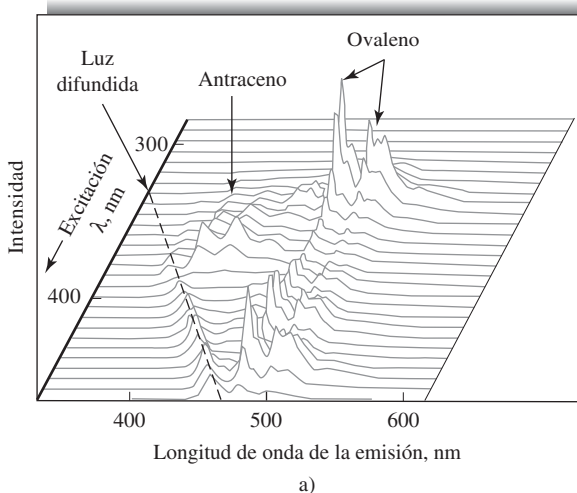


FIGURA 15.6 Espectros de luminiscencia total. En a), el espectro de fluorescencia total de una mezcla de antraceno y ovaleno se ilustra como una gráfica tridimensional. En b), el espectro de fluorescencia total de 8-hidroxibenzo[a]pireno se presenta como una gráfica de curvas de nivel. Cada curva representa una intensidad particular de fluorescencia. (Parte a) tomada de Y. Talmi *et al.*, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 936A. Figura 11, p. 948A. Parte b) adaptada de J. H. Rho y J. L. Stewart, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 620. Figura 2, p. 622. Copyright 1978 American Chemical Society.)

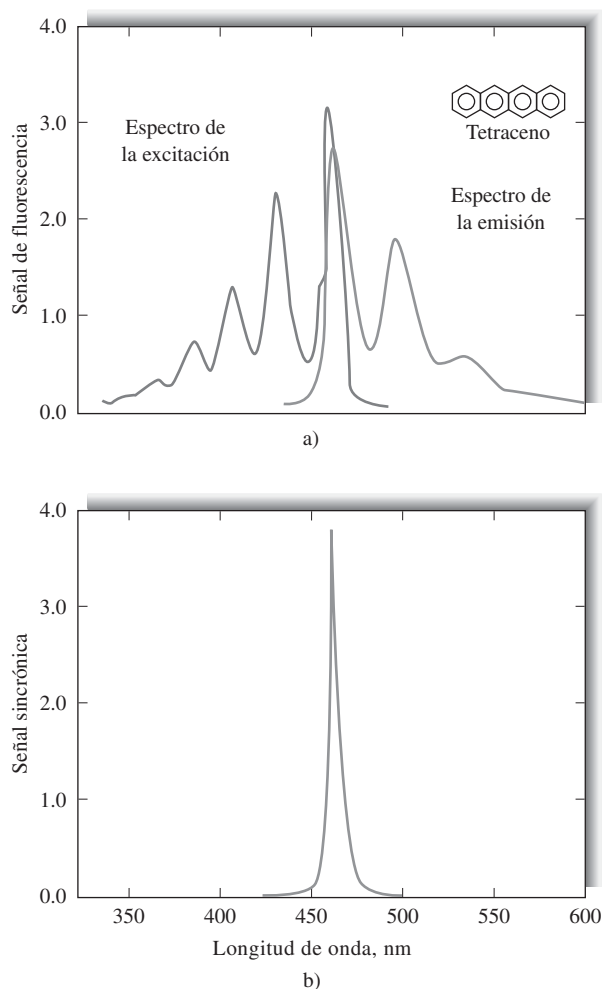


FIGURA 15.7 Espectros de fluorescencia sincrónicos. En a), se muestran los espectros de excitación y emisión del tetraceno. En b) se presenta el espectro sincrónico para una diferencia de longitud de onda fija de 3 nm. (Tomado de T. Vo-Dinh, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, p. 396. Figura 1, p. 397. Copyright 1978 American Chemical Society.)

tanto la excitación como la emisión para la diferencia de longitudes de onda que se elige, como se muestra en la figura 15.7. El espectro sincrónico también puede generarse a partir del espectro de luminiscencia total mediante programas de cómputo apropiados.

Como ya se señaló, la fotoluminiscencia se presenta de ordinario a longitudes de onda más largas que las longitudes de onda de la excitación. Además, las bandas fosforescentes se encuentran en general a longitudes de onda más largas que las bandas de fluorescencia porque, en la mayoría de los casos, el estado triple excitado tiene menor energía que el correspondiente estado sencillo. De hecho, la diferencia de

longitudes de onda entre los dos proporciona una medida útil de la diferencia de energía entre los estados excitados sencillo y triple.

15B INSTRUMENTOS PARA MEDIR FLUORESCENCIA Y FOSFORESCENCIA

Los componentes de los instrumentos para medir la fotoluminiscencia son similares a los de los fotómetros o espectrofotómetros ultravioleta/visible. En la figura 15.8 se muestra una configuración característica de estos componentes en los *fluorómetros* y los espectrofluorómetros. Casi todos los instrumentos para la medición de la fluorescencia utilizan equipo óptico de doble haz, tal como se muestra, para compensar las fluctuaciones en la potencia radiante. El haz de la muestra superior pasa primero a través de un selector de longitud de onda de excitación (filtro o monocromador), que transmite la radiación que causa la fluorescencia pero excluye o limita la radiación de la longitud de onda de emisión de fluorescencia. La fluorescencia se propaga desde la muestra en todas las direcciones, pero lo más conveniente es observar la que forma un ángulo recto con el haz de excitación. La geometría de ángulo recto reduce al mínimo las contribuciones de la dispersión y de la radiación intensa de la fuente. La radiación emitida atraviesa un selector de longitud de onda de emisión (filtro o monocromador) que aísla la emisión de fluorescencia. La radiación aislada choca entonces contra un fototransductor, en donde es transformada en una señal eléctrica para poderla medir.

El haz de referencia más bajo pasa a través de un atenuador que reduce su potencia a aproximadamente la de la radiación fluorescente (por lo regular, la potencia se reduce en un factor de 100 o más). El haz de referencia atenuado choca luego contra un segundo transductor y es transformado en una señal eléctrica. El equipo electrónico y un sistema de datos computarizado procesan entonces las señales para determinar la relación entre la intensidad de la emisión fluorescente y la intensidad de la fuente de excitación, y producen el espectro resultante o los datos de longitud de onda.

La complejidad, las características de funcionamiento y el precio de los fluorómetros y de los espectrofluorómetros difieren tanto entre sí como ocurre con los correspondientes instrumentos para las mediciones de absorción. Si sólo se utilizan filtros para seleccionar la longitud de onda, el instrumento es un *fluorómetro*. Los *espectrofluorómetros* están equipados con dos monocromadores para aislar la longitud de

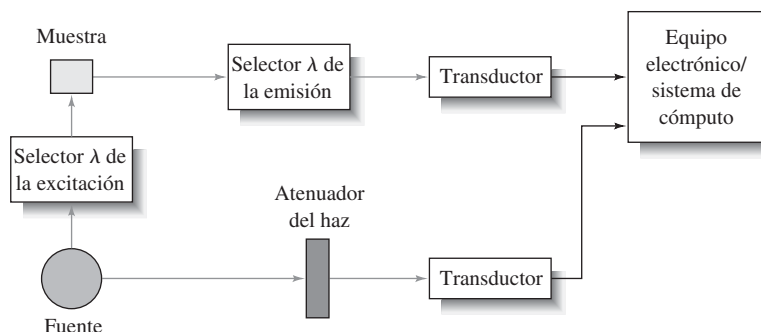


FIGURA 15.8 Partes de un fluorómetro o espectrofluorómetro. La fuente de radiación se divide en dos haces. El haz de la muestra pasa por el selector de longitud de onda de excitación y llega a la muestra. El selector de la longitud de onda de la emisión aísla la fluorescencia emitida antes de que choque contra el transductor. El haz de referencia es atenuado antes de chocar contra el transductor. El equipo electrónico y el sistema de cómputo calculan la relación entre la intensidad de la fluorescencia y la intensidad del haz de referencia, lo cual anula el efecto de las fluctuaciones de la intensidad de la fuente.

onda. Algunos instrumentos son híbridos porque usan un filtro para seleccionar la longitud de onda de excitación y un monocromador para elegir la longitud de onda de emisión; a menudo se les llama todavía espectrofotómetros. Se pueden comprar varios espectrofotómetros comerciales con adaptadores que facilitan su uso como espectrofluorómetros.

Los verdaderos espectrofluorómetros facilitan la producción de un espectro de excitación de la fluorescencia o un espectro de emisión de fluorescencia. En la figura 15.9a se muestra un espectro de excitación del antraceno en el que la emisión fluorescente se midió a una longitud de onda fija, mientras se barría la longitud de onda de excitación. Si se efectúan las correcciones adecuadas para compensar las variaciones de la intensidad de la señal de salida de la fuente y de la respuesta del detector en función de la longitud de onda, se obtiene un espectro de excitación absoluto que es muy semejante a un espectro de absorción.

En la figura 15.9b se ilustra el espectro de emisión de fluorescencia del antraceno. El espectro se obtuvo manteniendo constante la longitud de onda de excitación mientras se hacía un barrido de las longitudes de onda de la emisión. Estos dos espectros son casi imágenes especulares entre sí porque las diferencias de energía vibracional para los estados electrónicos fundamental y excitado son más o menos las mismas (véase figura 15.2).

La selectividad que proporcionan los espectrofluorómetros es muy importante en las investigaciones relacionadas con las características electrónicas y estructurales de las moléculas y valiosa en los trabajos analíticos cualitativos y cuantitativos. Sin embargo, en lo que se refiere a las medidas de concentración, los

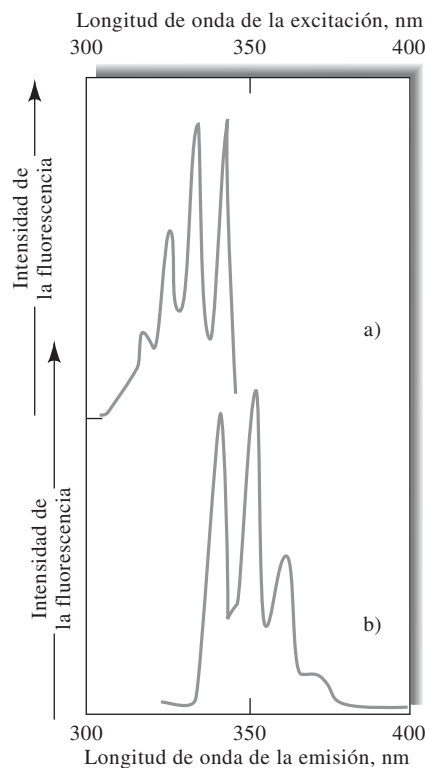


FIGURA 15.9 Espectros de fluorescencia para 1 ppm de antraceno en alcohol: a) espectro de excitación; b) espectro de emisión.

fluorómetros, relativamente baratos, son suficientes. Por lo regular, se diseñan específicamente para resolver los problemas de medición propios de los métodos fluorescentes, y son a menudo tan específicos y selectivos como los espectrofotómetros de absorción modificados.

15B.1 Componentes de los fluorómetros y de los espectrofluorómetros

Los componentes de los fluorómetros y de los espectrofluorómetros son muy similares a los que se han descrito para los fotómetros y espectrofotómetros de absorción. No obstante, hay varias diferencias que se tratan aquí.²

Fuentes

Como lo muestra la ecuación 15.6, la magnitud de la señal de salida en las mediciones de luminiscencia y, por tanto, en la sensibilidad, es directamente proporcional a la potencia de la fuente radiante P_0 . Por esta razón, se usan fuentes más intensas en los métodos luminiscentes, y ya no las lámparas de tungsteno o deuterio que se emplean en las mediciones de absorción.

Lámparas. La lámpara más común para los fluorómetros de filtro es la lámpara de vapor de mercurio a baja presión equipada con una ventana de sílice fundida. Esta fuente emite líneas útiles para producir la fluorescencia a 254, 302, 313, 546, 578, 691 y 773 nm. Cada una de las líneas se puede aislar con filtros de interferencia o absorción apropiados. Puesto que la fluorescencia se puede inducir en la mayoría de los compuestos fluorescentes mediante una diversidad de longitudes de onda, por lo menos una de las líneas del mercurio es adecuada.

Por lo que toca a los espectrofluorómetros, en los que se requiere una fuente de radiación continua, se utiliza normalmente una lámpara de arco de xenón de alta presión, de 75 a 450 W. Éstas requieren una fuente de alimentación potente, capaz de producir corrientes continuas de 5 a 20 A y de 15 a 30 V. El espectro de una lámpara de arco de xenón es continuo desde alrededor de 300 a 1300 nm. El espectro se parece al de un cuerpo negro (véase figura 6.22). En algunos instrumentos se obtienen destellos espaciados en forma regular en el tiempo mediante la descarga de un condensador a través de la lámpara a una frecuencia constante; se consiguen intensidades de picos superiores mediante pulsos. Además, las salidas de los transductores son luego señales ca que se pueden amplificar y procesar con facilidad.

En los instrumentos de fluorescencia también se usan los diodos emisores de luz azul. Estas lámparas emiten radiación a 450-475 nm y son apropiados para excitar algunos fluoróforos. Las mezclas de luminóforos en algunos diodos emisores de luz proporcionan longitudes de onda en la región UV a alrededor de 375 nm (véase sección 13D.1).

Rayos láser. Desde comienzos de los años setenta se utilizan también diversos tipos de rayos láser como

fuentes de excitación para medir la fotoluminiscencia. Son de particular interés los rayos láser sintonizables y de colorante que utilizan como sistema de bombeo un rayo láser de nitrógeno pulsante o un láser de Nd-YAG. Los rayos láser de longitud de onda fija también se usan, sobre todo en los detectores para cromatografía y electroforesis.

La mayoría de los espectrofluorómetros comerciales están equipados con lámparas como fuentes, por ser menos caras y menos complicadas para determinar múltiples analitos con diferentes longitudes de onda de excitación. Sin embargo, las fuentes de rayos láser ofrecen importantes ventajas en determinados casos, por ejemplo, 1) cuando las muestras son muy pequeñas, como en la cromatografía con microcolumnas y en electroforesis capilar donde la cantidad de muestra es un microlitro o menos; 2) en los sensores de control remoto, como en la detección fluorométrica de radicales hidroxilo en la atmósfera o de clorofila en lagos o lagunas, donde la naturaleza colimada de los haces de láser es fundamental; o 3) cuando se requiere una radiación de excitación altamente monocromática para reducir al mínimo los efectos de las interferencias fluorescentes.

Filtros y monocromadores

Los filtros de interferencia y de absorción se utilizan en los fluorómetros para seleccionar la longitud de onda tanto del haz de excitación como de la radiación fluorescente resultante. Los espectrofluorómetros están equipados con al menos uno y a veces dos monocromadores de red.

Transductores

Las señales de emisión de luminiscencia son de baja intensidad. Por tanto, se requieren transductores sensibles. Los tubos fotomultiplicadores son los transductores que más se utilizan en instrumentos de fluorescencia sensibles. Con frecuencia funcionan en la modalidad de recuento de fotones para mejorar la relación señal-ruido (véase la sección 7F.1); con este mismo fin, a veces los transductores se refrigeran. En la espectrofluorometría.³ También se utilizan los dispositivos de transferencia de carga, como los de acoplamiento de carga. Este tipo de transductor facilita el registro rápido tanto de los espectros de excitación como de los de emisión y sobre todo es útil en cromatografía y en electroforesis.

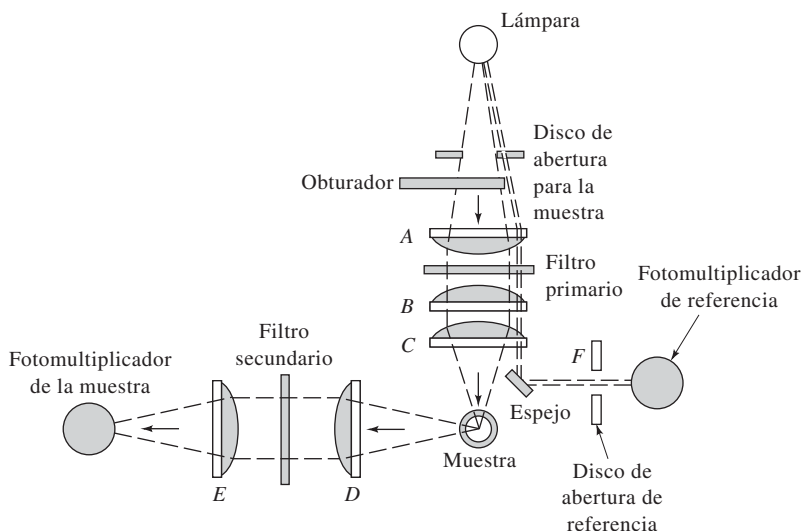
Celdas y compartimientos para las celdas

Para mediciones de fluorescencia se utilizan celdas o cubetas tanto cilíndricas como rectangulares, fabricadas

²Si desea un panorama de los instrumentos de fluorescencia comerciales, refiérase a J. Kling, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 219A.

³R. S. Pomeroy en *Charge Transfer Devices in Spectroscopy*, J. V. Sweedler, K. L. Ratzlaff y M. B. Denton, eds., Nueva York: VCH, 1994, pp. 281-314; P. M. Epperson, R. D. Jalkian y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 282.

FIGURA 15.10 Un fluorómetro típico.
(Cortesía de Farrand Optical Components
and Instruments Division of Ruhle
Companies, Inc.)



con vidrio o con sílice. Se debe tener cuidado en el diseño del compartimento de la celda para reducir la cantidad de radiación dispersada que llega hasta el detector. A menudo se introducen deflectores en el compartimento con este propósito. Más importante aún que en las medidas de absorbancia es evitar dejar huellas dactilares en las cubetas, ya que la grasa de la piel con frecuencia manifiesta fluorescencia.

Las microceldas de bajo volumen se utilizan cuando el volumen de la muestra es limitado. Varias compañías fabrican celdas de flujo para detección de fluorescencia en cromatografía y en análisis de flujo continuo. Entre los accesorios para manejar las muestras están los lectores de microplaca, accesorios para el microscopio y sondas de fibra óptica. Por lo regular las celdas de bajo volumen se utilizan en fosforescencia y quimio-luminiscencia a temperatura ambiente. Se requieren celdas y manejo de muestras para efectuar las mediciones de fosforescencia a baja temperatura.

Aunque la configuración de ángulos rectos que se muestra en la figura 15.8 es la más común, se utilizan también otras dos configuraciones de celdas. El acomodo de superficie frontal facilita las mediciones en soluciones con absorbancias altas o en sólidos opacos. La disposición de 180° o en línea se usa muy poco porque el selector de longitud de onda de la emisión debe aislar la señal débil de luminiscencia del intenso haz de excitación.

Organización de la información

Los instrumentos modernos para luminiscencia computarizados poseen diferentes programas de computación con esquemas para manejar los datos. El manejo de información común y las opciones para mostrar los datos incluyen la sustracción de la señal blanco, corrección

de espectros de excitación y de emisión, cálculo y despliegue de los espectros de diferencias y de derivadas, detección de máximos y procesamiento, desconvolución, producción de gráficas tridimensionales de luminiscencia total, ajuste de datos de calibración, cálculo de parámetros estadísticos y suavización de espectros por medio de diversos métodos. Hay programas especializados disponibles para cinética, detección mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento, análisis de mezclas y mediciones temporales.

15B.2 Diseños de instrumentos

Fluorómetros

Los fluorómetros de filtro proporcionan una forma relativamente simple y barata de llevar a cabo análisis cuantitativos por fluorescencia. Como ya se señaló, para seleccionar las longitudes de onda de la radiación de excitación y de emisión se utilizan filtros de interferencia y de absorción. Casi siempre los fluorómetros son compactos, fuertes y fáciles de usar.

En la figura 15.10 se muestra el esquema de un fluorómetro de filtros característico que consta de una lámpara de mercurio para excitar la fluorescencia y un par de tubos fotomultiplicadores como transductores. El haz que sale de la fuente se divide cerca de ella en un haz de referencia y en un haz de la muestra. El haz de referencia se atenúa mediante el disco de apertura hasta que su intensidad es casi igual que la de la fluorescencia. Ambos haces pasan a través del filtro primario y, a continuación, el haz de referencia se refleja hacia el tubo fotomultiplicador de referencia. El haz de la muestra se enfoca en la muestra mediante un



Simulación: aprenda más acerca de los **instrumentos para fluorescencia**.

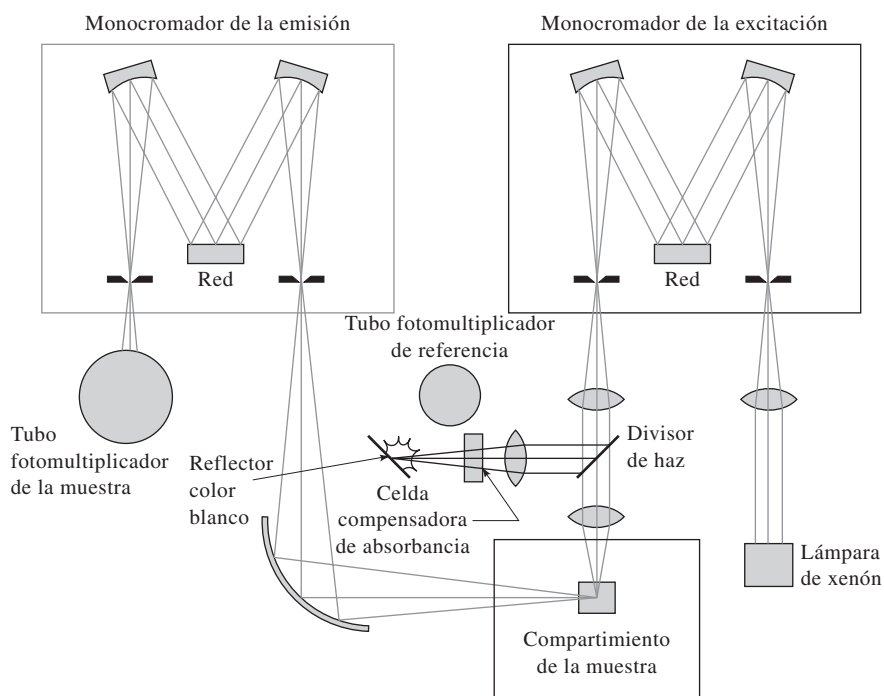


FIGURA 15.11 Un espectrofluorómetro. (Cortesía de Jobin Yvon, Spex Division, Edison, NJ.)

par de lentes y causa la emisión de fluorescencia. La radiación emitida pasa a través de un segundo filtro y luego se enfoca sobre un segundo tubo fotomultiplicador. Las señales de salida eléctricas provenientes de los dos transductores se procesan entonces para calcular la relación entre la intensidad de la muestra respecto a la intensidad de referencia, la cual sirve como variable analítica.

El instrumento que se acaba de describir es representativo de la docena o más de fluorómetros que hay en el comercio. Algunos de ellos son sencillos instrumentos de haz simple. Algunos son portátiles para trabajo de campo. El precio de tales fluorómetros varía desde pocos cientos de dólares hasta más de 10 000 dólares.

Espectrofluorómetros

Algunos fabricantes de instrumentos ofrecen espectrofluorómetros capaces de obtener tanto espectros de excitación como de emisión. En la figura 15.11 se muestra el diseño óptico de uno de ellos, que utiliza dos monocromadores de red. La radiación que procede del monocromador de excitación se divide en dos: una parte se dirige hacia el fotomultiplicador de referencia y la otra hacia la muestra. La radiación fluorescente resultante, después de ser dispersada en el monocromador de emisión, es detectada por un segundo fotomultiplicador.

Un instrumento como el que se muestra en la figura 15.11 suministra perfectamente espectros satisfactorios para el análisis cuantitativo. Sin embargo, los espectros de emisión obtenidos no son similares a los de otros instrumentos, porque la señal de salida depende no sólo de la intensidad de la fluorescencia, sino también de las características de la lámpara, el transductor y los monocromadores. Todas estas características de los instrumentos varían respecto a la longitud de onda y difieren de un instrumento a otro. Se han desarrollado varios métodos para obtener un espectro corregido, que es el verdadero espectro de fluorescencia, ya sin efectos instrumentales (véase la siguiente sección).

Espectrofluorómetros provistos con detectores en serie

Se han descrito varios espectrofluorómetros que están equipados con diodos en serie y dispositivos de transferencia de carga que obtienen espectros de fluorescencia en fracciones de segundo.⁴ Hay varios instrumentos comerciales ya disponibles con detectores de acoplamiento de carga.⁵

⁴ Por ejemplo, véase R. S. Pomeroy en *Charge Transfer Devices in Spectroscopy*, J. V. Sweedler, K. L. Ratzlaff y M. B. Denton, eds. Nueva York: VCH, 1994, pp. 281-314; P. M. Epperson, R. D. Jalkian y M. B. Denton, *Anal. Chem.*, **1989**, *61*, p. 282.

⁵ Revise los instrumentos que fabrica Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida y Spex Division, Jobin Yvon, Edison, Nueva Jersey.

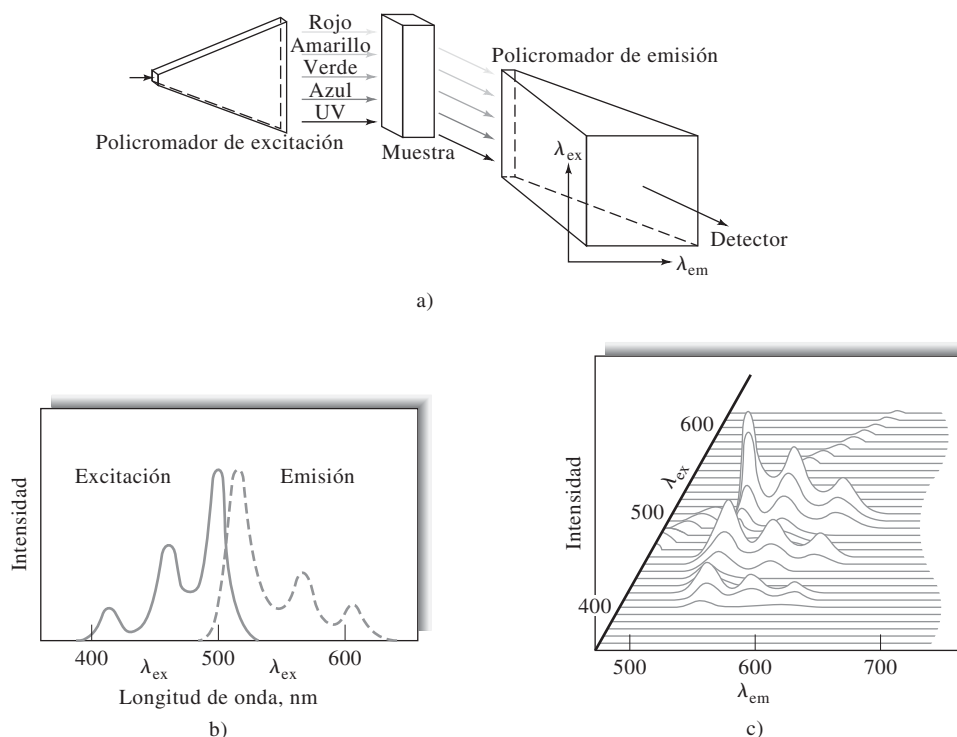


FIGURA 15.12 Espectrofluorómetro tridimensional. a) Esquema de un sistema óptico para obtener un espectro de luminiscencia total con un dispositivo de acoplamiento de carga. (Con autorización de G. W. Suter, A. J. Kallir y U. P. Wild, *Chimia*, **1983**, 37, p. 413.) b) Espectros de excitación y emisión de un compuesto hipotético. c) Espectro de luminiscencia total del mismo compuesto que en b). (Con autorización de D. W. Johnson, J. P. Callis y G. C. Christian, *Anal. Chem.*, **1977**, 49, p. 747A. Figura 3, p. 749A. Copyright 1977 American Chemical Society.)

Uno de los usos excepcionales de un espectrofluorómetro es la producción de espectros de luminiscencia totales. Éstos son gráficas del espectro de emisión a toda longitud de onda de excitación, las cuales se presentan por lo regular en forma tridimensional. Los espectros de luminiscencia total se obtienen de manera ordinaria mediante un transductor fotomultiplicador estándar, pero la recolección de los espectros requiere mucho tiempo. En este caso, el espectro de emisión se obtiene a una longitud de onda de excitación. Luego, el monocromador de excitación se pasa a otra longitud de onda y el espectro de emisión se barre de nuevo. Los diversos espectros se almacenan en una computadora, y ésta despliega la representación tridimensional de la luminiscencia total.

En la figura 15.12a se ilustra el fundamento de un instrumento complejo con detectores en serie que produce espectros de luminiscencia total. En este caso, la celda de la muestra se irradia con un haz de excitación que se ha dispersado en el plano xy mediante un monocromador que se ha girado 90° respecto a la rendija de salida. El transductor es un dispositivo de acoplamiento de carga bidimensional que ve la radiación de excitación dispersada en el plano yz y la radiación dis-

persada procedente del monocromador de emisión en el plano yz . La figura 15.12b muestra los espectros de excitación y emisión clásicos para una hipotética especie molecular. En la figura 15.12c se ilustra el espectro de luminiscencia total de este compuesto, que es una proyección isométrica, algunas veces llamada *registro acumulado*, de los espectros de excitación y de emisión completos del compuesto, los cuales se obtienen con la configuración que se muestra en la figura 15.12a. Los espectros totales de este tipo se pueden obtener en pocos segundos o incluso menos, y son de particular utilidad para el análisis de mezclas de especies fluorescentes. Ya se encuentra en el comercio un instrumento comercial de este tipo.⁶

Sensores de fluorescencia de fibra óptica

Las sondas de fibra óptica se utilizan para demostrar que se pueden llevar a cabo distintos análisis por fluorescencia en lugares muy alejados de la fuente y del detector. En este caso, la radiación que procede de una fuente de rayos láser viaja a través de una fibra óptica y genera fluorescencia en las soluciones de la muestra.

⁶Spex Division, Jobin Yvon, Edison, Nueva Jersey.

Entonces, la emisión fluorescente regresa por la misma fibra óptica hasta un detector para la medición. La aplicabilidad de este tipo de dispositivo se ha extendido a analitos no fluorescentes mediante la inmovilización de un material indicador fluorescente en el extremo de la fibra óptica.⁷ En la sección 7G se analizaron las propiedades de las fibras ópticas y sus aplicaciones en los instrumentos químicos.

Muchos sensores para detectar fluorescencia no se basan en la fluorescencia directa, sino en la supresión de la misma.⁸ Por ejemplo, el oxígeno molecular es uno de los mejores agentes supresores mediante choques. El oxígeno puede atenuar la fluorescencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos, complejos de rutenio, osmio, iridio y platino, aparte de una cantidad de moléculas heterocíclicas adsorbidas en la superficie. Se puede hacer un sensor de oxígeno al fijar un fluoróforo en una capa fina de silicón en el extremo de un grupo de fibras ópticas.⁹ Los sensores para los haluros de SO_2 , H_2O_2 , y varias otras moléculas se apoyan en los agentes supresores de fluorescencia.

Fosforímetros

El diseño de los instrumentos que se utilizan para estudiar la fosforescencia es similar al de los fluorómetros y los espectrofluorómetros que se estudiaron antes, y sólo difieren en que requieren dos componentes adicionales.¹⁰ El primero es un dispositivo que irradia de manera alternada la muestra y, después de un retraso en el tiempo adecuado, mide la intensidad de la fosforescencia. El retraso en el tiempo es necesario para diferenciar la emisión fluorescente de larga vida de la emisión fluorescente de corta vida que podrían originarse en la misma muestra. Se utilizan dispositivos mecánicos y electrónicos, y muchos instrumentos de fluorescencia comerciales tienen accesorios para medir la fosforescencia. La mayoría de los instrumentos actuales están equipados con un esquema de compuerta para considerar el retraso. A menudo se utiliza una lámpara de arco de xenón por pulsos para excitar la muestra. Después de un tiempo de retraso, que el usuario establece, el sistema de adquisición de datos se activa para lograr la señal de fosforescencia. Con frecuencia, la señal se integra durante este perio-

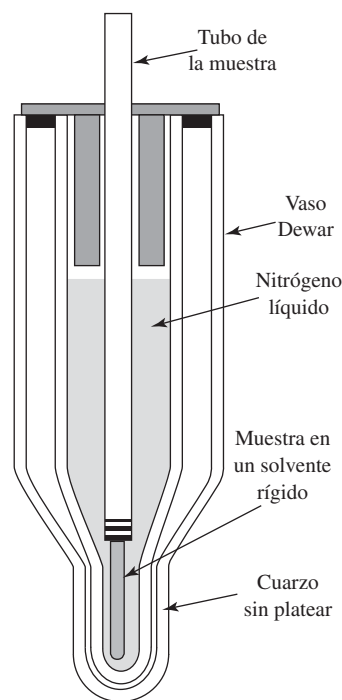


FIGURA 15.13 Vaso Dewar y celda para efectuar mediciones de fosforescencia a baja temperatura. La trayectoria óptica atraviesa la parte sin platear del recipiente.

do cuando la lámpara está apagada y la fluorescencia ha disminuido a un valor muy bajo.

Se requiere un segundo componente nuevo porque, por lo regular, las mediciones de fosforescencia se efectúan a la temperatura del nitrógeno líquido en un medio rígido para reducir al mínimo las colisiones que originarían la desactivación del estado triple de larga vida. En general, un recipiente Dewar con ventanas de cuarzo, como el que se ilustra en la figura 15.13, forma parte de un fosforímetro. A esta temperatura, el analito existe en la forma de un soluto en un vidrio o en un disolvente sólido. Un disolvente común es una mezcla de dietiléter, pentano y etanol.

15B.3 Esquemas de corrección y compensación

Se utilizan diferentes esquemas para corregir los espectros luminiscentes respecto a algunas de las diversas variables que los afectan. La estabilidad de la fuente, la distribución espectral de la fuente, los efectos del filtro interno, el rendimiento de los componentes ópticos y las respuestas espectrales de las piezas del instrumento están entre las variables que pueden influir en la intensidad de la luminiscencia y en los espectros. Muchos instrumentos están equipados para compensar o corregir algunos de ellos.

⁷Otro análisis sobre los sensores hechos de fibra óptica para fluorescencia se encuentra en O. S. Wolfbeis en *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. G. Schulman, ed., parte 2, capítulo 3, Nueva York: Wiley, 1988.

⁸Véase W. Trettnak en *Fluorescence Spectroscopy: New Methods and Applications*, O. S. Wolfbeis, ed., Nueva York: Springer-Verlag, 1993, cap. 7.

⁹J. N. Demas, B. A. DeGraff y P. B. Coleman, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 793A.

¹⁰Véase R. J. Hurtubise, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, p. 669A; R. J. Hurtubise, *Phosphorimetry: Theory, Instrumentation, and Applications*, cap. 3, Nueva York: VCH, 1990.

Compensación de la fuente

Los dos instrumentos para luminiscencia que se muestran en las figuras 15.10 y 15.11 controlan la intensidad de la fuente por medio de un fotomultiplicador de referencia. Lo más común es que la relación entre la señal de luminiscencia de la muestra y la señal procedente del detector de referencia se determine en forma continua. Esto puede compensar las fluctuaciones de la intensidad de la fuente y la deriva. Se aplican tanto el diseño de doble haz en el espacio como el doble haz en el tiempo.

Espectros de excitación corregidos

La compensación de la fuente no corrige la dependencia de la longitud de onda respecto de la fuente ni los rendimientos de los componentes ópticos ni del selector de la longitud de onda de excitación. La corrección por estos efectos se puede realizar de varias formas. En algunos instrumentos comerciales se utiliza un *contador de cuantos*. Éste es una celda de referencia llena con un fluoróforo concentrado de eficacia cuántica alta, como Rhodamina B. Una solución de 3 a 8 g/L de glicerol absorbe en esencia toda la luz incidente desde 220 a 600 nm. La eficacia cuántica es virtualmente constante en este intervalo de excitación. El haz de excitación se divide después del selector de longitud de onda, y una fracción excita el material de referencia. La misma distribución del espectro de emisión resulta de todas las longitudes de onda de excitación, de modo que no hay que preocuparse por la respuesta espectral del fotomultiplicador. La señal de referencia resultante es directamente proporcional a la potencia radiante de la fuente que choca contra la muestra.

Con frecuencia, los modernos espectrofluorómetros computarizados alcanzan una corrección similar al guardar el espectro de referencia de la fuente en la memoria de la computadora. Después de barrer el espectro de la muestra, se efectúa la corrección mediante el cálculo de la relación entre el espectro de la muestra y el espectro de referencia.

Un ejemplo de las diferencias entre espectros corregidos y no corregidos se proporciona en la figura 15.14. Un espectro de excitación corregido en forma apropiada debe ser idéntico al espectro de absorción del mismo compuesto.

Espectros de emisión corregidos

Los espectros de emisión reunidos en diferentes instrumentos son distintos porque es diferente la dependencia de las longitudes de onda de los selectores y transductores. La forma de un espectro de emisión corregido en forma apropiada refleja sólo la manera en que el rendimiento de la luminiscencia varía respecto

a la longitud de onda de la excitación, como se muestra en la figura 15.14. Para corregir el espectro de emisión se utiliza una fuente de luz calibrada y se determinan los factores de calibración del monocromador de emisión y del transductor; éstos se guardan en la memoria de la computadora. Los resultados de la emisión sin corregir se multiplican entonces por los factores de corrección apropiados para obtener el espectro corregido.

15B.4 Calibración del instrumento

Debido a las variaciones de la intensidad de la fuente, la sensibilidad del transductor y otras variables instrumentales, es imposible obtener exactamente las mismas lecturas con un fluorómetro o con un espectrofotómetro para una solución o un conjunto de soluciones de día en día. Por esta razón, es una práctica habitual calibrar el instrumento y ajustarlo a un nivel de sensibilidad reproducible. La calibración se efectúa casi siempre con una solución patrón de un fluoróforo estable. El reactivo más común para este cometido es una disolución patrón de sulfato de quinina cuya concentración sea casi 10^{-5} M. Por lo general se excita con una radiación de 350 nm y emite radiación a 450 nm (véase figura 15.14). Se ha descrito el uso de otros compuestos para otras regiones de longitudes de onda.

La Perkin-Elmer Corporation ofrece un conjunto de seis patrones de fluorescencia disueltos en una matriz de plástico, que forman unos bloques sólidos estables y que se pueden utilizar de manera indefinida sin un almacenamiento especial. Con estos patrones, el instrumento se calibra con facilidad en la región de longitudes de onda que se utilizará en el análisis.

La comparación de los espectros de fluorescencia entre distintos instrumentos se debe efectuar sólo con espectros corregidos, como se explicó en la sección 15B.3.

15C APLICACIONES DE LOS MÉTODOS FOTOLUMINISCENTES

Los métodos fluorescentes y fosforescentes poseen límites de detección más bajos que las mediciones espectrofotométricas de absorción. Dichos métodos se encuentran entre las técnicas analíticas más sensibles de las que puedan disponer los científicos. El aumento de sensibilidad surge del hecho de que el parámetro relacionado con la concentración en fluorimetría y en fosforimetría F es directamente proporcional a la potencia de la fuente radiante P_0 . La intensidad de la luminiscencia se puede medir en forma independiente de P_0 . Por el contrario, una medición de absorbancia requiere la evaluación de P_0 y de P , ya que la absor-

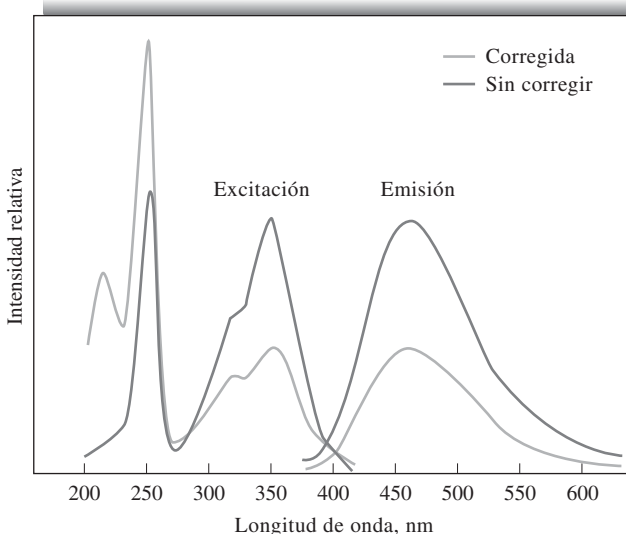


FIGURA 15.14 Espectros corregidos y sin corregir del sulfato de quinina en H_2SO_4 0.2 M. Observe que el espectro de excitación corregido manifiesta una intensidad más alta en la región de longitud de onda corta (~ 250 nm) que en la región de longitud de onda más larga (~ 350 nm) porque la absorptividad molar de la banda de 250 nm es más grande. El espectro de excitación no corregido muestra una intensidad mucho más baja en la región de 250 nm porque la potencia radiante de la fuente es baja. La banda de 350 nm es de intensidad superior en el espectro sin corrección debido a la potencia radiante alta de la fuente. (Tomado de *NIST Tech. Nota* 584, p. 55, diciembre de 1971.)

bancia, que es proporcional a la concentración, depende de la relación entre estas dos cantidades.

La sensibilidad de un método fluorimétrico puede mejorar si aumenta P_0 o si se amplifica aún más la señal de fluorescencia. En realidad, la señal de luminiscencia no es cero cuando la concentración del analito es cero. La luminiscencia de fondo y las señales provenientes de la dispersión y otros orígenes determinan los límites máximos de detección que se pueden lograr. En espectrofotometría, un aumento en P_0 da como resultado un cambio proporcional en P y, por tanto, no afecta a A . Por tanto, los métodos fluorimétricos tienen casi siempre límites de detección que son de uno a tres órdenes de magnitud superiores a los correspondientes a los procedimientos espectrofotométricos. Por otro lado, la precisión y la exactitud de los métodos fotoluminiscentes son por lo regular más bajas que las de los procedimientos espectrofotométricos en un factor entre, quizá, 2 y 5. La precisión de los métodos fotoluminiscentes está limitada a menudo por el ruido fluctuante de la fuente y la deriva. La exactitud está limitada por partículas presentes en la muestra que causan más fluorescencia o dispersión o bien, que atenúen la fluorescencia del analito. Por lo general, los métodos fosforescentes son menos precisos que sus correspondientes métodos fluorescentes.

Los métodos luminiscentes suelen tener intervalos dinámicos lineales más amplios que los métodos de absorción correspondientes. Las curvas de calibración son a menudo lineales desde ligeramente por arriba del límite de detección hasta el punto donde la absorción, y por consiguiente el efecto primario del filtro interno, se vuelve importante. Estos métodos también manifiestan mayor selectividad sobre los métodos de

absorción porque no tantas moléculas muestran luminiscencia importante cuando absorben radiación, y pueden variar tanto las longitudes de onda de la excitación como de la emisión. Por otro lado, la contaminación con los reactivos, los recipientes de laboratorio y otros agentes que interfieren son más importantes en los métodos luminiscentes.

15C.1 Determinación fluorométrica de especies inorgánicas

Los métodos inorgánicos fluorométricos son de dos tipos.¹¹ En los métodos directos se forma un quelato fluorescente y se mide su emisión. El segundo grupo se basa en el descenso de la fluorescencia que resulta de la acción amortiguadora de la sustancia en estudio. La última técnica se ha utilizado más en la determinación de aniones.

Cationes que forman quelatos fluorescentes

Existen dos factores que limitan enormemente la cantidad de iones de metales de transición que forman quelatos fluorescentes. En primer lugar, muchos de estos iones son paramagnéticos; esta propiedad aumenta la velocidad de cruce entre sistemas hacia el estado triple. Por tanto, la desactivación por fluorescencia es poco probable, aunque puede observarse fosforescencia. Un segundo factor es que los complejos de los metales de transición se caracterizan por presentar

¹¹Para revisar la determinación fluorométrica de especies inorgánicas, véase A. Fernandez-Gutierrez y A. M. De La Peña en *Molecular Luminescence Spectroscopy*, S. G. Schulman, ed., parte 1, capítulo 4. Nueva York: Wiley, 1985.

muchos niveles de energía muy cercanos, lo que aumenta la probabilidad de desactivación por conversión interna. Por ello las principales aplicaciones inorgánicas de la fluorometría se reservan a los iones de los metales que no son de transición, los cuales son menos susceptibles a los procesos de desactivación. Hay que señalar que los cationes de los metales que no son de transición son en general incoloros y tienden a formar quelatos que también lo son. Entonces, la fluorometría a menudo complementa a la espectrofotometría.

Reactivos fluorométricos

Los reactivos fluorométricos más satisfactorios en el análisis de cationes son aquellos con estructuras aromáticas con dos o más grupos funcionales donadores que faciliten la formación de quelatos con el ion metálico.¹² Las estructuras de los cuatro reactivos más comunes se presentan en la figura 15.15.

En la tabla 15.2 se presenta una selección de reactivos fluorométricos y sus aplicaciones. Como se puede ver, los límites de detección o sensibilidad son muy bajos para la mayoría de estos métodos.

15C.2 Métodos para especies orgánicas y bioquímicas

La cantidad de aplicaciones del análisis fluorométrico en la química orgánica es impresionante. Por ejemplo, Dean resumió las más importantes en una tabla.¹³ El título *Fluorescence Spectroscopy of Some Organic Compounds* comprende más de 200 sustancias, entre las que están compuestos tan diversos como adenina, ácido antranílico, hidrocarburos aromáticos policíclicos, cisteína, guanina, isoniácida, naftoles, los gases que atacan el sistema nervioso sarín y tabún, proteínas, ácido salicílico, escatol, triptófano, ácido úrico y warfarina (coumadina). Se encuentran incluidos muchos agentes medicinales que se pueden determinar mediante fluorometría, como adrenalina, morfina, penicilina, fenobarbital, procaína, reserpina y dietilamida del ácido lisérgico (LSD). Sin duda, la aplicación más importante de la fluorometría es en el análisis de productos alimenticios, farmacéuticos, muestras clínicas y productos naturales. La sensibilidad y selectividad del método lo hacen particularmente valioso en estos campos. Una gran cantidad de compuestos importantes desde el punto de vista fisiológico manifiestan fluorescencia.

¹² Para un estudio más detallado sobre los reactivos fluorométricos, véase pp. 384-426 de *Molecular Luminescence Spectroscopy* (nota 11), y G. Guilbault en *Comprehensive Analytical Chemistry*, G. Svehla, ed., vol. VIII, cap. 2, pp. 167-178. Nueva York: Elsevier, 1977.

¹³ J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, pp. 5.63-5.69, Nueva York: McGraw-Hill, 1995.

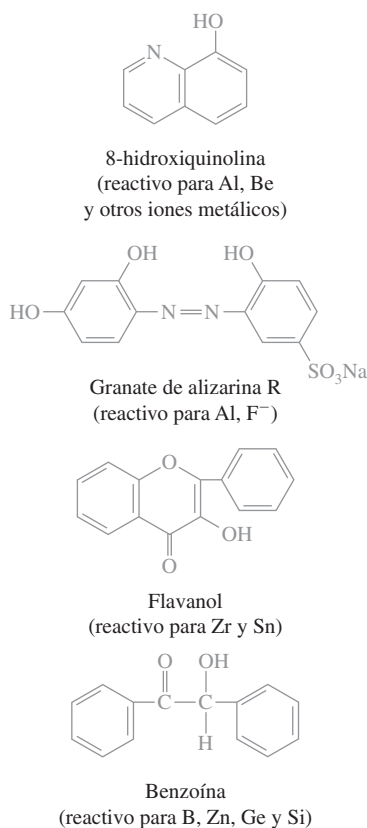


FIGURA 15.15 Algunos agentes quelantes fluorométricos para cationes metálicos. El granate de alizarina R puede detectar Al³⁺ a niveles tan bajos como 0.007 µg/mL. La detección de F⁻ con granate de alizarina R se basa en la supresión de la fluorescencia del complejo de Al³⁺. El flavanol puede detectar Sn⁴⁺ a un nivel de 0.1 µg/mL.

15C.3 Métodos fosforimétricos

Los métodos fosforescentes y fluorescentes tienden a ser complementarios porque los compuestos fuertemente fluorescentes manifiestan una débil fosforescencia y viceversa.¹⁴ Por ejemplo, entre los hidrocarburos aromáticos con anillos condensados, aquellos que contienen átomos pesados como halógenos o azufre, con frecuencia presentan una fuerte fosforescencia. Por otro lado, los mismos compuestos sin la presencia del átomo pesado tienden a presentar fluorescencia en lugar de fosforescencia.

La fosforimetría se utiliza para determinar una gran variedad de especies orgánicas y bioquímicas, como ácidos nucleicos, aminoácidos, pirina y pirimidina, enzimas, hidrocarburos del petróleo y plaguicidas. Sin embargo, el método no ha alcanzado el uso tan difundido de la fluorometría, debido tal vez a que necesita

¹⁴ Véase R. J. Hurtubise, *Phosphorimetry: Theory, Instrumentation, and Applications*, cap. 3, Nueva York: VCH, 1990.

TABLA 15.2 Selección de métodos fluorimétricos para especies inorgánicas.

Ion	Reactivo	Longitud de onda, nm		Sensibilidad, $\mu\text{g/mL}$	Interferencias
		Absorción	Fluorescencia		
Al^{3+}	Granate de alizarina R	470	500	0.007	Be, Co, Cr, Cu, F^- , NO_3^- , Ni, PO_4^{3-} , Th, Zr
F^-	Supresión del complejo de Al^{3+} con granate de alizarina R	470	500	0.001	Be, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, PO_4^{3-} , Th, Zr
$\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$	Benzoína	370	450	0.04	Be, Sb
Cd^{2+}	2-(<i>o</i> -Hidroxifenil)-benzoxazol	365	Azul	2	NH_3
Li^+	8-Hidroxiquinolina	370	580	0.2	Mg
Sn^{4+}	Flavanol	400	470	0.1	F^- , PO_4^{3-} , Zr
Zn^{2+}	Benzoína	—	Verde	10	B, Be, Sb, iones coloreados

Tomado de J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, Nueva York: McGraw-Hill, 1995, pp. 5.60-5.62.

bajas temperaturas y a la casi siempre poca precisión de las mediciones fosforescentes. Además, es atractiva la mayor selectividad posible de los procedimientos de fosforescencia. La razón de estas diferencias de comportamiento se debe a que la fosforescencia efectiva necesita el cruce rápido entre sistemas para poblar el estado triple excitado, que a su vez reduce la concentración de moléculas en el sencillo excitado y, por tanto, la intensidad de fosforescencia.

Durante las últimas dos décadas, se ha hecho un esfuerzo considerable por perfeccionar los métodos fosforimétricos que puedan aplicarse a temperatura ambiente.¹⁵ Estos esfuerzos han tomado dos direcciones. Las primeras observaciones de la fosforescencia a temperatura ambiente se efectuaron con el analito enlazado a un soporte sólido, como un papel filtro o gel de sílice. En estas aplicaciones se dispersa una solución de analito sobre el sólido y se evapora el disolvente. Se mide entonces la fosforescencia de la superficie. La matriz rígida reduce al mínimo la desactivación del estado triple por supresión mediante choques. La supresión o atenuación por medio de colisiones afecta mucho más a la fosforescencia que a la fluorescencia debido al mayor tiempo de vida del estado triple.

La fosforescencia a temperatura ambiente en solución se ha observado en medios organizados que contienen micelas. Con las micelas, el analito se incorpora al núcleo de la micela, lo cual sirve para proteger el estado triple. También se utilizan las moléculas de ciclodextrina, las cuales son polímeros en forma de dona. En la mayor parte de los experimentos a temperatura ambiente, los átomos pesados, como Tl(I),

Pb(II), Ag(I) y los iones haluro se aprovechan para impulsar el cruce entre los sistemas.

15C.4 Detección de fluorescencia en cromatografía líquida

Las medidas de fotoluminiscencia representan un importante método para la detección y determinación de los componentes de una muestra cuando se extraen de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar. La fluorescencia excitada mediante rayos láser es muy importante sobre todo para estas aplicaciones porque el rayo se puede enfocar con facilidad a un tamaño del mismo orden que el diámetro de la columna. Las aplicaciones en cromatografía de líquidos y electroforesis capilar se tratan en los capítulos 28 y 30.

15C.5 Medición del tiempo de vida

La medición del tiempo de vida en fluorescencia proporciona información relacionada con los procesos de desactivación de colisiones, velocidades de transferencia de energía y reacciones de estados excitados. Desde el punto de vista analítico, las mediciones del tiempo de vida también se usan para proporcionar más selectividad en el análisis de mezclas que contienen especies luminiscentes. En un principio, la medición de los tiempos de vida de la luminiscencia estaba restringida a sistemas fosforescentes, donde los tiempos de decaimiento eran suficientemente largos para permitir una medición fácil de la intensidad emitida en función del tiempo. En los años recientes se ha vuelto rutinario medir velocidades de decaimiento de la luminiscencia en la escala de tiempo de la fluorescencia (10^{-5} a $<10^{-9}$ s).

¹⁵T. Vo-Dinh, *Room Temperature Phosphorimetry for Chemical Analysis*, Nueva York: Wiley, 1984.

Se aplican dos enfoques ampliamente usados para medir el tiempo de vida, a saber, el enfoque del *dominio del tiempo* y el del *dominio de la frecuencia*. En las mediciones en el dominio del tiempo se utiliza una fuente pulsada y se mide el decaimiento de la fluorescencia en función del tiempo. En el método del dominio de la frecuencia se utiliza una fuente modulada de manera sinusoidal para excitar a la muestra. El desfase y la desmodulación de la emisión de fluorescencia respecto a la onda de excitación proporcionan la información acerca del tiempo de vida. Ya hay instrumentos en el comercio para poder aplicar ambas técnicas.¹⁶

15C.6 Métodos de imágenes por fluorescencia

En los años recientes ya fue posible combinar la espectroscopia de fluorescencia con la microscopia óptica para generar imágenes de fluoróforos presentes en matrices de complejos tales como células únicas.¹⁷ En algunos casos, la fluorescencia intrínseca o nativa de biomoléculas se puede usar junto con microscopia para supervisar la dinámica en las células.¹⁸ En ausencia de un fluoróforo nativo, los indicadores fluorescentes se pueden aprovechar para demostrar hechos biológicos. De particular interés es la llamada sonda iónica que cambia su espectro de excitación o de emisión al unirse a iones específicos como Ca^{2+} o Na^+ . Estos indicadores se usan para registrar fenómenos que tienen lugar en diferentes partes de las neuronas o para vigilar en forma simultánea la actividad de un grupo de neuronas.

Por ejemplo, en neurobiología, el colorante Fura-2 se ha utilizado para supervisar la concentración de calcio libre dentro de la célula después de la estimulación farmacológica o eléctrica. Al rastrear los cambios de fluorescencia en función del tiempo en sitios específicos de la neurona, los investigadores son capaces de determinar cuándo y dónde tiene lugar un fenómeno eléctrico que depende del calcio. Una célula que se ha estudiado es la neurona de Purkinje del cerebelo, la cual es una de las más grandes en el sistema nervioso central. Cuando esta célula se carga con el indicador fluorescente Fura-2, se pueden medir cambios claros en la fluorescencia, los cuales corresponden a potenciales de acción individuales del calcio. Los cambios se correlacionan con los sitios específicos en la célula por

medio de técnicas de imágenes fluorescentes. En la figura 15.16 se ilustra a la derecha la imagen fluorescente junto a los transitorios de fluorescencia registrados cuando el cambio en la fluorescencia respecto a la fluorescencia estable $\Delta F/F$ se correlaciona con los picos del potencial de acción del sodio. La interpretación de estas clases de patrones puede tener consecuencias importantes relacionadas con el conocimiento acerca de la actividad sináptica. Hay diferentes fabricantes de microscopios comerciales de fluorescencia y sus accesorios.

Los métodos de microscopia de fluorescencia y tiempo de vida de la fluorescencia se combinan en una técnica conocida como *imágenes del tiempo de vida de la fluorescencia*. En este caso, los tiempos de vida se utilizan para generar contraste en imágenes bidimensionales de fluorescencia.¹⁹

15D QUIMIOLUMINISCENCIA

La aplicación de la quimioluminiscencia a la química analítica es reciente. Las reacciones químicas que producen quimioluminiscencia son pocas, lo que limita el procedimiento a un número relativamente pequeño de especies. No obstante, algunas de las sustancias que reaccionan manifestando quimioluminiscencia son componentes importantes del ambiente. Para estos casos, la alta selectividad, la sencillez y la extrema sensibilidad del método son la causa de su creciente utilización.²⁰

15D.1 El fenómeno de la quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia se produce cuando una reacción química genera una especie electrónicamente excitada que emite luz cuando vuelve al estado fundamental. Las reacciones quimioluminiscentes se producen en varios sistemas biológicos, en los que el proceso se suele denominar *bioluminiscencia*. Entre los ejemplos de especies que presentan bioluminiscencia están las luciérnagas, un coral suave del género *Renilla* y ciertas medusas, bacterias, protozoos y crustáceos. Las características químicas de los distintos procesos bioluminiscentes naturales no se conocen totalmente.

¹⁹Por ejemplo, véase, J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2a. ed., Nueva York: Kluwer Academic Publishing/Plenum Press, 1999; B. Herman, *Fluorescence Microscopy*, 2a. ed., Nueva York: Springer-Verlag, 1998.

²⁰Refiérase a las siguientes obras si desea repasar la quimioluminiscencia y consultar algunas aplicaciones analíticas, K. A. Fletcher *et al.*, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 4047; A. M. Powe *et al.*, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 4614; L. J. Kricka, *Anal. Chem. Acta*, **2003**, 500, p. 279; R. A. Agbaria *et al.*, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, pp. 39, 52; T. A. Nieman en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. A. Settle, ed., cap. 27, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997.

¹⁶Algunas obras que tratan las mediciones del tiempo de vida son: F. V. Bright y C. A. Munson, *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 500, p. 72; J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2a. ed., caps. 4 y 5, Nueva York: Kluwer Academic Publishers/Plenum Press, 1999.

¹⁷X. F. Wang, B. Herman, eds., *Fluorescence Imaging Spectroscopy and Microscopy*, Nueva York: Wiley, 1996.

¹⁸Por ejemplo, véase, E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 522A.

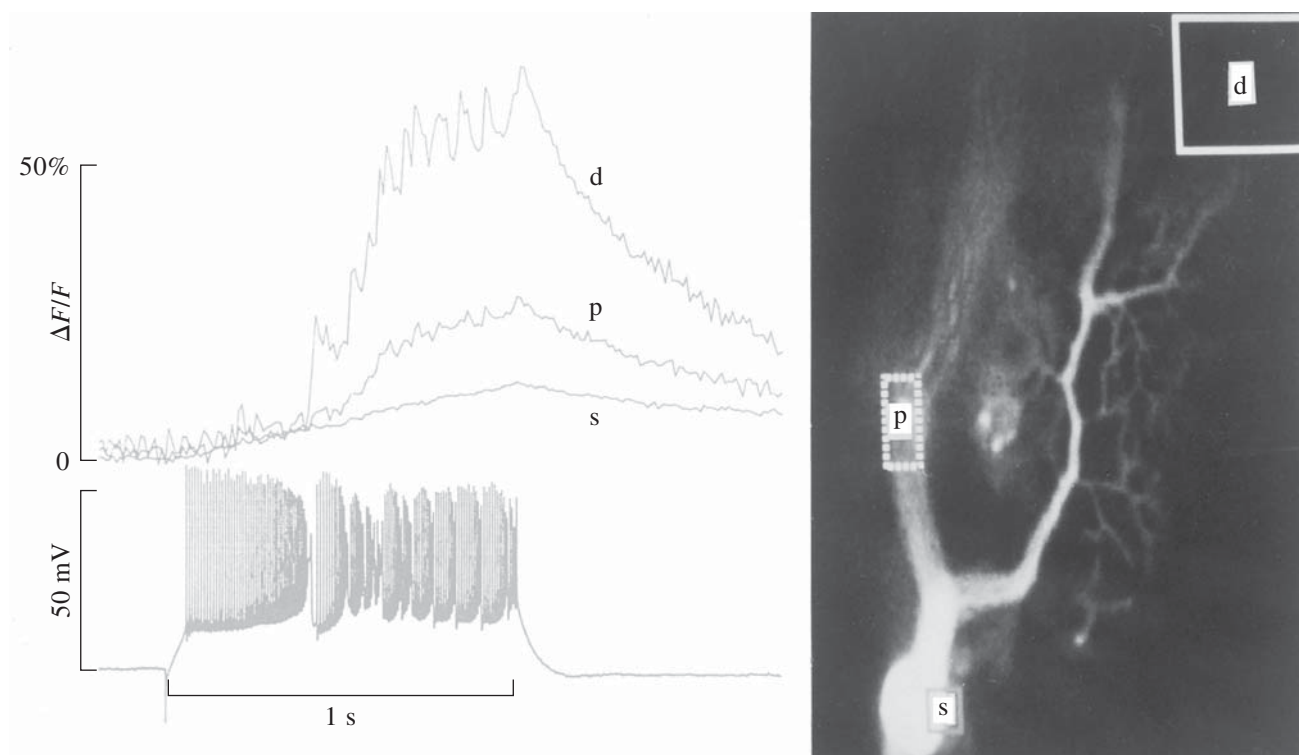
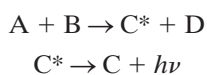


FIGURA 15.16 Transitorios de calcio en una célula de Purkinje del cerebelo. La imagen de la derecha es de la célula llena con un colorante fluorescente que responde a la concentración de calcio. La fluorescencia momentánea se muestra en la parte superior de la izquierda en las áreas llamada d, p y s de la célula. Los transitorios en la región d corresponden a la región de las dendritas celulares. Las señales específicas del calcio se correlacionan con los potenciales de acción que se muestran a la izquierda en la parte inferior. (Tomado de V. Lev-Ram, H. Mikayawa, N. Lasser-Ross, W. N. Ross, *J. Neurophysiol.*, **1992**, 68, p. 1170.)

Hace más de un siglo se descubrió que ciertos compuestos orgánicos relativamente sencillos también eran capaces de manifestar quimioluminiscencia. El tipo de reacción más sencilla de dichos compuestos para producir quimioluminiscencia se puede formular como



donde C^* representa el estado excitado de la especie C. En este caso, el espectro de luminiscencia es el del producto de reacción C. La mayoría de las reacciones quimioluminiscentes son mucho más complicadas que lo que sugieren las reacciones anteriores.

En la quimioluminiscencia, la intensidad de radiación I_{CL} (fotones emitidos por segundo) depende de la velocidad de la reacción química ($d[C]/dt$) y de la eficacia cuántica de quimioluminiscencia ϕ_{CL} (fotones emitidos por molécula que ha reaccionado). El último término es igual al producto de la eficacia cuántica de

excitación ϕ_{EX} (estados excitados por moléculas que han reaccionado) y la eficacia cuántica de emisión ϕ_{EM} (fotones por estado excitado). Estas relaciones se describen mediante la ecuación

$$I_{CL} = \phi_{CL} \frac{d[C]}{dt} = \phi_{EX} \phi_{EM} \frac{d[C]}{dt} \quad (15.13)$$

Por lo regular, los sistemas quimioluminiscentes útiles en análisis presentan valores de ϕ_{CL} comprendidos entre 0.01 y 0.2.

15D.2 Medición de la quimioluminiscencia

El equipo para medir la quimioluminiscencia es notablemente sencillo, y puede consistir tan sólo de un recipiente de reacción adecuado y un tubo fotomultiplicador. En general, no es necesario ningún dispositivo para seleccionar la longitud de onda porque la única fuente de radiación es la reacción química entre

el analito y el reactivo. Diversos fabricantes de instrumentos ofrecen fotómetros quimioluminiscentes.

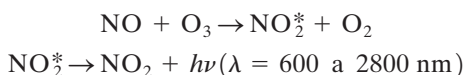
La señal característica de un experimento quimioluminiscente depende del tiempo y surge con rapidez hasta un máximo cuando la mezcla del reactivo y el analito se completa. Luego sigue una disminución de la señal más o menos exponencial (véase figura 15.17). Por lo regular, en lo que se refiere al análisis cuantitativo, la señal se integra para un tiempo fijo y se compara con patrones tratados de forma idéntica. Otra opción es usar las alturas de los picos para efectuar los cálculos. A menudo se observa una relación lineal entre la señal y la concentración, para un intervalo de concentración de varios órdenes de magnitud.

15D.3 Aplicaciones analíticas de la quimioluminiscencia

Los métodos quimioluminiscentes²¹ son muy sensibles porque en ausencia de ruido se pueden realizar con bajos niveles de luz. Además, es innecesario atenuar la radiación mediante un filtro o un monocromador. De hecho, los límites de detección se determinan en general no tanto por la sensibilidad del detector, sino por la pureza de los reactivos. Los límites de detección característicos se encuentran dentro del intervalo de partes por mil millones, o a veces menos, a partes por millón. La precisión de las determinaciones depende de los instrumentos y del cuidado al efectuarlas.

Análisis de gases

Los métodos quimioluminiscentes para detectar gases se originaron por la necesidad de encontrar medios muy sensibles para determinar contaminantes atmosféricos, como el ozono, los óxidos de nitrógeno y los compuestos azufrados. De estos métodos, uno de los que más se utilizan es el que detecta monóxido de nitrógeno con las reacciones



El ozono procedente de un electrogenerador y la muestra de la atmósfera son arrastrados en forma continua hacia el recipiente de reacción, donde se sigue el curso de la radiación luminiscente mediante un tubo fotomultiplicador. Se ha encontrado una respuesta lineal para concentraciones de monóxido de nitrógeno desde 1 parte por mil millones (ppmm) hasta 10 000 ppm. Este procedimiento se ha convertido en el más utilizado para controlar la concentración de este importante

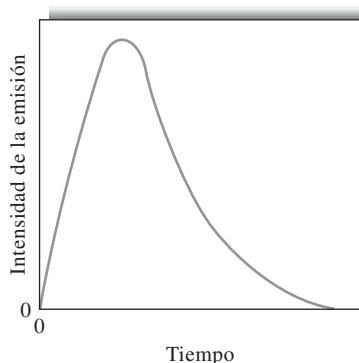
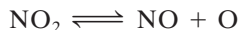


FIGURA 15.17 Intensidad de la emisión de quimioluminiscencia en función del tiempo después de mezclar los reactivos.

constituyente atmosférico desde el nivel del suelo hasta altitudes de 20 km.

La reacción del óxido nítrico con ozono se ha utilizado también para determinar óxidos de nitrógeno con estados de oxidación superiores. Por ejemplo, el contenido de dióxido de nitrógeno en los gases de escape de los automóviles se ha determinado por descomposición térmica del gas a 700°C en un tubo de acero. La reacción es

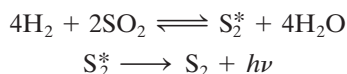


Al menos dos fabricantes ofrecen en la actualidad un instrumento para detectar nitrógeno en materiales sólidos o líquidos que contienen entre un 0.1 y un 30% de nitrógeno. Las muestras se pirolizan en una atmósfera de oxígeno en condiciones en las que el nitrógeno se convierte cuantitativamente en monóxido de nitrógeno (NO). La concentración de NO se mide entonces con el método recién descrito.

Otro importante método quimioluminiscente se aplica para supervisar el ozono atmosférico. En este caso, la determinación se basa en la luminiscencia producida cuando el analito reacciona con el colorante Rhodamine B, adsorbido sobre una superficie de gel de sílice activada. Este procedimiento es sensible a concentraciones de ozono inferiores a 1 ppmm. La respuesta es lineal hasta 400 ppmm de ozono. El ozono también se puede determinar en fase gaseosa, con base en la quimioluminiscencia producida cuando el analito reacciona con etileno. Se ha reportado que ambos reactivos son específicos para el ozono.

Y hay aún otro método quimioluminiscente importante en fase gaseosa que se utiliza para la determinación de compuestos azufrados en la atmósfera, como el sulfuro de hidrógeno, el dióxido de azufre y los mercaptanos. En estos casos, la muestra se quema en una llama de hidrógeno para tener un dímero de azufre, el cual se descompone después emitiendo luz. Por ejemplo, con el dióxido de azufre, las reacciones son

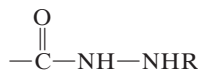
²¹ Para conocer algunas aplicaciones recientes véase A. Roda, M. Guardigli, E. Micheli, M. Mirasoli y P. Pasini, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 462A.



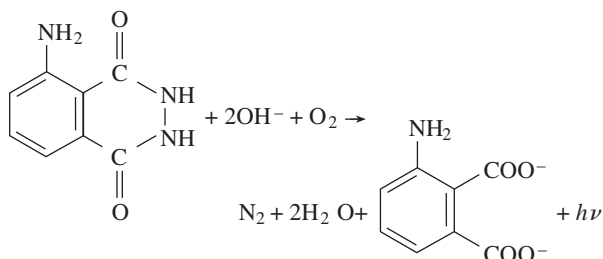
En este caso la emisión ocurre en la zona azul, con máximos a 384 y 394 nm. La intensidad de la quimioluminiscencia es proporcional a la concentración del dímero de azufre excitado. De manera similar, la combustión de los compuestos fosforados en una llama de hidrógeno da lugar a la emisión debido a HPO^* a 526 nm. Se han llegado a obtener curvas lineales para intervalos de concentración de más de cuatro decenas. Estas dos técnicas de quimioluminiscencia en llama se emplean para detectar especies azufradas o fosforadas en el efluente de las columnas de cromatografía de gases.

Análisis de especies inorgánicas en fase líquida

Muchos de los análisis que se llevan a cabo en fase líquida utilizan sustancias orgánicas quimioluminiscentes que contienen el grupo funcional



Estos reactivos reaccionan con oxígeno, peróxido de hidrógeno y muchos otros agentes oxidantes fuertes para originar un producto de oxidación quimioluminiscente. El luminol es el ejemplo más común de este tipo de compuestos. A continuación se muestra su reacción con oxidantes fuertes, como oxígeno, peróxido de hidrógeno, el ion hipoclorito y el ion permanganato, en presencia de una base fuerte. A veces se necesita un catalizador para que la reacción transcurra a la velocidad adecuada. La emisión producida coincide con el espectro de fluorescencia del producto, el anión 3-aminoftalato. La quimioluminiscencia es azul y está centrada alrededor de 425 nm.



Dentro de ciertos límites, la intensidad de quimioluminiscencia del luminol es proporcional a la concentración del oxidante, del catalizador o del luminol. Por consiguiente, la reacción proporciona un método sensible para determinar cualquiera de estas especies. Por ejemplo, si se utiliza peróxido de hidrógeno como oxidante, se puede detectar el catalizador Co^{2+} a concentraciones inferiores a 0.01 nmol/L, Cr^{3+} si el catali-

zador es 0.5 nmol/L por debajo de Cu^{2+} y si es 1 nmol/L por debajo de 1 nmol/L. Con algunos cationes se inhibe la luminiscencia. En esos casos, el descenso en la intensidad facilita determinar las concentraciones.

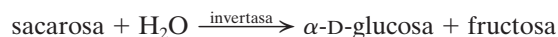
Determinaciones de especies orgánicas

Para aumentar la selectividad de las reacciones quimioluminiscentes y ampliar la quimioluminiscencia a analitos que no participan directamente en las reacciones de este tipo, es común efectuar paso a paso una reacción enzimática, en la cual el analito por determinar es el sustrato, y uno de los productos de la reacción enzimática se detecta mediante quimioluminiscencia. Lo más común es ejecutarlo en sistemas de flujo con reactores que contienen la enzima inmovilizada. Sin embargo, la atención se ha dirigido recientemente hacia los diseños con biosensores que utilizan enzimas unidas a fibras ópticas.

En la etapa de predetección se utilizan de ordinario enzimas oxidasas que generan H_2O_2 . No sólo puede determinarse el H_2O_2 con distintos sistemas quimioluminiscentes, sino que el oxidante necesario (O_2) está presente ya en la mayoría de las muestras. Si se supone una conversión cuantitativa por efecto de la enzima, se pueden determinar los sustratos que están por abajo de 10 a 100 nM, lo mismo que el H_2O_2 . Dentro de los sustratos detectados de esta forma están glucosa, colesterol, colina, ácido úrico, aminoácidos, aldehídos y lactato. Por ejemplo:



El mismo enfoque se puede generalizar utilizando etapas enzimáticas sucesivas para convertir finalmente el analito en una cantidad equivalente de reactante quimioluminiscente. De esta manera se determinaron azúcares distintos de la glucosa, glucósidos, ésteres del colesterol, creatinina y acetilcolina.²² Por ejemplo,



El luminol más una peroxidasa como catalizador parece ser un excelente medio de reacción para determinar H_2O_2 . El máximo de intensidad quimioluminiscente se alcanza en casi 100 ms. El solvente es agua, pero es compatible con algunos compuestos orgánicos. El límite de detección es de alrededor de 0.1 pM, con linealidad para tres a cuatro decenas de concentración.

²² C. A. K. Swindlehurst y T. A. Nieman, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 205, p. 195.

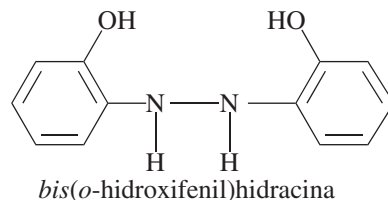
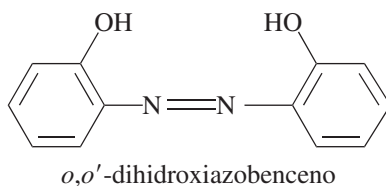
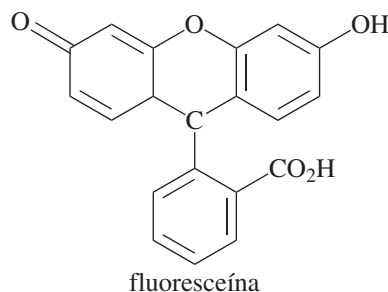
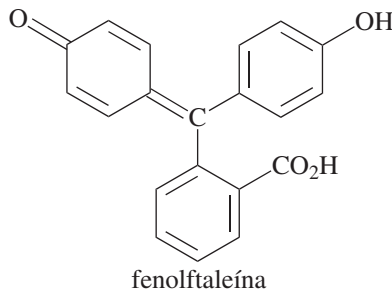
PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contengan este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 15.1** Explique la diferencia que existe entre un espectro de emisión fluorescente y un espectro de excitación fluorescente. ¿Cuál de ellos se parece más a un espectro de absorción?
- 15.2** Defina los términos siguientes: *a)* fluorescencia, *b)* fosforescencia, *c)* fluorescencia de resonancia, *d)* estado sencillo, *e)* estado triple, *f)* relajación vibracional, *g)* conversión interna, *h)* conversión externa, *i)* cruce entre sistemas, *j)* predisociación, *k)* disociación, *l)* eficiencia cuántica y *m)* quimioluminiscencia.
- 15.3** ¿Por qué la espectrofluorimetría es potencialmente más sensible que la espectrofotometría?
- 15.4** ¿Para cuál de los siguientes pares de compuestos se espera una mayor eficacia cuántica de fluorescencia? Explique.



- 15.5** ¿Por qué algunos compuestos absorbentes manifiestan fluorescencia y otros no?
- 15.6** Analice las principales razones por las cuales la espectrometría de fosforescencia molecular no se utiliza tan ampliamente como la espectrometría de fluorescencia molecular.



- 15.7** La forma reducida del dinucleótido de adenina y nicotinamida (NADH) es una importante coenzima muy fluorescente. Tiene un máximo de absorción de 340 nm y un máximo de emisión de 465 nm. Unas soluciones patrón de NADH dieron las siguientes intensidades de fluorescencia:

Conc. NADH, $\mu\text{mol/L}$	Intensidad relativa
0.100	2.24
0.200	4.52
0.300	6.63
0.400	9.01
0.500	10.94
0.600	13.71
0.700	15.49
0.800	17.91

- a) Construya una hoja de cálculo y utilícela para trazar una curva de calibración para el NADH.
- *b) Calcule mediante mínimos cuadrados la pendiente y la ordenada al origen de la gráfica de a).
- c) Calcule la desviación estándar de la pendiente y la desviación estándar respecto a la regresión de la curva.
- *d) Una solución problema presenta una intensidad de fluorescencia relativa de 12.16. Determine mediante la hoja de cálculo la concentración de NADH.
- *e) Calcule la desviación estándar relativa del resultado del inciso d).
- *f) Calcule la desviación estándar relativa del resultado del inciso d) si la lectura 7.95 fue la media de tres medidas.



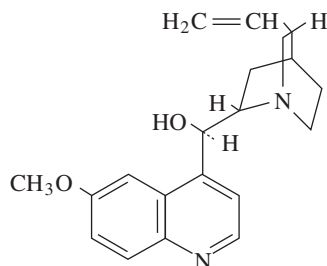
15.8 Los volúmenes de una solución que contenía 1.10 ppm de Zn^{2+} que se muestran en la tabla se vaciaron con una pipeta en ampollas de decantación que contenían cada una 5.00 mL de una solución de cinc desconocida. Cada una de ellas fue extraída con tres alícuotas de 5 mL de CCl_4 que contenía un exceso de 8-hidroxi-quinolina. Los extractos se diluyeron luego a 25.0 mL y se midió su fluorescencia con un fluorómetro. Los resultados fueron los siguientes:

Volumen de Zn^{2+} patrón, mL	Lectura del fluorómetro
0.000	6.12
4.00	11.16
8.00	15.68
12.00	20.64

- a) Elabore una curva de trabajo con los datos.
 - b) Calcule por mínimos cuadrados una ecuación para los datos.
 - c) Determine la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada al origen respecto a la regresión.
 - d) Calcule la concentración de cinc en la muestra.
 - e) Determine la desviación estándar del resultado del inciso d).
- *15.9** La quinina de una tableta antimalaria de 1.664 g se disolvió en suficiente HCl 0.10 M para obtener 500 mL de solución. Una alícuota de 20.00 mL se diluyó luego a 100.0 mL con el ácido. La intensidad de la fluorescencia para la muestra diluida a 347.5 nm dio una lectura de 245 en una escala arbitraria. Una solución patrón de quinina de 100 ppm registró 125 cuando se midió en condiciones idénticas a las de la muestra diluida. Determine la masa en miligramos de la quinina en la tableta.
- *15.10** La determinación del problema 15.9 se modificó para usar el método de adición estándar. En este caso, una tableta de 4.236 g se disolvió en suficiente HCl 0.10 M para obtener 1.000 litros. Se disuelve una alícuota de 20.00 mL hasta 100 mL para originar una solución que dio una lectura de 448 a 347.5 nm. Una segunda alícuota de 20.00 mL se mezcló con 10.0 mL de una solución de quinina de 50 ppm antes de diluirla hasta 100 mL. La intensidad de la fluorescencia de esta solución fue de 525. Calcule el porcentaje de quinina en la tableta.
- *15.11** Los iones de hierro(II) catalizan la oxidación del luminol con H_2O_2 . Está comprobado que la intensidad de la quimioluminiscencia resultante aumenta en forma lineal con la concentración de hierro(II) desde 10^{-10} a 10^{-8} M.
- A una alícuota de 2.00 mL de una solución problema de Fe(II) se le adicionó 1.00 mL exacto de agua, seguido de 2.00 mL de una solución diluida de H_2O_2 y 1.00 mL de una solución alcalina de luminol. La señal quimioluminiscente de la mezcla se integró durante un periodo de 10.0 s y se encontró que era de 14.3.

A una segunda alícuota de 2.00 mL de la muestra se le añadió 1.00 mL de una solución de Fe(II) 3.58×10^{-5} M seguido del mismo volumen de H₂O₂ y luminol. La intensidad integrada fue de 33.3. Calcule la concentración de Fe(II) en la muestra.

- 15.12** Las ecuaciones para la determinación de la quimioluminiscencia del SO₂ se encuentran en la sección “Análisis de gases”. Deduzca una expresión que relacione la concentración de SO₂ en una muestra, la intensidad de la luminiscencia y la constante de equilibrio para la primera reacción.
- 15.13** La quinina es una de las moléculas fluorescentes mejor conocidas y las sensibilidades de los fluorómetros a menudo se especifican en términos del límite de detección para esta molécula. La estructura de la quinina se da a continuación. Pronostique qué parte de la molécula tiene la mayor probabilidad de comportarse como cromóforo y como centro fluorescente.



- 15.14** La eficacia cuántica de la fluorescencia ϕ_f se puede expresar como

$$\phi_f = \frac{\tau}{\tau_0}$$

donde τ es el tiempo de vida del estado excitado en presencia de un agente supresor y τ_0 es el tiempo de vida natural sin la presencia del agente supresor. La potencia radiante de la fluorescencia F se obtiene mediante la ecuación 15.7. La supresión por choques afecta a esta cantidad porque el tiempo de vida τ se ve afectado por la supresión por choques. Deduzca una ecuación que demuestre que la relación $F\tau$ es independiente de la supresión por choques y directamente proporcional a la concentración. (Tomado de G. M. Hieftje y G. R. Haugen, *Anal. Chem. Acta*, **1981**, 123, p. 255.)

-  **15.15** Los siguientes tiempos de vida se midieron para la supresión o amortiguamiento del sulfato de quinina con cloruro del ejemplo 15.1. Las intensidades de la fluorescencia se proporcionan en el ejemplo.

Tiempo de vida de la fluorescencia τ , ns	[Cl ⁻], M
18.1	0.000
8.9	0.005
5.7	0.010
4.5	0.015
3.6	0.020
2.8	0.025
2.5	0.030
1.9	0.040
1.6	0.050

- a) Grafique la intensidad de la fluorescencia contra [Cl⁻].
 b) Grafique la relación de intensidad respecto al tiempo de vida, $F\tau$ contra [Cl⁻].

- c) Determine un factor de normalización para corregir la intensidad de la fluorescencia medida respecto a la solución sin agente supresor.
- d) Trace en la misma gráfica F contra $[\text{Cl}^-]$ y F_{corr} contra $[\text{Cl}^-]$.



Problema de reto

15.16 Los siguientes volúmenes de solución patrón de F^- a 10.0 ppm se adicionaron a cuatro alícuotas de 10.00 mL de una muestra de agua: 0.00, 1.00, 2.00 y 3.00 mL. A cada una de las cuatro soluciones se les añadieron 5.00 mL exactos de una solución que contenía un exceso del complejo de Al con el granate de alizarina R, un complejo fuertemente absorbente, y se diluyeron a 50.0 mL. La intensidad de fluorescencia de las cuatro soluciones fueron las siguientes:

V_s , mL	Lectura en el medidor
0.00	68.2
1.00	55.3
2.00	41.3
3.00	28.8

- a) Explique el fundamento químico del método analítico.
- b) Represente gráficamente los datos.
- c) Con base en el hecho de que la fluorescencia disminuye con cantidades crecientes del patrón de F^- deduzca una relación similar a la ecuación 1.3 para adiciones múltiples estándar. Utilice esta relación después para obtener una ecuación para la concentración desconocida c_x en función de la pendiente y la ordenada al origen de la gráfica de adiciones estándar, similar a la ecuación 1.4.
- d) Mediante mínimos cuadrados determine la ecuación de la recta que relaciona la disminución de la fluorescencia respecto al volumen de fluoruro patrón V_s .
- e) Calcule la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada al origen.
- f) Calcule la concentración, en ppm, de F^- en la muestra.
- g) Determine la desviación estándar del resultado en e).

Introducción a la espectrometría infrarroja

La región infrarroja (IR) del espectro comprende radiación con número de onda que varía entre $12\,800$ y 10 cm^{-1} o longitudes de onda de 0.78 a $1000\text{ }\mu\text{m}$. Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los instrumentos, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones, a saber, infrarrojo cercano, medio y lejano. Las técnicas y las aplicaciones de los métodos basados en cada una de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren de manera considerable como se explica en este capítulo.

En la tabla 16.1 se proporcionan los límites aproximados de cada una de las tres regiones. A menudo, las mediciones en la región del infrarrojo cercano se realizan con fotómetros y espectrofotómetros similares, en cuanto a su diseño y componentes, a los instrumentos que se describieron en los capítulos anteriores de espectrometría ultravioleta/visible. Las aplicaciones más importantes de esta región espectral se encuentran en el análisis cuantitativo de materiales industriales y agrícolas y en los procesos de control. Las aplicaciones de la espectrometría del infrarrojo cercano se tratan en la sección 17D.

Hasta principios de los años ochenta, los instrumentos para la región del infrarrojo medio eran en su mayoría de tipo dispersivo, y usaban redes de difracción. Sin embargo, a partir de ese momento tuvo lugar un cambio espectacular en la instrumentación del infrarrojo medio, de tal manera que ahora la mayoría de los instrumentos nuevos son del tipo de transformada de Fourier. Los fotómetros con filtros de interferencias también son útiles para medir la composición de los gases y de los contaminantes atmosféricos.

El surgimiento, en la última década, de espectrómetros de transformada de Fourier relativamente baratos aumentó en forma notable el número y tipo de aplicaciones de la radiación del infrarrojo medio. La razón de este incremento radica en que los instrumentos interferométricos mejoran la magnitud de la relación señal-ruido y de los límites de detección en comparación con los instrumentos dispersivos. Antes de la aparición de estos instrumentos, la región espectral del infrarrojo medio se utilizaba en su mayor parte para el análisis orgánico cualitativo y la determinación estructural con base en los espectros de absorción. Ahora, en cambio, la espectrometría del infrarrojo medio se está comenzando a utilizar además en el análisis cuantitativo de muestras complejas, mediante espectrometría de absorción y emisión. También han empezado a aparecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante reflectancia total atenuada y reflectancia difusa, medidas fotoacústicas y otras. Algunas de estas aplicaciones se describen en el capítulo 17.

El uso de la región espectral del infrarrojo lejano, aunque en potencia bastante útil, estuvo limitado en el pasado como consecuencia de dificultades experimentales. Las pocas fuentes de este tipo de radiación son muy débiles y además se atenúan por la necesidad de utilizar filtros que seleccionan órdenes espectrales para evitar que la radiación de mayor energía que emerge de la red de dispersión alcance el detector. Los espectrómetros de transformada de Fourier, con un rendimiento muy superior, alivian en gran parte este problema y hacen a la región espectral del infrarrojo



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

TABLA 16.1 Regiones del espectro infrarrojo.

Región	Longitud de onda (λ), μm	Número de onda ($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Frecuencias (ν), Hz
Cercana	0.78 a 2.5	12 800 a 4000	3.8×10^{14} a 1.2×10^{14}
Media	2.5 a 50	4000 a 200	1.2×10^{14} a 6.0×10^{12}
Lejana	50 a 1000	200 a 10	6.0×10^{12} a 3.0×10^{11}
La más utilizada	2.5 a 15	4000 a 670	1.2×10^{14} a 2.0×10^{13}

lejano mucho más accesible para los químicos. En la sección 17E se describen algunas aplicaciones de la espectroscopía en el infrarrojo lejano.

En este capítulo primero se consideran los mecanismos de absorción, emisión y reflexión de la radiación infrarroja con base en la espectroscopía de absorción. Se continúa con una descripción de los componentes de los instrumentos para infrarrojo y de cómo están dispuestos en los instrumentos dispersivos y no dispersivos, así como en los espectrómetros de transformada de Fourier.¹

16A TEORÍA DE LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO

Los espectros de absorción, emisión y reflexión en el infrarrojo de especies moleculares se pueden explicar si se supone que todos son resultado de distintos cambios energéticos producidos por las transiciones de las moléculas de unos estados energéticos vibracionales y rotacionales en otros. En esta sección se utiliza la absorción molecular para ilustrar la naturaleza de estas transiciones.

16A.1 Introducción

La gráfica que se muestra en la figura 16.1 es el registro obtenido con un espectrómetro infrarrojo comercial de amplio uso. Aunque en el eje y se muestra una transmitancia lineal, los modernos espectrofotómetros computarizados también producen espectros que son lineales respecto a la absorbancia. En este espectro, la abscisa es lineal en números de onda con unidades de cm^{-1} . Asimismo, se muestra una escala de longitud de onda en la parte superior de la gráfica. Los espectrofotómetros computarizados también son capaces de generar una variedad de formatos espectrales como espectros lineales en longitud de onda, línea de referencia corregida y espectros de derivadas y suavizados.

La preferencia por la escala lineal de número de onda en espectroscopía infrarroja se debe a la propor-

cionalidad directa que existe entre esta magnitud y la energía o la frecuencia. La frecuencia de la radiación absorbida coincide a su vez con la frecuencia de la vibración molecular que, en realidad, es la causa del proceso de absorción. Sin embargo, rara vez se utiliza la frecuencia como abscisa debido al tamaño poco adecuado de las unidades; es decir, la escala de frecuencia en la gráfica de la figura 16.1 se extendería desde 1.2×10^{14} hasta 2.0×10^{13} Hz. Aunque en muchas ocasiones al eje en términos de números de onda se le llama eje de frecuencias, tenga en cuenta que esta terminología no es del todo correcta, ya que el número de onda $\bar{\nu}$ sólo es proporcional a la frecuencia ν . Las relaciones se dan en la ecuación 16.1.

$$\bar{\nu} (\text{cm}^{-1}) = \frac{1}{\lambda (\mu\text{m})} \times 10^4 (\mu\text{m}/\text{cm}) = \frac{\nu (\text{Hz})}{c (\text{cm/s})} \quad (16.1)$$

Para finalizar, tenga en cuenta que la abscisa en la figura 16.1 cambia de escala a partir de 2000 cm^{-1} , las unidades en los números de onda superiores se representan por la mitad de la distancia que tienen en números de onda inferiores. Esta escala ampliada en la región de 2000 a 650 cm^{-1} permite identificar con más facilidad las características espectrales. Por lo regular, numerosas bandas IR aparecen en esta región.

Cambios en el momento del dipolo durante las vibraciones y las rotaciones

La radiación infrarroja no tiene la suficiente energía para producir la clase de transiciones electrónicas que se encuentran en las radiaciones ultravioleta y visible; por esa razón, la absorción de radiación infrarroja se limita en gran parte a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales.

Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar cuando vibra o gira. Sólo en estas circunstancias el campo eléctrico alternante de la radiación puede interactuar con la molécula y modificar la amplitud de alguno de sus movimientos. Por ejemplo, la distribución de la carga alrededor de una molécula como el ácido clorhídrico no es simétrica porque el cloro posee una densidad electrónica mayor que el hidrógeno. Por tanto, el ácido clorhídrico posee un momento dipolar

¹Para un análisis más detallado sobre la espectrometría en el infrarrojo, véase N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3a. ed. San Diego: Academic Press, 1990; B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*, New York: VCH, 1995; C.-P. S. Hsu, en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1997, cap. 15.

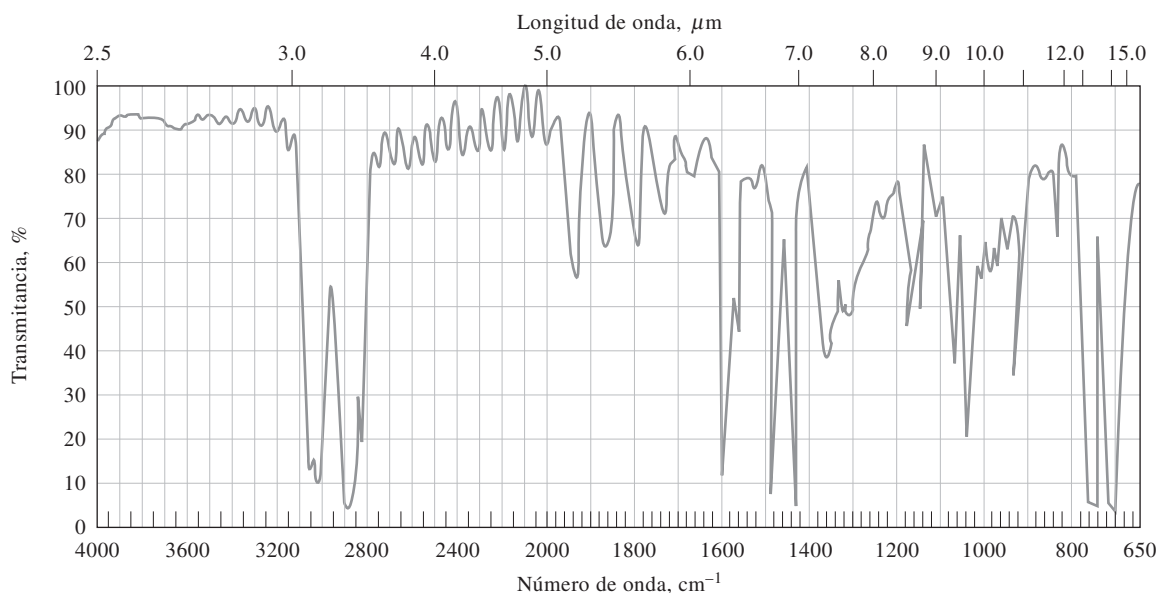


FIGURA 16.1 Espectro de absorción IR de una fina película de poliestireno. Observe el cambio de la escala en el eje x a 2000 cm^{-1} .

significativo y se dice que es una molécula polar. El momento dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga y por la distancia entre los dos centros de carga. Cuando una molécula de ácido clorhídrico vibra, se produce una fluctuación regular en su momento dipolar y se establece un campo que puede interactuar con el campo eléctrico asociado con la radiación. Si la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural de la molécula, tiene lugar la absorción de la radiación, lo cual origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular. De manera análoga, la rotación de las moléculas asimétricas alrededor de sus centros de masa produce fluctuaciones periódicas en el momento dipolar que permiten la interacción con el campo de radiación.

Cuando se trata de especies homonucleares como O_2 , N_2 , o Cl_2 el momento dipolar no sufre un cambio neto durante la vibración o la rotación. Por consiguiente, este tipo de compuestos no absorbe radiación infrarroja. Con la excepción de algunos compuestos de este tipo, todas las demás especies moleculares absorben radiación infrarroja.

Transiciones rotacionales

La energía necesaria para provocar un cambio en los niveles rotacionales es muy pequeña y corresponde a radiaciones de $\bar{\nu} \leq 100\text{ cm}^{-1}$ ($\lambda > 100\text{ }\mu\text{m}$). Como los niveles rotacionales están cuantizados, la absorción por

los gases en la región del infrarrojo lejano se caracteriza por líneas discretas bien definidas. En líquidos o sólidos los choques e interacciones intramoleculares causan el ensanchamiento de las líneas y originan un espectro continuo.

Transiciones vibracionales/rotacionales

Los niveles de energía vibracionales también están cuantizados, y en la mayoría de las moléculas las diferencias de energía entre los estados cuantizados corresponden a la región del infrarrojo medio. Por lo general, el espectro infrarrojo de un gas consta de una serie de líneas muy próximas entre sí debido a la existencia de varios estados energéticos rotacionales para cada estado vibracional. Por otra parte, en los sólidos y en los líquidos la rotación está muy restringida; en este tipo de muestras, las líneas discretas vibracionales-rotacionales desaparecen y sólo quedan bandas vibracionales algo ensanchadas.

Tipos de vibraciones moleculares

Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no son fijas, sino que fluctúan de manera continua como consecuencia de una multitud de tipos de vibraciones y rotaciones diferentes alrededor de los enlaces en la molécula. En el caso de una molécula sencilla diatómica o triatómica es fácil definir el número y la naturaleza de dichas vibraciones, y relacionarlas con las energías de absorción. En el caso de las moléculas poliatómicas, es difícil, si no imposible, hacer un análisis de esta clase. No sólo a causa del gran número de centros de vibración que presentan las moléculas grandes,



Clases interactivas: aprenda más acerca de la absorción IR.

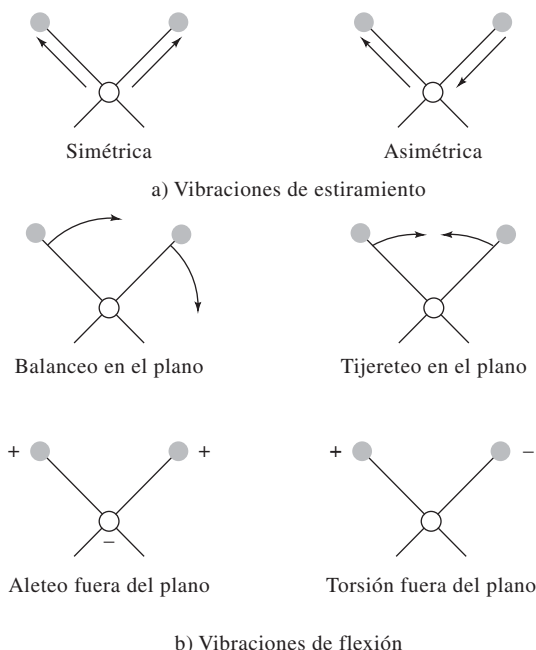


FIGURA 16.2 Tipos de vibraciones moleculares. Note que + indica un movimiento desde el plano de la página hacia el lector y - indica un movimiento desde el plano de la página alejándose del lector.

sino también por las interacciones entre varios de estos centros, lo cual se debe tener en cuenta si se desea un análisis completo.

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de estiramiento y deflexión. En una vibración de estiramiento hay un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos

átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de *tijereteo*, *balanceo*, *aleteo* y *torsión*. Los distintos tipos de vibraciones se representan en forma esquemática en la figura 16.2.

En una molécula que contiene más de dos átomos son posibles todos los tipos de vibraciones que se muestran en la figura 16.2. Además, puede producirse una interacción o acoplamiento de las vibraciones si éstas influyen sobre enlaces con un mismo átomo central. El resultado del acoplamiento es un cambio en las características de las vibraciones.

En el análisis que sigue, primero se consideran las vibraciones aisladas representadas por un modelo sencillo denominado oscilador armónico. A continuación se exponen las modificaciones de la teoría del oscilador armónico que son necesarias para describir un sistema molecular. Por último, se tratan los efectos de las interacciones vibracionales en los sistemas moleculares.

16A.2 Modelo mecánico de la vibración de estiramiento en una molécula diatómica

Las características de una vibración de estiramiento atómica se pueden representar con un modelo mecánico que consta de dos masas unidas por un resorte. La perturbación de una de estas masas a lo largo del eje del resorte produce una vibración denominada *movimiento armónico simple*.

Considere en primer lugar la vibración de una única masa unida a un resorte que cuelga de un objeto inmóvil (véase figura 16.3a). Si esta masa se desplaza una distancia y desde su posición de equilibrio cuando se

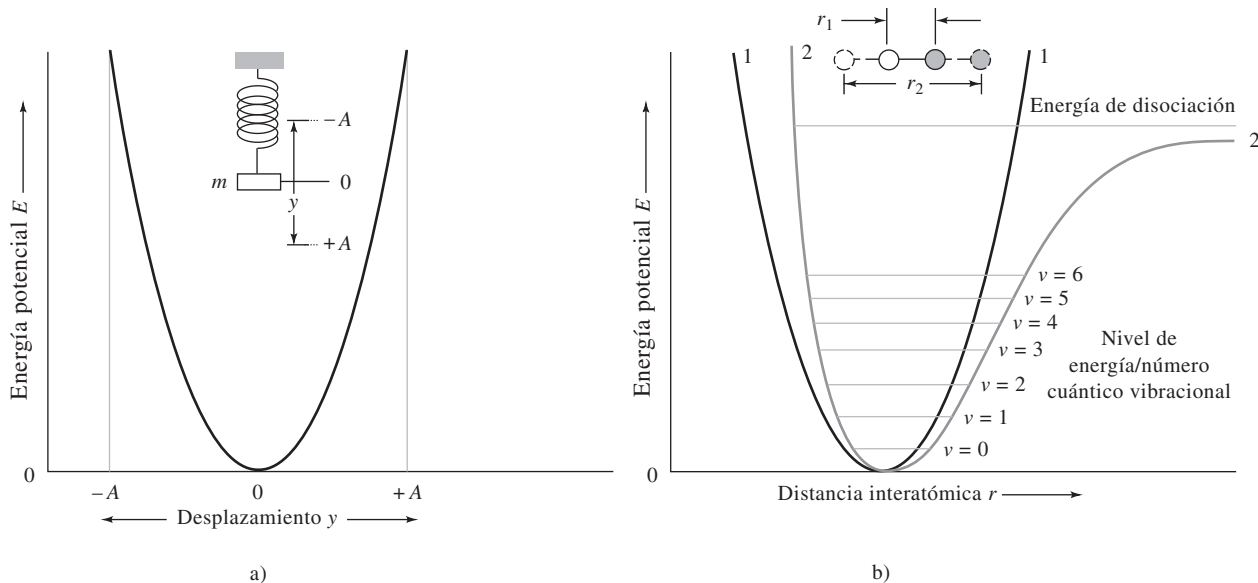


FIGURA 16.3 Diagramas de energía potencial. a) oscilador armónico. b) Curva 1, oscilador armónico; curva 2 movimiento anarmónico.

aplica una fuerza a lo largo del eje del resorte, la fuerza restauradora F es proporcional al desplazamiento (ley de Hooke). Es decir,

$$F = -ky \quad (16.2)$$

donde k es la constante de fuerza, la cual depende de la rigidez del resorte. El signo negativo indica que F es una fuerza restauradora. Esto significa que la dirección de la fuerza se opone a la dirección del desplazamiento. Por consiguiente, la fuerza tiende a regresar la masa a su posición original.

Energía potencial de un oscilador armónico

Cuando la masa se encuentra en reposo o en su posición de equilibrio, tanto a la masa como al resorte se les puede asignar de manera arbitraria un valor de energía potencial E igual a cero. Sin embargo, al comprimir o extender el resorte, la energía potencial del sistema aumenta en una cantidad igual al trabajo requerido para desplazar la masa. Por ejemplo, si la masa se desplaza de su posición y a $y + dy$, el trabajo, y por tanto, la variación de energía potencial dE es igual a la fuerza F multiplicada por la distancia dy . Entonces,

$$dE = -F dy \quad (16.3)$$

Al combinar las ecuaciones 16.3 y 16.2 se obtiene

$$dE = ky dy$$

Al integrar entre la posición de equilibrio $y = 0$ y y resulta

$$\begin{aligned} \int_0^E dE &= \int_0^y y dy \\ E &= \frac{1}{2}ky^2 \end{aligned} \quad (16.4)$$

La curva de energía potencial para una oscilación armónica simple, obtenida a partir de la ecuación 16.4, es una parábola como la que se representa en la figura 16.3a. Observe que cuando el resorte está extendido o comprimido a su máxima amplitud A , la energía potencial alcanza un máximo y disminuye a cero en la posición de equilibrio.

Frecuencia de la vibración

El movimiento de la masa en función del tiempo t se puede deducir, de acuerdo con la mecánica clásica, como sigue. La segunda ley de Newton establece que

$$F = ma$$

donde m es la masa y a su aceleración. Pero la aceleración es la segunda derivada de la distancia respecto al tiempo. Por tanto,

$$a = \frac{d^2y}{dt^2}$$

Al sustituir estas expresiones en 16.2 se obtiene

$$m \frac{d^2y}{dt^2} = -ky \quad (16.5)$$

Una solución de esta ecuación debe ser una función periódica tal que su segunda derivada sea igual a la función original multiplicada por $-k/m$. Una función coseno adecuada cumple con este requisito. Por consiguiente, el desplazamiento instantáneo de la masa en un tiempo t se puede escribir como

$$y = A \cos 2\pi\nu_m t \quad (16.6)$$

donde ν_m es la frecuencia natural de vibración y A es la amplitud máxima del movimiento. La segunda derivada de la ecuación 16.6 es

$$\frac{d^2y}{dt^2} = -4\pi^2\nu_m^2 A \cos 2\pi\nu_m t \quad (16.7)$$

Si se sustituyen las ecuaciones 16.6 y 16.7 en la ecuación 16.5 resulta

$$A \cos 2\pi\nu_m t = \frac{4\pi^2\nu_m^2 m}{k} A \cos 2\pi\nu_m t$$

La frecuencia natural de la oscilación es entonces

$$\nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (16.8)$$

donde ν_m es la frecuencia natural del oscilador mecánico. Aunque depende de la constante de fuerza del resorte y de la masa del cuerpo unido a él, la frecuencia natural es independiente de la energía que se comunica al sistema; los cambios de energía sólo hacen variar la amplitud A de la vibración.

La ecuación que se acaba de deducir se podría modificar para describir el comportamiento de un sistema que consta de dos masas m_1 y m_2 unidas por un resorte. En este caso, sólo es necesario sustituir la masa μ por la masa reducida m que vale

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (16.9)$$

Por tanto, la frecuencia vibracional para este sistema es

$$\nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}} \quad (16.10)$$

Vibraciones moleculares

Por lo regular, se plantea la aproximación de que el comportamiento de una vibración molecular es análogo al modelo mecánico que se acaba de describir. Por tanto, la frecuencia de la vibración molecular se calcula mediante la ecuación 16.10 luego de sustituir las masas m_1 y m_2 por las masas de los dos átomos. La cantidad k se convierte en la constante de fuerza del enlace químico, que es una medida de su rigidez.

16A.3 Tratamiento cuántico de las vibraciones

Las ecuaciones de la mecánica clásica que se han utilizado hasta ahora no describen por completo el comportamiento de las partículas con dimensiones atómicas. Por ejemplo, la naturaleza cuantizada de las energías vibracionales moleculares y de otras energías atómicas y moleculares no está en estas ecuaciones. Sin embargo, es posible recurrir al concepto del oscilador armónico simple para deducir las ecuaciones de onda de la mecánica cuántica. Las soluciones de estas ecuaciones para las energías potenciales tienen la forma siguiente

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16.11)$$

donde h es la constante de Planck, y ν es el *número cuántico vibracional*, que sólo puede tomar valores enteros positivos (incluso cero). Por tanto, en contraste con la mecánica clásica, en la que los osciladores pueden asumir cualquier energía potencial positiva, la mecánica cuántica establece que los osciladores sólo pueden presentar determinadas energías discretas.

Es interesante observar que el factor $\sqrt{k/\mu}/2\pi$ aparece tanto en las ecuaciones mecánicas como en las cuánticas. Al sustituir la ecuación 16.10 en la 16.11 se tiene

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h\nu_m \quad (16.12)$$

donde ν_m es la frecuencia de la vibración del modelo clásico.²

Suponga ahora que pueden producirse transiciones entre los niveles de energía vibracional por la absorción de radiación, siempre que la energía de esta última coincida exactamente con la diferencia de niveles de energía ΔE entre los estados cuánticos vibracionales y siempre que la vibración cause también una variación del momento dipolar. Esta diferencia es idéntica

para cualquier par de niveles adyacentes, puesto que ν en las ecuaciones 16.11 y 16.12 sólo puede tomar valores enteros; es decir,

$$\Delta E = h\nu_m = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16.13)$$

A temperatura ambiente, la mayoría de las moléculas se encuentra en el estado fundamental $\nu = 0$; por tanto, a partir de la ecuación 16.12,

$$E_0 = \frac{1}{2} h\nu_m$$

La promoción al primer estado excitado $\nu = 1$ con energía

$$E_1 = \frac{3}{2} h\nu_m$$

requiere radiación de energía

$$\left(\frac{3}{2} h\nu_m - \frac{1}{2} h\nu_m \right) = h\nu_m$$

La frecuencia de la radiación ν que producirá este cambio es idéntica a la frecuencia de vibración clásica del enlace ν_m . Es decir,

$$E_{\text{radiación}} = h\nu = \Delta E = h\nu_m = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

o bien

$$\nu = \nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16.14)$$

Si se desea expresar la radiación en números de onda, se sustituye en la ecuación 6.3 y se reordenan los términos:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = 5.3 \times 10^{-12} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (16.15)$$

donde $\bar{\nu}$ es el número de onda en cm^{-1} , correspondiente a un máximo de absorción, k es la constante de fuerza del enlace en newtons por metro (N/m), c es la velocidad de la luz en cm s^{-1} , y μ es la masa reducida (kg), que se define mediante la ecuación 16.9.³

Mediante mediciones en la región del infrarrojo y la ecuación 16.14 o 16.15 es posible determinar las constantes de fuerza de distintos tipos de enlaces químicos. Por lo general, se ha encontrado que k se encuentra entre 3×10^2 y 8×10^2 N/m en la mayoría de los enlaces sencillos. El valor de 5×10^2 se puede tomar como un valor medio razonable. De esta misma forma se ha establecido que los enlaces dobles y triples tienen una constante de fuerza de dos a tres veces

²Por desgracia, el símbolo más aceptado para el número cuántico vibracional ν se parece a la letra griega ν , que simboliza la frecuencia. Por tanto, hay que tener mucho cuidado para evitar confundirlos en ecuaciones como la 16.12.

³Por definición, el newton tiene unidades de $\text{N} = \text{kg m/s}^2$. Por consiguiente, $\sqrt{k/\mu}$ tiene unidades de s^{-1} .

este valor (1×10^3 y 1.5×10^3 N/m, respectivamente). Con estos valores experimentales promedio y la ecuación 16.15 se puede calcular el número de onda de la banda de absorción fundamental o la absorción causada por la transición del estado fundamental al primer estado excitado en diferentes tipos de enlaces. El ejemplo siguiente muestra este cálculo.

EJEMPLO 16.1

Calcule el número de onda y la longitud de onda aproximados de la absorción fundamental correspondiente a la vibración de estiramiento de un grupo carbonilo C=O.

Solución

La masa del átomo de carbono en kilogramos es

$$m_1 = \frac{12 \times 10^{-3} \text{ kg/mol}}{6.0 \times 10^{23} \text{ átomos/mol}} \times 1 \text{ átomo} \\ = 2.0 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

De manera análoga, para el oxígeno,

$$m_2 = (16 \times 10^{-3}) / (6.0 \times 10^{23}) = 2.7 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

y la masa reducida μ es (de acuerdo con la ecuación 16.9)

$$\mu = \frac{2.0 \times 10^{-26} \text{ kg} \times 2.7 \times 10^{-26} \text{ kg}}{(2.0 + 2.7) \times 10^{-26} \text{ kg}} \\ = 1.1 \times 10^{-26} \text{ kg}$$

Como ya se indicó antes, la constante de fuerza para el doble enlace típico es de alrededor de 1×10^3 N/m. Si se sustituye este valor y el de μ en la ecuación 16.15 se obtiene

$$\bar{\nu} = 5.3 \times 10^{-12} \text{ s/cm} \sqrt{\frac{1 \times 10^3 \text{ N/m}}{1.1 \times 10^{-26} \text{ kg}}} \\ = 1.6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$$

La banda de estiramiento del carbonilo se encuentra experimentalmente en la región de 1600 a 1800 cm^{-1} (6.3 a 5.6 μm).

Reglas de selección

Tal como se deduce de las ecuaciones 16.12 y 16.13, la energía para una transición desde el nivel de energía 1 al 2 o desde el nivel 2 al 3 debería ser idéntica a la de la transición del nivel 0 al 1. Además, la teoría cuántica establece que las únicas transiciones que pueden tener lugar son aquellas en las que el número cuántico vibracional cambia en una unidad; es decir, la denominada *regla de selección* establece que $\Delta v = \pm 1$. Dado que los

niveles vibracionales tienen separaciones iguales en el caso de un oscilador armónico, sólo se debe observar un pico sencillo de absorción para una vibración molecular determinada. Además de la regla de selección $\Delta v = \pm 1$ tiene que haber un cambio en el momento dipolar durante la vibración.

Oscilador anarmónico

Hasta ahora se ha considerado el oscilador armónico desde el punto de vista de la mecánica clásica y de la mecánica cuántica. La energía potencial de un oscilador de este tipo cambia en forma periódica a medida que fluctúa la distancia entre las masas (figura 16.3a). Sin embargo, desde un punto de vista cualitativo es evidente que se trata de una descripción imperfecta de la vibración molecular. Por ejemplo, cuando dos átomos se acercan entre sí, la repulsión electrostática entre los dos núcleos produce una fuerza que actúa en la misma dirección que la fuerza restauradora del enlace. Por esta razón, puede esperarse que la energía potencial se eleve con más rapidez que la que predice la teoría del oscilador armónico. En el otro extremo de la oscilación se produce una disminución de la fuerza restauradora, y por tanto de la energía potencial, cuando la distancia interatómica se aproxima a aquella en la cual se produce la disociación de los átomos.

En teoría, las ecuaciones de onda de la mecánica cuántica permiten deducir curvas de energía potencial más correctas para las vibraciones moleculares. Pero, por desgracia, la complejidad matemática de estas ecuaciones limita su aplicación cuantitativa tan sólo en los sistemas más sencillos. Desde un punto de vista cualitativo, las curvas toman la forma anarmónica que se muestra en la curva 2 de la figura 16.3b. Estas curvas se apartan del comportamiento armónico en distintos grados, dependiendo de la naturaleza del enlace y de los átomos. Sin embargo, observe que las curvas armónicas y anarmónicas son casi iguales para energías potenciales bajas.

La oscilación anarmónica causa desviaciones de dos clases. A números cuánticos más altos, ΔE se hace menor (véase la curva 2 en la figura 16.3b), y la regla de selección no se cumple con rigor. Como resultado, se observan algunas veces transiciones más débiles. Estas transiciones corresponden a $\Delta v = \pm 2$ o ± 3 . Las frecuencias de dichas transiciones de sobretono son aproximadamente del doble o triple de la frecuencia fundamental, y las intensidades son menores que la de la fundamental.

Los espectros vibracionales se complican todavía más por el hecho de que dos vibraciones distintas en una misma molécula pueden interactuar para dar absorciones a frecuencias que son aproximadamente la suma o la diferencia de sus frecuencias fundamentales.

Una vez más, las intensidades de estas bandas de suma y diferencia son bajas por lo general.

16A.4 Modos de vibración

De ordinario, en las moléculas sencillas, diatómicas y triatómicas, es posible deducir el número y las clases de vibraciones y si éstas causarán absorción. Las moléculas complejas pueden contener distintos tipos de átomos y enlaces. En el caso de estas moléculas, la gran cantidad de vibraciones posibles hace que los espectros de infrarrojo resulten muy difíciles de analizar.

La cantidad de vibraciones posibles en una molécula poliatómica se puede calcular como sigue. Como se necesitan tres coordenadas para localizar un punto en el espacio, para fijar N puntos se requieren tres coordenadas para cada uno, es decir, un total de $3N$. Cada coordenada corresponde a un grado de libertad para uno de los átomos en una molécula poliatómica. Por este motivo, si una molécula contiene N átomos, se dice que tiene $3N$ grados de libertad.

Para definir el movimiento de una molécula, se tiene que considerar 1) el movimiento de toda la molécula en el espacio, es decir, el movimiento de traslación de su centro de gravedad, 2) el movimiento de rotación de la molécula completa alrededor de su centro de gravedad y 3) el movimiento de cada uno de sus átomos respecto a los otros átomos, o en otras palabras, sus vibraciones individuales. Como todos los átomos de la molécula se mueven de manera acompañada por el espacio, para definir el movimiento de traslación se requiere tres coordenadas y, por consiguiente, este movimiento requiere tres grados de libertad de los $3N$. Para describir la rotación de la molécula como un todo se necesitan otros tres grados de libertad. Los restantes $3N - 6$ grados de libertad están relacionados con el movimiento interatómico y, por tanto, representan el número de vibraciones posibles en la molécula. Una molécula lineal es un caso especial, porque por definición todos los átomos se encuentran en una sola línea recta. En este caso no es posible la rotación alrededor del eje del enlace y son suficientes dos grados de libertad para describir el movimiento rotatorio. Entonces, el número de vibraciones para una molécula lineal es de $3N - 5$. Cada una de las $3N - 6$ o $3N - 5$ vibraciones se denomina un *modo normal*.

Para cada modo normal de vibración existe una relación de energía potencial tal como la que se muestra con la línea continua en la figura 16.3b. A cada una de estas relaciones se le aplican las mismas reglas de selección ya explicadas. Además, en la medida en que una vibración se aproxima al comportamiento armónico, las diferencias entre los niveles de energía de una determinada vibración son iguales; es decir, aparece un

solo pico de absorción por cada vibración en la cual hay un cambio en el momento dipolar.

Cuatro factores son los que tienden a producir menos picos de absorción experimentales que los previstos a partir del número teórico de modos normales. Se encuentra un menor número de bandas de absorción cuando 1) la simetría de las moléculas es tal que una vibración particular no produce cambios en el momento dipolar; 2) las energías de dos o más vibraciones son idénticas o casi idénticas; 3) la intensidad de absorción es tan baja que es indetectable por los medios ordinarios; o 4) la energía vibracional se encuentra en una región de longitudes de onda que está afuera del intervalo de trabajo del instrumento.

A veces se encuentran más picos de los esperados con base en el número de modos normales. Ya se mencionó la existencia de bandas de sobretonos que se presentan a frecuencias dos o tres veces mayores que la frecuencia de la fundamental. Además, en algunas ocasiones se pueden encontrar *bandas de combinación* cuando un fotón causa en forma simultánea dos modos de vibración. La frecuencia de la banda de combinación es casi la suma o la diferencia de las dos frecuencias fundamentales. Este fenómeno ocurre cuando dos enlaces, y no uno solo, absorben un cuanto de energía.

16A.5 Acoplamiento vibracional

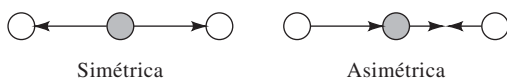
La energía de una vibración y, por consiguiente, la longitud de onda del correspondiente máximo de absorción, podrían ser afectadas por otros osciladores de la molécula o estar acoplados a ellos. Algunos factores influyen en el grado de estos acoplamientos.

1. Ocurre un fuerte acoplamiento entre vibraciones de estiramiento sólo cuando hay un átomo común en las dos vibraciones.
2. La interacción entre las vibraciones de flexión requiere un enlace común entre los grupos que vibran.
3. El acoplamiento entre una vibración de estiramiento y una vibración de flexión puede ocurrir si el enlace que sufre el estiramiento forma uno de los lados del ángulo que varía en la vibración de flexión.
4. La mayor interacción tiene lugar cuando las energías individuales de los grupos acoplados son aproximadamente iguales.
5. Se observa poca o ninguna interacción entre grupos separados por dos o más enlaces.
6. El acoplamiento requiere que las vibraciones sean de especies de la misma simetría.⁴

⁴Para un estudio de las operaciones de simetría y de las especies simétricas véase F. A. Cotton, *Chemical Applications of Group Theory*, 3a. ed., Nueva York: Wiley 1990; R. S. Drago, *Physical Methods for Chemists*, 2a. ed., Filadelfia: Saunders, 1992.

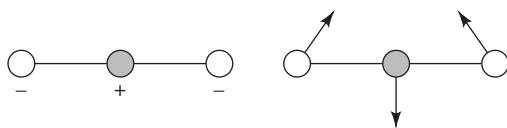
Como ejemplo de los efectos del acoplamiento, consideremos el espectro infrarrojo del dióxido de carbono. Si no hubiera acoplamiento entre los dos enlaces C=O cabría esperar una banda de absorción con el mismo número de onda que el pico de vibración de estiramiento C=O de una cetona alifática (alrededor de 1700 cm^{-1} , o $6\text{ }\mu\text{m}$; véase el ejemplo 16.1). El dióxido de carbono presenta experimentalmente dos picos de absorción, uno de ellos a 2350 cm^{-1} ($4.3\text{ }\mu\text{m}$) y el otro a 667 cm^{-1} ($15\text{ }\mu\text{m}$).

El dióxido de carbono es una molécula lineal y por tanto tiene $(3 \times 3) - 5 = 4$ modos normales de vibración. Pueden darse dos vibraciones de estiramiento; además, puede haber interacción entre ellas porque los enlaces tienen un átomo de carbono común. Como puede verse, una de las vibraciones es simétrica y la otra es asimétrica.



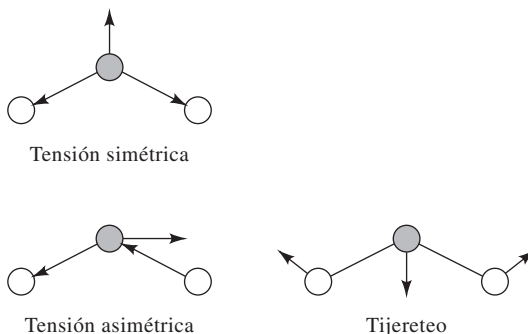
La vibración simétrica no causa cambio alguno en el momento dipolar, porque los dos átomos de oxígeno se mueven en forma simultánea alejándose o acercándose del átomo de carbono central. Entonces, la vibración simétrica es inactiva en el infrarrojo. En la vibración asimétrica, un oxígeno se aleja del átomo de carbono a la vez que éste se acerca al otro oxígeno. Como consecuencia, hay un cambio neto periódico en la distribución de carga que produce un cambio en el momento dipolar, lo cual da como resultado una absorción a 2350 cm^{-1} .

Los otros dos modos de vibración del dióxido de carbono son de tijereteo, tal como se ilustra a continuación.



Las dos vibraciones de flexión son los componentes resultantes, perpendiculares entre sí, de los movimientos de flexión en todos los planos posibles alrededor del eje del enlace. Las dos vibraciones son idénticas en energía y, por tanto, producen una banda única a 667 cm^{-1} . De los estados cuánticos idénticos, como en este caso, se dice que son *degenerados*.

Es interesante comparar el espectro del dióxido de carbono con el de una molécula no lineal, triatómica, como la del agua, el dióxido de azufre o el dióxido de nitrógeno. Estas moléculas tienen $(3 \times 3) - 6 = 3$ modos de vibración con las siguientes características:



Debido a que el átomo central no está en línea con los otros dos, una vibración de estiramiento simétrico produce un cambio en el momento dipolar y, por consiguiente, es activo en el infrarrojo. Por ejemplo, los picos de estiramiento a 3657 y 3766 cm^{-1} (2.74 y $2.66\text{ }\mu\text{m}$) aparecen en el espectro IR de las vibraciones simétricas y asimétricas de la molécula del agua. Para esta molécula no lineal sólo existe un componente de la vibración de tijereteo, porque el movimiento en el plano de la molécula constituye un grado de libertad rotacional. Por lo que se refiere al agua, la vibración de flexión origina una absorción a 1595 cm^{-1} ($6.27\text{ }\mu\text{m}$). El distinto comportamiento de las moléculas triatómicas lineales y no lineales con dos y tres bandas de absorción, respectivamente, ilustra cómo, a veces, puede usarse la espectroscopía de absorción en el infrarrojo para deducir la forma de una molécula.

El acoplamiento de vibraciones es un fenómeno común. Como resultado del mismo, no puede especificarse con exactitud la posición de una banda de absorción correspondiente a un grupo funcional orgánico determinado. Por ejemplo, la frecuencia de estiramiento C—O del metanol es de 1034 cm^{-1} ($9.67\text{ }\mu\text{m}$), en el etanol es 1053 cm^{-1} ($9.50\text{ }\mu\text{m}$), y en el 2-butanol es 1105 cm^{-1} ($9.05\text{ }\mu\text{m}$). Estas variaciones son el resultado del acoplamiento de la vibración de estiramiento C—O con las vibraciones de estiramiento adyacentes C—C o C—H.

Los efectos de la interacción pueden llevar a incertidumbres en la identificación de los grupos funcionales de un compuesto, pero es este mismo efecto el que confiere a un espectro infrarrojo sus características únicas que son tan importantes para la identificación definitiva de un compuesto determinado.

16B INSTRUMENTOS PARA EL INFRARROJO

Hay tres tipos de instrumentos para la medición de la absorción en el infrarrojo: 1) espectrofotómetros dispersivos con monocromador de red, 2) espectrómetros de transformada de Fourier con interferómetro (sección 7I) y 3) fotómetros no dispersivos equipados con

un filtro o un gas absorbente que se usan para analizar gases atmosféricos a longitudes de onda determinadas.

En los años ochenta los instrumentos que más se usaron para mediciones en el infrarrojo fueron los espectrofotómetros dispersivos. En la actualidad, dichos aparatos ya fueron desplazados por espectrómetros de transformada de Fourier para efectuar mediciones en el infrarrojo mediano y lejano, debido a su velocidad, confiabilidad, ventaja en la relación señal-ruido y comodidad. Los espectrómetros dispersivos todavía se utilizan en el infrarrojo cercano y por lo general son extensiones de los instrumentos UV-visible, pero muchos de los instrumentos específicos para el infrarrojo cercano son del tipo de transformada de Fourier.

16B.1 Espectrómetros de transformada de Fourier

En la sección 7I se tratan con cierto detalle las bases teóricas y las ventajas inherentes de los instrumentos de transformada de Fourier y de otros instrumentos multiplex, por lo que, antes de continuar, puede ser útil para el lector revisar dicha sección. Para la región del infrarrojo se han descrito dos tipos de instrumentos multiplex. En el espectrómetro de transformada de Fourier, la codificación se consigue dividiendo la fuente en dos haces cuya longitud de trayectoria puede variar en forma periódica para dar patrones de interferencia. La transformada de Fourier se utiliza para trabajar con los datos.⁵ El segundo tipo es el espectrómetro de transformada de Hadamard, que es un instrumento dispersivo que emplea una plantilla móvil en el plano focal del monocromador para codificar los datos espectrales. Los instrumentos de infrarrojo de transformada de Hadamard tienen poca aceptación, por lo que no se tratan en este texto.⁶

Cuando los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier aparecieron por primera vez en el mercado, eran voluminosos, caros (>100 000 dólares) y requerían frecuentes ajustes mecánicos. Por estas razones, su uso se limitó a aplicaciones especiales en las que sus características únicas (rapidez, alta resolución, sensibilidad, y una precisión y exactitud de la longitud de onda inmejorables) eran esenciales. En la actualidad, los instrumentos de transformada de Fourier han reducido su tamaño de manera que se

pueden colocar sobre una mesa, y se han convertido en equipos confiables y de fácil mantenimiento. Además, el precio de los modelos más sencillos ha disminuido hasta el punto en que ya compiten con todos los instrumentos dispersivos, excepto los más sencillos (~\$15 000 dólares y más). Por estas razones, los instrumentos de transformada de Fourier están desplazando del laboratorio a los instrumentos dispersivos.⁷

Componentes de los instrumentos de transformada de Fourier

La mayoría de los instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier que hay en el comercio se basan en el interferómetro de Michelson, aunque también hay otros tipos de sistemas ópticos. Se considerará sólo el diseño de Michelson, que se ilustra en la figura 7.43.⁸

Mecanismo de activación. Para obtener interferogramas satisfactorios y, por tanto, espectros satisfactorios, es necesario que la velocidad del espejo móvil sea constante y que su posición se conozca con exactitud en cualquier instante. También debe permanecer constante el plano del espejo a lo largo de todo el recorrido de 10 cm o más.

En la región del infrarrojo lejano, donde las longitudes de onda van de 50 a 1000 μm (de 200 a 10 cm^{-1}), se pueden tener desplazamientos del espejo de fracciones de longitud de onda y la medida exacta de su posición mediante un tornillo micrométrico accionado con un motor. Para las regiones del infrarrojo medio y cercano se requieren mecanismos más precisos y complicados. En este caso, el soporte del espejo está suspendido sobre cojinetes de aire sujetos a unos manguitos de acero inoxidable muy ajustados (véase figura 16.4). Este montaje se acciona por medio de un motor de accionamiento lineal y una bobina electromagnética semejante a la de un altavoz; una corriente creciente de la bobina mueve al espejo a una velocidad constante. Al alcanzar el extremo final, el espejo regresa con rapidez al punto de partida para el próximo barrido mediante una rápida inversión de la corriente. La longitud del recorrido varía de 1 a 20 cm y las velocidades de barrido oscilan de 0.01 a 10 cm/s .

Para que el sistema del espejo funcione en forma satisfactoria se requieren dos características adicionales. La primera es que el sistema pueda tomar muestras del interferograma a intervalos de retraso exactamente definidos. La segunda es un método para determinar

⁵Para un estudio detallado de la espectroscopía de infrarrojo de transformada de Fourier, véase S. Davis, M. Abrams, J. Brault, *Fourier Transform Spectrometry*, San Diego: Academic Press, 2001; B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1996; P. R. Griffiths y J. A. deHaseth, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1986.

⁶Para una descripción de la transformada de Hadamard y de la espectroscopía de transformada de Hadamard, véase D. K. Graff, *J. Chem. Educ.*, **1995**, 72, p. 304; *Fourier, Hadamard, and Hilbert Transforms in Chemistry*, A. G. Marshall, ed., Nueva York: Plenum Press, 1982.

⁷Para tener un panorama de los espectrómetros IR de transformada de Fourier comerciales véase J. P. Smith y V. Hinson-Smith, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 37A.

⁸El interferómetro de Michelson fue diseñado y construido en 1891 por A. A. Michelson, quien fue galardonado con el Premio Nobel de Física en 1907 por la formulación de la interferometría.

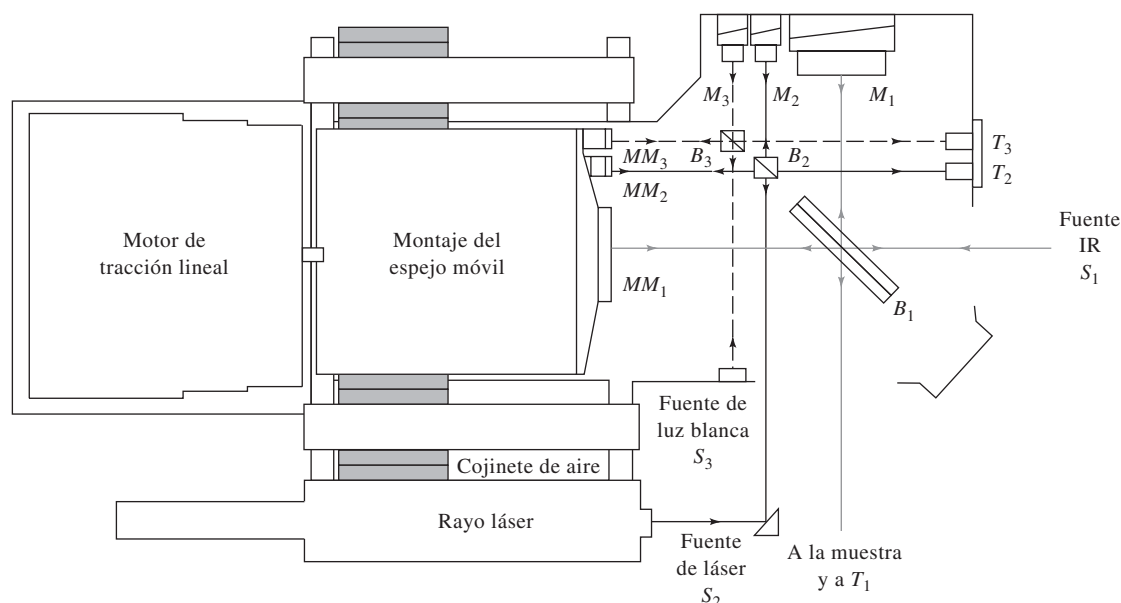


FIGURA 16.4 Interferómetros en un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier. Los subíndices 1 indican la trayectoria de la radiación en el interferómetro de infrarrojo. Los subíndices 2 y 3 se refieren a los interferómetros de láser y de luz blanca respectivamente. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Franklin, MA.)

con exactitud el punto de retraso cero para facilitar el promedio de las señales. Si no se conoce con exactitud este punto, las señales de los barridos repetidos no estarán en fase; el promedio tiende a degradar la señal en lugar de mejorarla.

El problema de la toma de muestras precisa de la señal y de su promedio puede resolverse usando dos o tres interferómetros en vez de uno y con un único montaje para espejos que sostiene los tres espejos móviles. En la figura 16.4 se muestra un esquema de esta configuración. Los componentes y las trayectorias de la radiación para cada uno de los tres sistemas interferométricos se indican respectivamente con los subíndices 1, 2 y 3. El sistema 1 es el sistema infrarrojo que proporciona en última instancia un interferograma semejante al que se muestra en la curva A de la figura 16.5. El sistema 2, también denominado sistema de referencia de franjas láser, proporciona la información del intervalo de muestreo. Dicho sistema consta de un láser de helio/neón S_2 , un sistema interferométrico con los espejos MM_2 y M_2 , un divisor del haz B_2 y un transductor T_2 . La señal de salida de este sistema es una onda coseno, como se indica en la parte C de la figura 16.5. Esta señal se convierte electrónicamente en la onda de forma cuadrada que se muestra en D; el muestreo comienza y termina en cada cruce sucesivo con el cero. El sistema de referencia de franjas láser proporciona intervalos de muestreo muy reproducibles y con separación regular. En la mayoría de los instrumentos, la señal del rayo láser se utiliza también

para mantener constante la velocidad del sistema que acciona los espejos.

El tercer sistema interferométrico, a veces llamado sistema de luz blanca, emplea una fuente de tungsteno S_3 y un transductor T_3 sensible a la radiación visible. Su sistema de espejo se fija de modo que se produzca un retraso cero desplazado hacia la izquierda respecto al de la señal analítica (véase el interferograma B, figura 16.5). Como la fuente es policromática, su potencia cuando el retraso es cero es mucho mayor que cualquier señal anterior y posterior a ese punto. Por consiguiente, se puede utilizar este máximo para activar el inicio de la toma de muestras de los datos para cada barrido en un punto altamente reproducible.

El sistema de tres interferómetros apenas descrito permite una notable precisión al determinar las frecuencias espectrales y supera con mucho la que se consigue con los instrumentos de red ordinarios. Esta elevada reproductibilidad es importante sobre todo cuando se tiene que promediar muchos barridos. En la actualidad existen instrumentos como el que se muestra en la figura 16.6 que son capaces de dar una excelente precisión en las frecuencias con uno o dos interferómetros. En el caso del instrumento cuyo esquema se observa en la figura 16.7, el interferómetro está compuesto en realidad con dos interferómetros paralelos, a saber, uno que modula la radiación IR desde la fuente antes de que pase por la muestra y otro que modula la luz roja del rayo láser de He-Ne para proporcionar la señal de referencia y reunir los datos

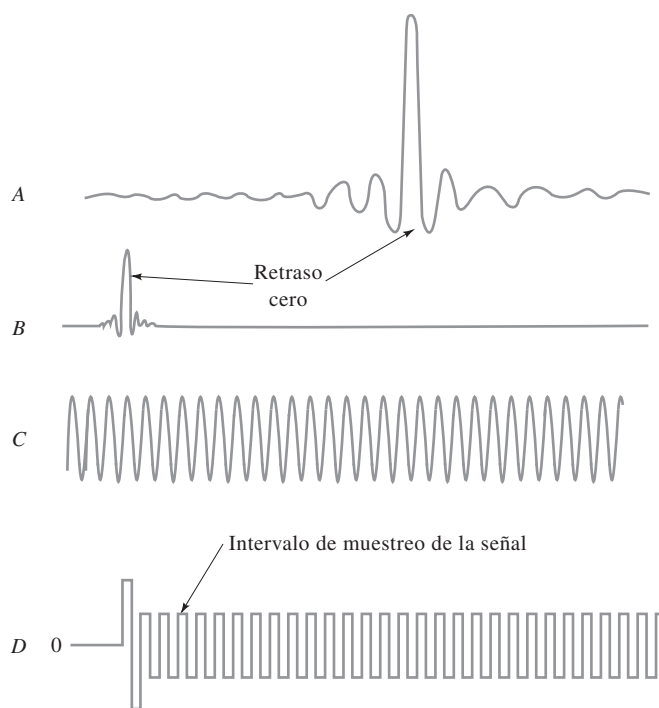


FIGURA 16.5 Señales en el dominio del tiempo para los tres interferómetros con los que vienen equipados muchos instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier. Curva *A*, señal de infrarrojo; curva *B*, señal de luz blanca; curva *C*, señal de referencia de la franja láser; curva *D*, señal eléctrica de onda cuadrada obtenida a partir de la señal del rayo láser. (Tomado de P. R. Griffiths, *Chemical Infrared Fourier Transform Spectroscopy*, p. 102, Nueva York: Wiley, 1975. Reproducido con autorización.)

procedentes del detector de IR. No se utiliza fuente de luz blanca, y el interferograma de IR se usa para establecer el retraso cero. El máximo en el interferograma de infrarrojo es una referencia excelente debido a que es el único punto donde todas las longitudes de onda interfieren en forma constructiva.

El instrumento que se muestra en la figura 16.6 se puede colocar sobre una mesa y es capaz de propor-



FIGURA 16.6 Fotografía de un espectrómetro sencillo IR de transformada de Fourier que se puede colocar sobre una mesa, por lo que es adecuado para estudiantes. Los espectros se registran en tan sólo unos segundos y se despliegan sobre la pantalla de cristal líquido para observarlos e interpretarlos. Los espectros se pueden almacenar en una tarjeta de memoria para examinarlos y analizarlos después, pero también se pueden imprimir. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Madison, WI.)

cionar espectros con una resolución aproximada de 4 cm^{-1} . Para obtener resoluciones por debajo de $\sim 0.01\text{ cm}^{-1}$, se necesita un sistema más complejo con el fin de mantener la alineación del espejo móvil. Uno de los sistemas para alinear el espejo utiliza tres sistemas de referencia con franja láser, los cuales se dirigen a puntos distintos sobre el espejo móvil en lugar de uno solo. Puesto que tres puntos definen un plano, el uso de los tres rayos láser aumenta de manera significativa la exactitud con la que se conoce la posición y la orientación del espejo móvil en cada instante.

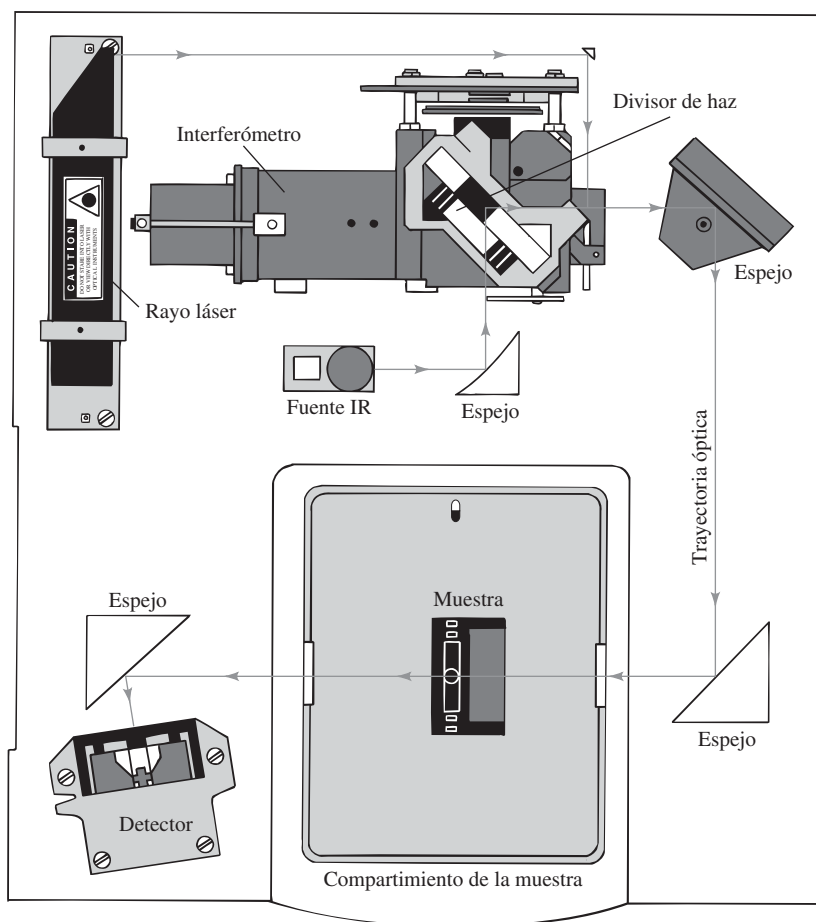
Diseños de instrumentos

Los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier son instrumentos de un solo haz o de doble haz. En la figura 16.8 se muestran los componentes ópticos de un espectrómetro de un solo haz, cuyo precio varía entre 15 000 y 200 000 dólares. Un procedimiento característico para determinar la transmitancia o la absorbancia con este tipo de instrumento consiste, en primer lugar, en obtener un interferograma de referencia mediante barridos de una referencia (por lo general, aire) 20 o 30 veces, acumular los datos y almacenar los resultados en la memoria de la computadora del instrumento (casi siempre, después de convertirlos en el espectro). A continuación se coloca la muestra en la trayectoria de la radiación y se repite el proceso. Se



Simulación: aprenda más acerca de los **instrumentos para IR**.

FIGURA 16.7 Diagrama de un espectrómetro básico de IR de transformada de Fourier. La radiación en todas las frecuencias procedente de la fuente IR se refleja en el interferómetro, donde es modulada por el espejo móvil de la izquierda. Luego, la radiación modulada se refleja desde los dos espejos de la derecha a través de la muestra en el compartimiento que está en la parte inferior. Después de que atraviesa la muestra, la radiación llega al transductor. Un sistema de adquisición de datos que está conectado al transductor registra la señal y la almacena en la memoria de una computadora en forma de interferograma. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Franklin, MA.)



calcula entonces la relación entre los datos espectrales de la muestra y la referencia, y se obtiene la transmitancia a distintas frecuencias. Con esta relación se calcula la absorbancia en función del número de onda. De ordinario, las fuentes y detectores modernos tienen la estabilidad suficiente como para que los espectros de referencia se tengan que obtener sólo en forma ocasional.

En la figura 16.9 se ilustra un espectrómetro de doble haz. Los espejos que dirigen el haz del interferómetro a través de la muestra y de las celdas de referencia oscilan rápidamente en comparación con el movimiento del espejo del interferómetro, de modo que la información de la muestra y de la referencia se puede obtener en cada una de las posiciones del espejo. El diseño de doble haz compensa las derivas de la fuente y del detector.

Características de funcionamiento de los instrumentos comerciales

Algunos fabricantes ofrecen varios modelos de instrumentos de infrarrojo de transformada de Fourier. El

más barato tiene un intervalo de trabajo de 7800 a 350 cm^{-1} (de 1.3 a $29\text{ }\mu\text{m}$) con una resolución de 4 cm^{-1} . Este rendimiento se logra con un tiempo de barrido de tan sólo un segundo. Los instrumentos más caros, con divisores de haz, fuentes y transductores intercambiables ofrecen intervalos de frecuencia más amplios y mayores resoluciones. Por ejemplo, existe un instrumento que produce espectros desde el infrarrojo lejano (10 cm^{-1} o $1000\text{ }\mu\text{m}$) a través de la región visible hasta $50\,000\text{ cm}^{-1}$, es decir, 200 nm . En los instrumentos comerciales las resoluciones varían desde 8 hasta menos de 0.01 cm^{-1} . Se necesitan varios minutos para obtener un espectro completo a la resolución más alta.⁹

Ventajas de los espectrómetros de transformada de Fourier

Los instrumentos de transformada de Fourier, en la mayor parte del intervalo espectral infrarrojo medio, presentan una relación señal-ruido mejor que la de los instrumentos dispersivos de buena calidad en más de

⁹D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 381A.

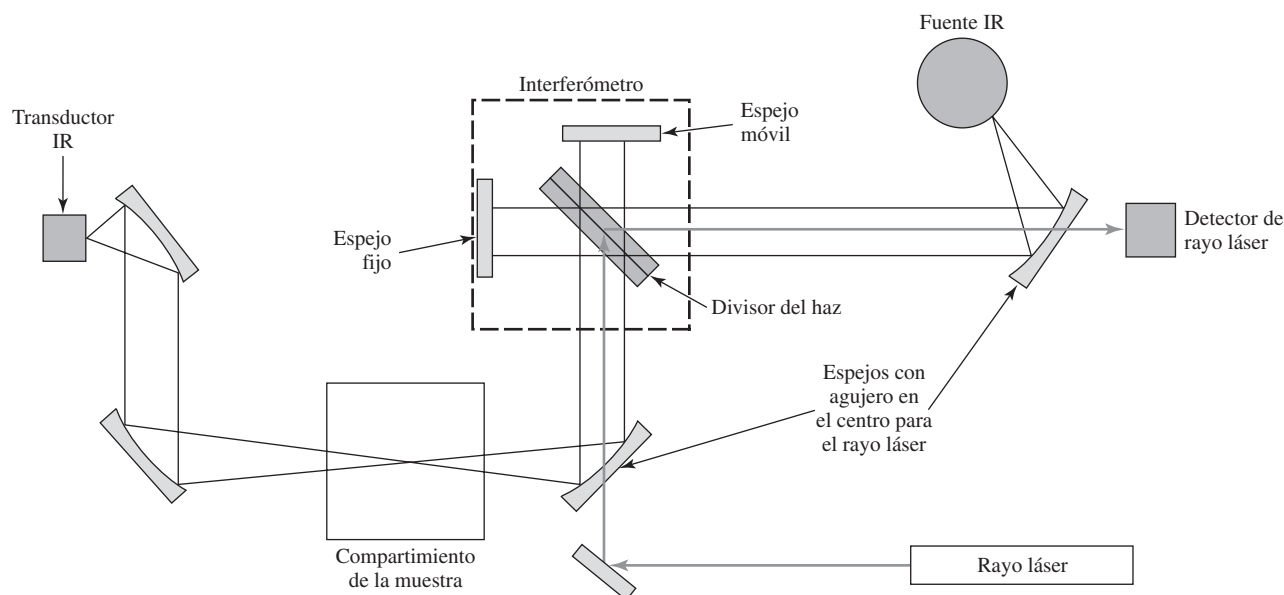


FIGURA 16.8 Espectrómetro de un solo haz de IR de transformada de Fourier. En una rama del interferómetro, la radiación de la fuente IR pasa por el divisor de haz y llega hasta el espejo fijo, regresa al divisor de haz y atraviesa la muestra para llegar al transductor de IR. En la otra rama, la radiación de la fuente IR viaja al divisor del haz, se refleja en el espejo móvil y regresa por el divisor de haces hasta la muestra y llega al transductor. Cuando los dos rayos se encuentran de nuevo en el divisor de haces, tienen la aptitud de interferir uno con el otro si la diferencia de fase es apropiada (diferencia de la trayectoria). El interferograma es una gráfica de la señal contra el desplazamiento del espejo que contiene información respecto a todas las frecuencias presentes. El espectro, intensidad contra número de onda, es la transformada de Fourier del interferograma. Se puede calcular mediante una computadora a partir de la señal contra el desplazamiento del espejo. Un compartimiento para la muestra vacío permite calcular el espectro de referencia. Luego se coloca la muestra en el compartimiento y se obtiene su espectro. Luego se determina la absorbancia a cada número de onda a partir de la relación entre la intensidad de la muestra y la intensidad de referencia.

un orden de magnitud. Por supuesto, la relación señal-ruido mejorada puede intercambiarse por un barrido rápido, pudiéndose obtener, en la mayoría de los casos, buenos espectros en pocos segundos. Los instrumentos interferométricos también se caracterizan por sus altas resoluciones ($<0.1 \text{ cm}^{-1}$) y por sus determinaciones muy exactas y de frecuencia reproducible. Esta última propiedad es útil sobre todo cuando se restan los espectros para las correcciones del fondo.

Una ventaja teórica de los instrumentos de transformada de Fourier es que sus piezas ópticas proporcionan un rendimiento energético mucho mayor, de uno o dos órdenes de magnitud, que los instrumentos dispersivos, en los cuales el rendimiento está limitado por la necesidad de usar rendijas angostas. Sin embargo, esta ganancia potencial se compensa en forma parcial por la sensibilidad menor de los detectores de respuesta rápida que se requieren para las medidas interferométricas. Por último, se debe subrayar que el

interferómetro carece del problema de la radiación parásita porque, de hecho, cada frecuencia del infrarrojo se trocea a una frecuencia diferente.

Entre las áreas de la química en las que las características adicionales de los instrumentos interferométricos son útiles están 1) trabajos que requieren muy alta resolución, por ejemplo los que corresponden a mezclas de gases cuyo espectro es complejo a consecuencia de la superposición de las bandas vibracionales y rotacionales; 2) estudio de muestras cuya absorbancia es elevada; 3) estudio de sustancias con bandas de absorción débiles, por ejemplo, el estudio de compuestos que son absorbidos químicamente por la superficie de los catalizadores; 4) investigaciones que requieren barridos rápidos como los estudios cinéticos, o la detección de los efluentes cromatográficos; 5) obtención de datos de infrarrojo con muestras muy pequeñas; 6) obtención de espectros de reflexión y 7) estudios de emisión en el infrarrojo.

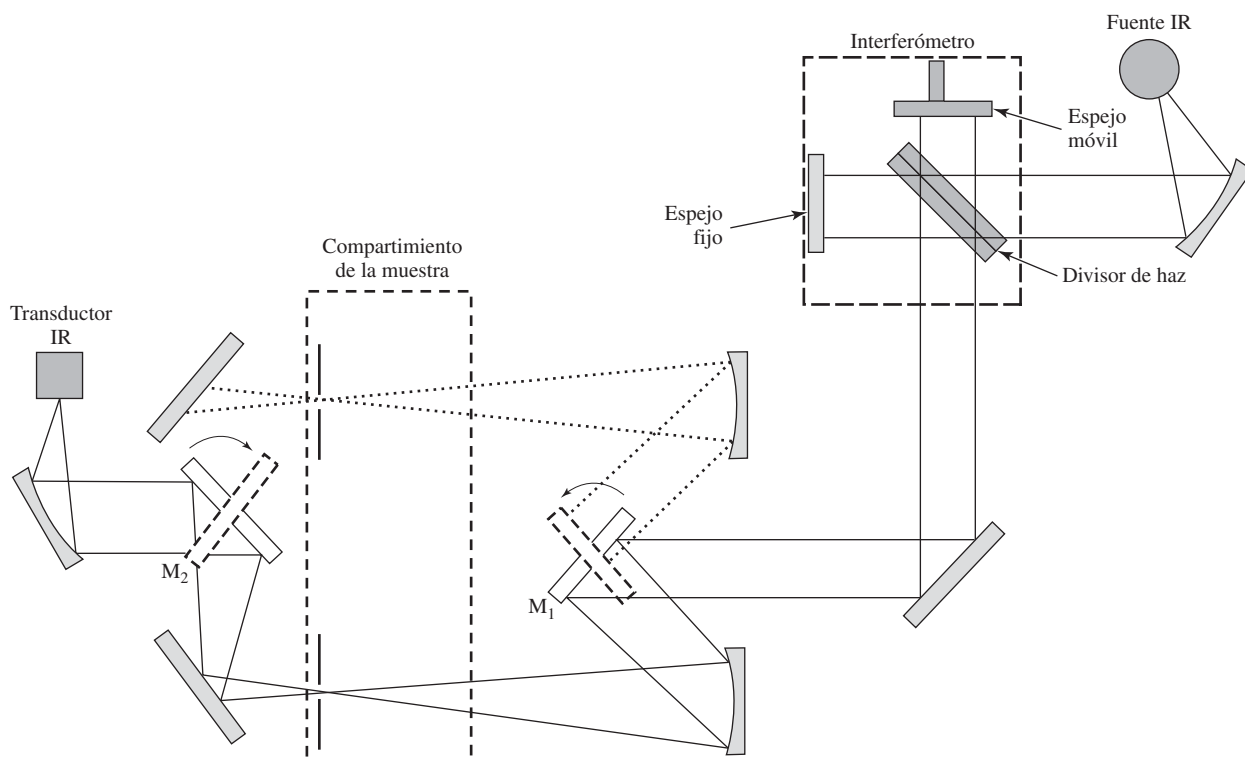


FIGURA 16.9 Espectrómetro de IR de transformada de Fourier de doble haz. El rayo que sale del interferómetro choca contra el espejo M_1 , el cual en una posición dirige el haz a través de la celda de referencia, y en la otra posición lo dirige a través de la celda de la muestra. El espejo M_2 , que está sincronizado con M_1 , dirige de manera alternada el haz de referencia y el haz de la muestra hacia el transductor.

16B.2 Instrumentos dispersivos

Aunque la mayor parte de los instrumentos que se fabrican en la actualidad son sistemas de transformada de Fourier, todavía se ven en los laboratorios muchos espectrofotómetros dispersivos. En general, los espectrofotómetros de infrarrojo dispersivos son de doble haz, con registradores, que utilizan redes de reflexión para dispersar la radiación. Tal como se subraya en la sección 13D.2, el diseño de doble haz es menos exigente respecto al funcionamiento de las fuentes y detectores, lo que es una característica importante debido a la intensidad relativamente baja de las fuentes de infrarrojo, la baja sensibilidad de los transductores de infrarrojo y la consecuente necesidad de amplificar mucho la señal (véase sección 16C).

En la figura 16.10 se ilustra una razón adicional para usar en forma generalizada los instrumentos de doble haz en la región del infrarrojo. La curva inferior pone de manifiesto que el agua y el dióxido de carbono atmosféricos absorben radiación en algunas regiones espectrales importantes, lo que puede ocasionar graves

problemas de interferencia. La curva superior muestra que el haz de referencia compensa casi perfectamente la absorción de ambos compuestos. El resultado es una línea de referencia estable a 100% de T .

Por lo general, los espectrofotómetros de infrarrojo dispersivos están equipados con un trocador de baja frecuencia (de 5 a 30 ciclos por segundo), que permite al detector discriminar entre la señal de la fuente y las señales de radiación extraña, como la emisión de radiación infrarroja de los distintos objetos que rodean al transductor. Debido a los tiempos de respuesta lentos de los transductores de infrarrojo que se utilizan en la mayoría de los instrumentos dispersivos, se requieren velocidades bajas del trocador. En general, los diseños ópticos de los instrumentos dispersivos no difieren demasiado de los espectrofotómetros ultravioleta/visible de doble haz que se estudian en el capítulo anterior, excepto que en los instrumentos de infrarrojo los compartimientos de la muestra y de la referencia se colocan siempre entre la fuente y el monocromador. Esta disposición es posible porque la radiación infrarroja, a diferencia de la radiación ultravioleta-visible,

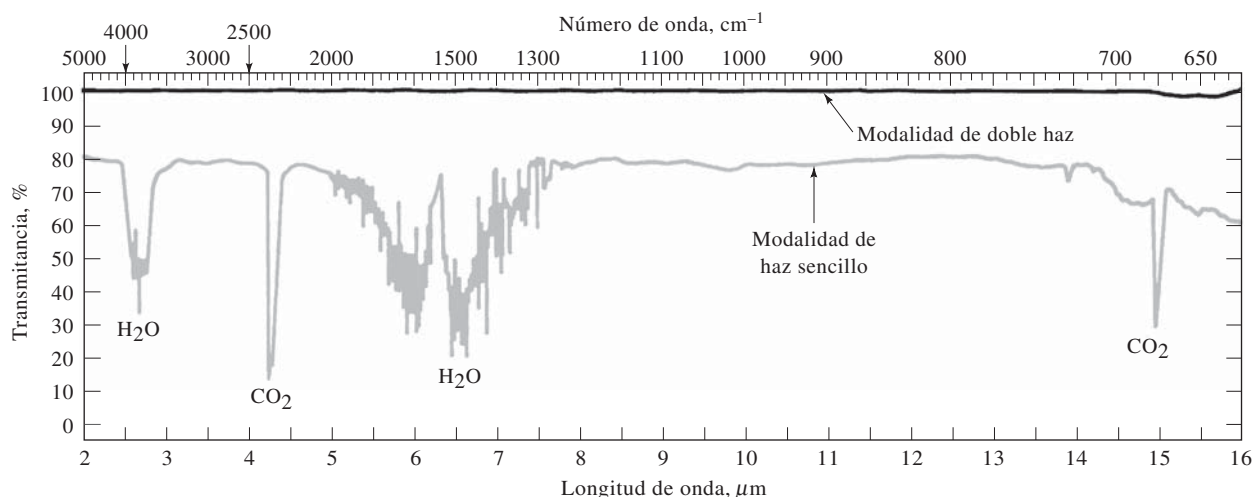


FIGURA 16.10 Espectros de vapor de agua y CO_2 , atmosféricos obtenidos con instrumentos de haz sencillo y de doble haz. En la parte inferior, la señal de un solo haz, es evidente la absorción de gases atmosféricos. En la parte superior, la señal de doble haz muestra cómo el haz de referencia compensa en forma casi perfecta esta absorción y permite obtener una línea base estable 100% de T . (Tomado de J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, p. 409, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988. Con autorización.)

no es suficientemente energética para ocasionar descomposición fotoquímica de la muestra. No obstante, al colocar la muestra y la referencia antes del monocromador se tiene la ventaja de que la mayor parte de la radiación dispersada y la emisión IR, que se genera dentro del compartimiento de la celda, es eliminada por el monocromador de manera eficaz, y, por consiguiente, no llega al transductor.

En la figura 16.11 se muestra un esquema de la disposición de los componentes en un espectrofotómetro infrarrojo característico. Como la mayoría de los instrumentos de infrarrojo dispersivos baratos es de tipo óptico nulo, en el cual la potencia radiante del haz de referencia se reduce o atenúa para que corresponda a la del haz que atraviesa la muestra. La atenuación se logra con la instalación de un dispositivo que elimina

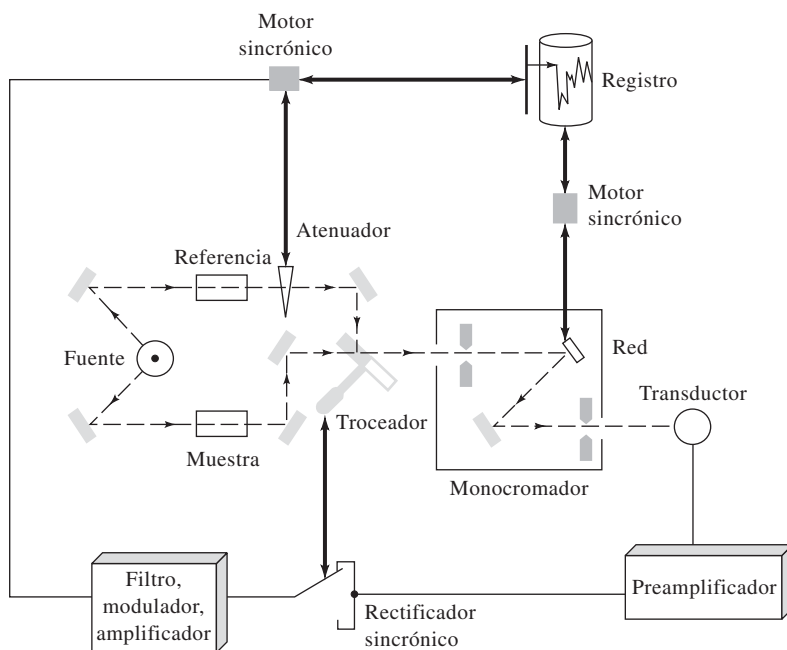


FIGURA 16.11 Esquema de un espectrofotómetro IR dispersivo de doble haz. Las líneas oscuras indican una conexión mecánica y las líneas delgadas señalan una conexión eléctrica. La trayectoria de la radiación se indica mediante líneas discontinuas.

en forma continua una fracción variable del haz de referencia. Por lo común, el atenuador tiene la forma de un peine cuyas púas se afilan para que haya una relación lineal entre el movimiento lateral del peine y la disminución de la potencia del haz. El movimiento del peine ocurre cuando el sistema de detección percibe una diferencia en la potencia de los dos haces. La mayoría de los instrumentos IR dispersivos son antiguos, por lo que están equipados con registradores mecánicos en lugar de computadoras. Por lo que se refiere a dichos instrumentos, el movimiento del peine está sincronizado con la punta del registrador de modo que su posición da una medida de la potencia relativa de los dos haces y, por consiguiente, de la transmitancia de la muestra.

Tenga en cuenta que hay tres tipos de sistemas de conexión entre los componentes del instrumento de la figura 16.11: 1) una conexión por radiación, indicada con líneas discontinuas; 2) una conexión mecánica, representada por líneas oscuras y gruesas, y 3) una conexión eléctrica, indicada por líneas continuas estrechas.

La radiación que procede de la fuente se divide en dos haces, a saber, la mitad atraviesa el compartimiento de la celda de la muestra y la otra mitad la zona de la referencia. El haz de referencia pasa luego por el atenuador y se dirige hacia un troceador. Éste consta de un disco accionado por un motor que refleja de manera alternada el haz de referencia o transmite el haz que proviene de la muestra hacia el monocromador. Después de la dispersión gracias a un prisma o una red, los haces alternados llegan al transductor y son transformados en una señal eléctrica. La señal se amplifica

y pasa al rectificador sincrónico, un dispositivo que está acoplado mecánica o eléctricamente al troceador para hacer que el interruptor del rectificador y el haz que sale del troceador cambien de manera simultánea. Si los dos haces tienen la misma potencia, la señal procedente del rectificador es una corriente continua constante. Por el contrario, si la potencia de los dos haces difiere, se produce una corriente alterna o fluctuante, cuya fase está determinada por el haz más intenso. La corriente que procede del rectificador se filtra y amplifica aún más para impulsar un motor sincrónico en una dirección u otra, lo que depende de la fase de la corriente de entrada. El motor sincrónico está conectado mecánicamente tanto al atenuador como a la punta del registrador, y hace que ambos se muevan hasta que se alcanza el punto nulo. Un segundo motor sincrónico mueve el papel y varía también de manera simultánea la longitud de onda. Con frecuencia, una conexión mecánica entre los sistemas que controlan la longitud de onda y la rendija, modifican la anchura de esta última de modo que la potencia radiante que llega al detector se mantenga aproximadamente constante.

Un sistema atenuador del haz de referencia, como el que se acaba de describir, es el origen de tres limitaciones en el funcionamiento de los instrumentos de infrarrojo dispersivos. Primera, la respuesta del atenuador siempre se retrasa respecto a los cambios de transmitancia, en especial en las regiones de barrido donde la señal cambia con rapidez. Segunda, la cantidad de movimiento asociada con el atenuador mecánico y el sistema de registro podría originar que el movimiento de la pluma del registrador dé un valor de transmitancia que se salga de la escala. Tercera, en las

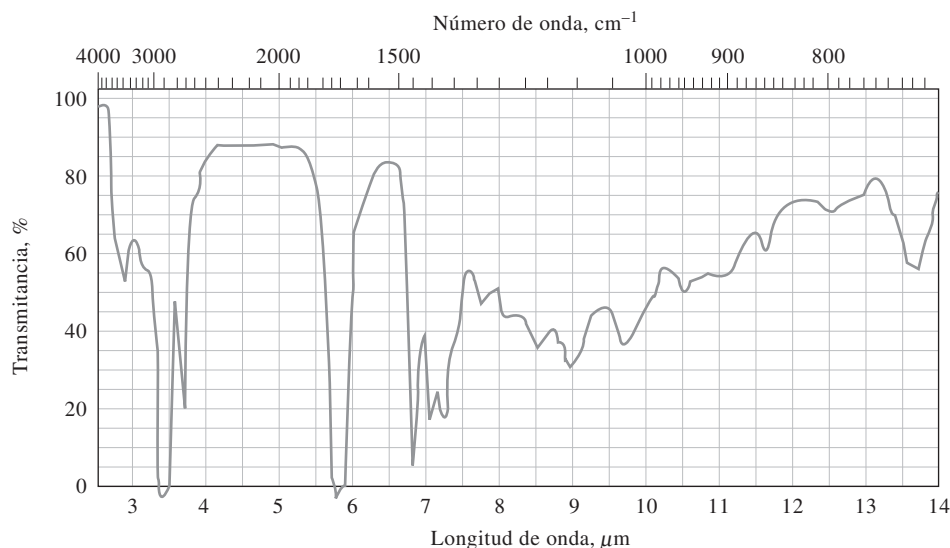


FIGURA 16.12 Espectro infrarrojo del *n*-hexanal que ilustra el registro fuera de escala a porcentajes bajos de *T*.

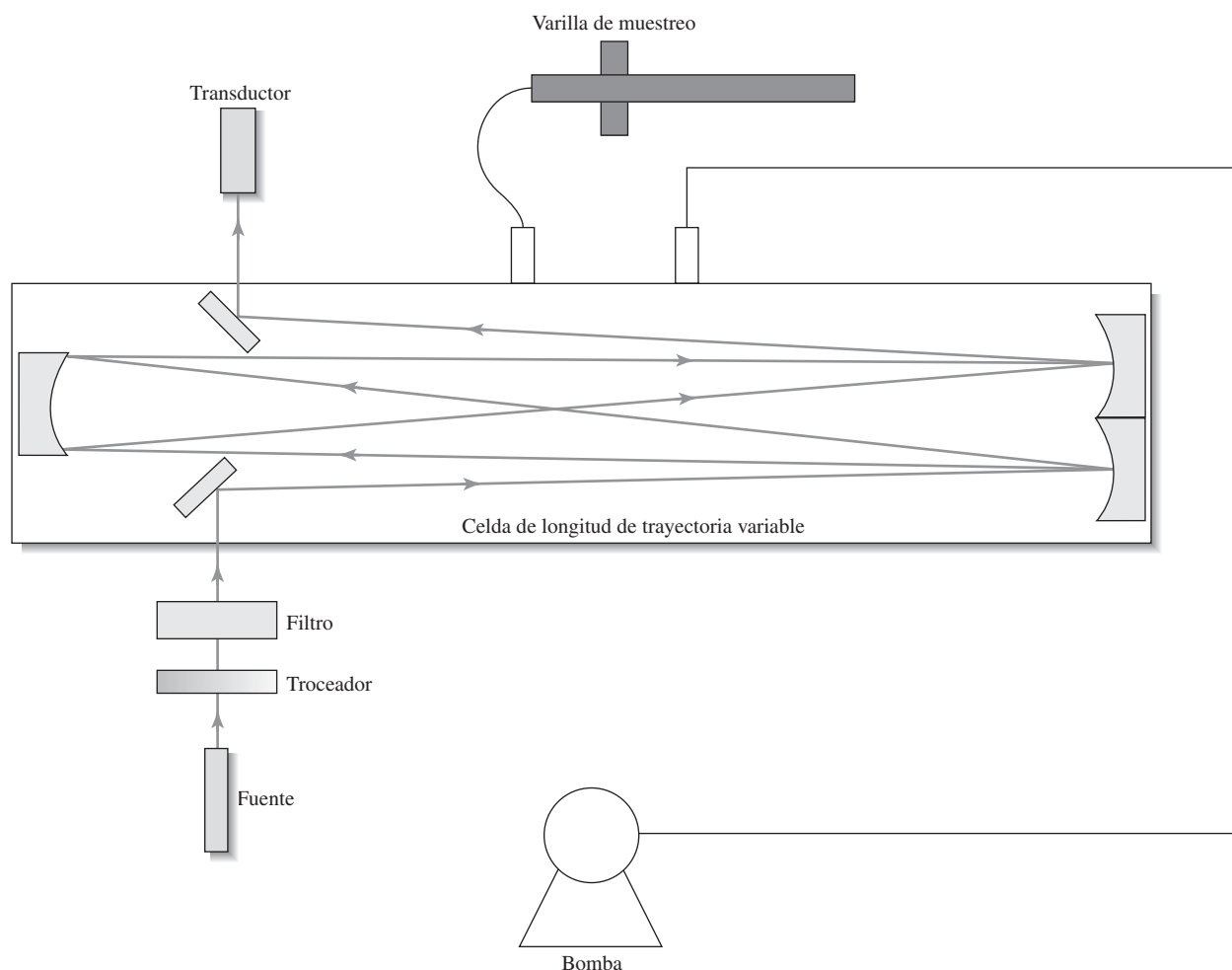


FIGURA 16.13 Fotómetro infrarrojo portátil diseñado para el análisis de gases. La muestra se introduce en la celda por medio de una bomba. La longitud de la trayectoria se modifica cambiando la cantidad de reflexiones en el espejo. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Franklin, MA.)

regiones donde la transmitancia se aproxima a cero casi no llega radiación al transductor, por lo que no puede establecerse con exactitud la posición nula. El resultado es una respuesta poco definida del transductor y picos redondeados. En la figura 16.12 se ilustra la transmitancia fuera de escala y los picos redondeados en las regiones de baja transmitancia (1700 y 3000 cm^{-1}).

16B.3 Instrumentos no dispersivos

Para el análisis cuantitativo en el infrarrojo se han diseñado algunos instrumentos sencillos y fuertes. Unos son fotómetros de filtro básico, y otros emplean filtros de cuña en lugar de un elemento dispersante para proporcionar espectros completos. Por último, algunos analizadores de gas no están equipados con ningún dispositivo para seleccionar longitud de onda. Por lo

general, éstos son menos complicados, más resistentes, más fáciles de mantener y más baratos que los instrumentos que se han descrito hasta ahora en este capítulo.

Fotómetros de filtro

La figura 16.12 muestra el esquema de un fotómetro de filtro infrarrojo portátil diseñado para el análisis cuantitativo de diferentes sustancias presentes en la atmósfera.¹⁰ Hay distintos modelos que vienen calibrados de fábrica para 1, 5, 30 o más de 100 gases. El instrumento está controlado por computadora. En el caso de varios compuestos, se utilizan filtros para banda fijos de 1.8, 3.3, 3.6, 4.0, 4.2, 4.5, 4.7, 8, 11 y $14\text{ }\mu\text{m}$. Se puede usar un filtro que varía en forma continua y que transmite en el intervalo de 7.7 y $14.1\text{ }\mu\text{m}$ (1300 a 710 cm^{-1}), para

¹⁰ Véase P. A. Wilks, *Amer. Lab.*, **1994** (12), p. 44; *Proc. Control Qual.*, **1992**, 3, p. 283.

seleccionar otras longitudes de onda o para barrer espectros. La fuente es un filamento de alambre de nicromo y el transductor es un dispositivo piroeléctrico (véanse las descripciones de fuentes y transductores en la sección 16C).

La muestra gaseosa se introduce dentro de la celda mediante una bomba accionada por batería a un ritmo de 20 L/min. En la celda se usan tres espejos revestidos de oro en un diseño de longitud de trayectoria plegada para ampliar la longitud de la trayectoria. Se puede elegir entre longitudes de 0.5 m y 12.5 m. Con este fotómetro se han detectado muchos gases a escalas de menos de una parte por millón, sobre todo con el ajuste de longitud de trayectoria plegada.

Fotómetros sin filtro

Los fotómetros sin ningún dispositivo para restringir la longitud de onda se utilizan mucho para controlar un componente determinado en corrientes de gases.¹¹ En la figura 16.14 se muestra un instrumento no dispersivo característico, diseñado para determinar monóxido de carbono en una mezcla gaseosa. La celda de referencia es un recipiente sellado que contiene un gas no absorbente; tal como se muestra en la figura, la muestra fluye por una segunda celda de la misma longitud. La hoja del troceador está dispuesta de tal manera que los haces que provienen de fuentes idénticas se cortan de manera simultánea a una velocidad de unas cinco veces por segundo. La selectividad se logra al llenar ambos compartimientos de la celda del sensor con el gas que se desea analizar, en este caso, monóxido de carbono. Las dos cámaras del detector están separadas por un diafragma metálico, delgado y flexible que funciona como la placa de un capacitor. La segunda placa está en el compartimiento del sensor a la izquierda.

Cuando no hay monóxido de carbono dentro de la celda de la muestra, las dos cámaras del sensor se calientan por igual con la radiación infrarroja proveniente de las dos fuentes. Sin embargo, si la muestra contiene monóxido de carbono, el haz del lado derecho está algo atenuado y la cámara del sensor correspondiente se enfría algo más que la cámara de referencia. Como resultado, se produce un movimiento del diafragma hacia la derecha y hay un cambio en la capacidad del condensador. Este cambio de capacitancia se detecta mediante el sistema amplificador, cuya señal de salida actúa sobre un servomotor que mueve el atenuador del haz de referencia hasta que ambos compartimientos estén de nuevo a la misma temperatura. Por consiguiente, el instrumento trabaja como un dis-

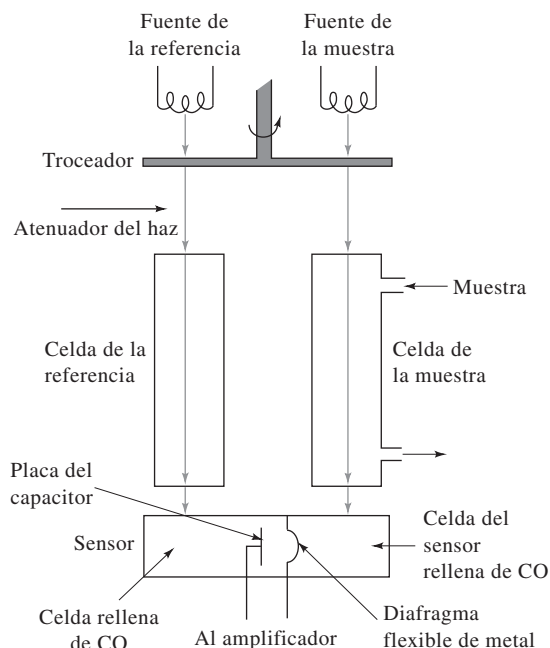


FIGURA 16.14 Fotómetro de infrarrojo no dispersivo para el control del monóxido de carbono.

positivo de tipo nulo. El troceador sirve para proporcionar una señal de corriente alterna que es menos sensible a la deriva y al ruido $1/f$.

Este tipo de instrumento es muy selectivo debido a que el calentamiento del gas del sensor se produce sólo a partir de la estrecha porción del espectro de radiación que es absorbida por el monóxido de carbono. Este dispositivo se puede adaptar al análisis de cualquier gas que absorba radiación infrarroja.

Analizadores de correlación de filtro

Como se puede ver en la figura 16.15, estos analizadores están equipados con un filtro giratorio de gas a través del cual pasa el haz IR. El filtro tiene dos compartimientos, a saber, uno para el gas en estudio y el otro para un gas no absorbente como el nitrógeno. Cuando el gas en estudio está en el haz atenúa en forma selectiva la fuente IR para producir un haz de referencia. El gas transparente produce el haz de la muestra. Casi siempre, la fuente IR se divide a una frecuencia bastante alta (360 Hz) mientras el filtro gira a una frecuencia más bien baja (30 Hz). Se genera una señal modulada que está relacionada con la concentración del gas del analito.

Hay analizadores de correlación de filtro para gases como CO_2 y CO. Se pueden preparar para que detecten niveles traza (<0.1 ppm) o cantidades mayores. Los instrumentos se calibran mediante la elaboración de una curva de trabajo con la disolución de un gas patrón.

¹¹ Para una descripción del proceso de la medición en el infrarrojo, véase W. V. Daily, *Proc. Control Qual.*, **1992**, 3, p. 99.

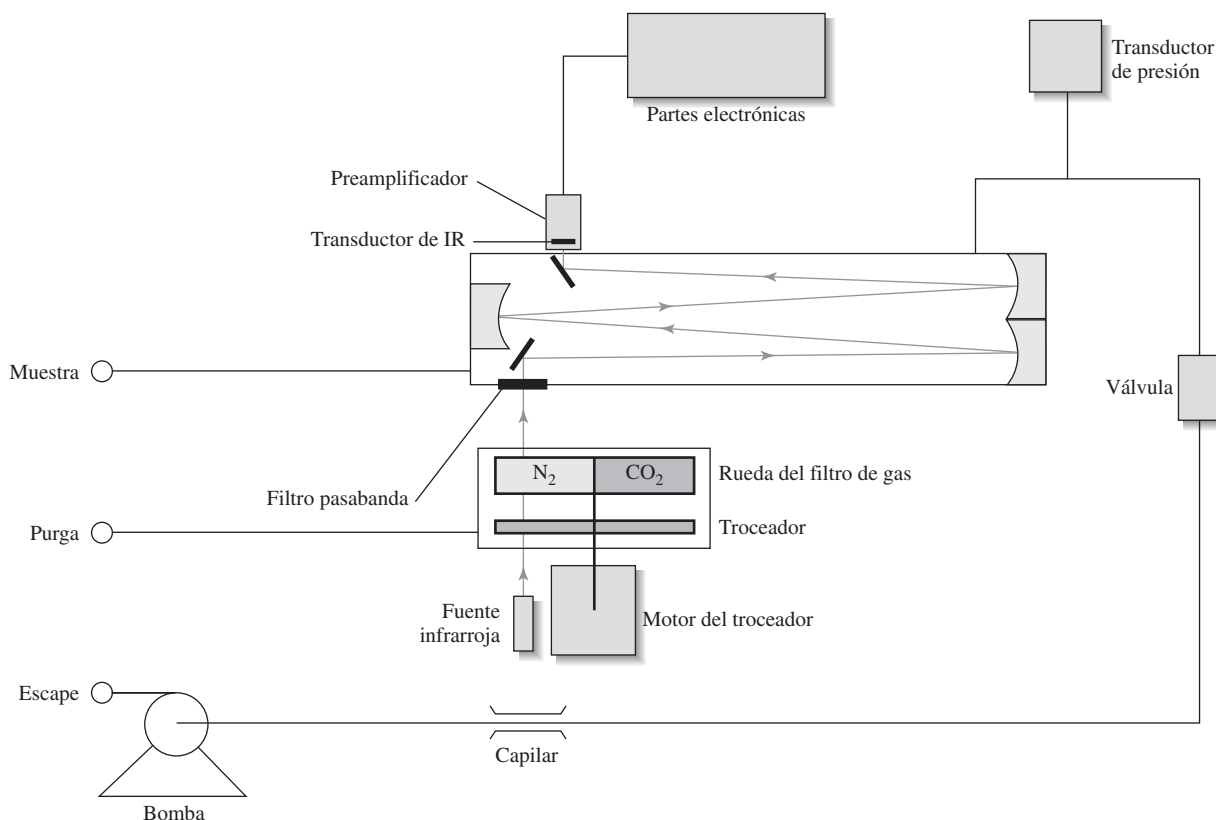


FIGURA 16.15 Un analizador IR de correlación de filtro para determinar CO_2 . La muestra se coloca dentro de la celda de la muestra mediante una bomba. La radiación troceada de la fuente IR (360 Hz) se alterna entre el lado del N_2 y el lado del CO_2 de la rueda del filtro, el cual gira a 30 Hz. El lado del CO_2 proporciona un haz de referencia que ya no puede ser atenuado más por el CO_2 presente en la celda de la muestra. El lado del N_2 produce el haz de la muestra al permitir que el haz de radiación IR atraviese la celda donde puede ser atenuado por el CO_2 que está en la muestra. La amplitud modulada de la señal cortada del detector se relaciona con la concentración de CO_2 que está en la muestra. Otros gases no modulan la señal del detector porque absorben por igual los haces de referencia y de la muestra. (Cortesía de Thermo Electron Corp., Franklin, MA.)

16C FUENTES Y TRANSDUCTORES DE INFRARROJO

Los instrumentos para medir absorción infrarroja sólo requieren de una fuente de radiación IR continua y un transductor de infrarrojo. Las características deseables de estas partes del instrumento se proporcionan en las secciones 7B y 7E. En esta sección se describen las fuentes y los transductores con los que están equipados los instrumentos IR modernos.

16C.1 Fuentes

Las fuentes de radiación infrarroja constan de un sólido inerte que se calienta eléctricamente a una temperatura comprendida entre 1500 y 2200 K. Estas fuentes producen una radiación continua que se aproxima a la de un cuerpo negro (véase figura 6.22). A estas temperaturas, la máxima intensidad radiante se produce

entre 5000 y 5900 cm^{-1} (de 2 a $1.7 \text{ }\mu\text{m}$). A longitudes de onda mayores, la intensidad decrece con suavidad hasta llegar a ser 1% del máximo a 670 cm^{-1} ($15 \text{ }\mu\text{m}$). A longitudes de onda menores, la disminución es mucho más rápida, y se observa una reducción de intensidad similar a los $10\,000 \text{ cm}^{-1}$ ($1 \text{ }\mu\text{m}$).

Emisor de Nernst

Está constituido por óxidos de tierras raras conformadas en un cilindro de diámetro de 1 a 3 mm y una longitud de 2 a 5 cm . En los extremos del cilindro hay unas terminales de platino que están selladas para permitir la conexión eléctrica a lo que equivale a un elemento de calentamiento resistivo. Cuando la corriente atraviesa este dispositivo se alcanzan temperaturas comprendidas entre 1200 y 2200 K . El coeficiente térmico de la resistencia eléctrica del emisor de Nernst es muy negativo, y debe calentarse externamente hasta

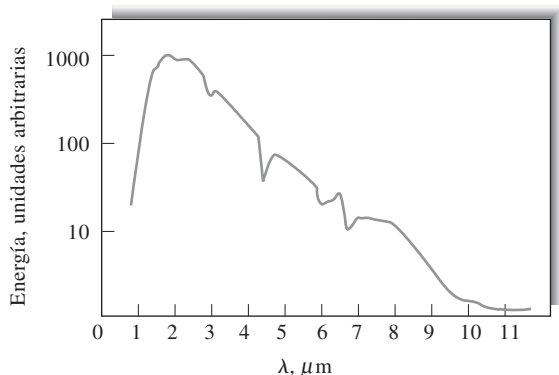


FIGURA 16.16 Distribución espectral de la energía procedente de un emisor de Nernst cuando funciona a aproximadamente 2200 K.

un color rojo pálido antes de que la corriente sea lo bastante alta para conservar la temperatura deseada. Debido a que la resistencia disminuye con el aumento de temperatura, el circuito de la fuente se tiene que diseñar para limitar la corriente; si no fuera así la lámpara se calentaría tanto que se destruiría.

En la figura 16.16 se puede ver la señal de salida espectral de un emisor de Nernst cuando funciona a alrededor de 2200 K. Observe que la curva se parece a la de un cuerpo negro. Los pequeños picos y valles dependen de la composición química del dispositivo.

Fuente global

Un global es una varilla de carburo de silicio que por lo general mide 5 cm de longitud y 5 mm de diámetro. Se calienta también eléctricamente (1300 a 1500 K), y tiene la ventaja de poseer un coeficiente de resistencia positivo. Por otra parte, es necesario enfriar los contactos eléctricos con agua para evitar la formación de un arco. Las energías espectrales del global y del emisor de Nernst son semejantes, excepto en la región inferior a 5 μm , donde el global proporciona una señal de salida significativamente mayor.

Fuente de filamento incandescente

Se trata de una fuente de intensidad algo menor, pero de vida más larga que la fuente global o el emisor de Nernst, consiste de una espiral muy apretada de alambre de nicromo que se calienta por el paso de una corriente eléctrica a casi 1100 K. Un calentador de filamento de rodio sellado en un cilindro de cerámica presenta propiedades semejantes a estas fuentes, pero es más caro. Las fuentes con filamento de nicromo poseen menor intensidad que muchas fuentes IR. No obstante, la fuente de filamento incandescente no necesita enfriarse y casi no requiere mantenimiento. Por esta razón, la fuente de filamento de nicromo se utiliza

casi siempre cuando la confiabilidad es importante, como en los analizadores de proceso.

Arco de mercurio

Para la región espectral del infrarrojo lejano ($\lambda > 50 \mu\text{m}$), ninguna de las fuentes térmicas descritas hasta aquí proporciona suficiente energía radiante para una detección apropiada. En este caso se utiliza un arco de mercurio de alta presión que consta de un tubo revestido con cuarzo que contiene vapor de mercurio a una presión mayor que una atmósfera. El paso de la electricidad a través del vapor origina una fuente de plasma interna que proporciona una radiación continua en la región del infrarrojo lejano.

Lámpara de filamento de tungsteno

Una lámpara de filamento de tungsteno común es una fuente adecuada para la región del infrarrojo cercano de 4000 a 12 800 cm^{-1} (2.5 a 0.78 μm).

Fuente láser de dióxido de carbono

Para el control de la concentración de ciertos contaminantes atmosféricos y para determinar especies absorbentes en soluciones acuosas se utiliza como fuente infrarroja un láser sintonizable de dióxido de carbono.¹² Un láser de dióxido de carbono produce una banda de radiación en el intervalo de 900 a 1100 cm^{-1} (de 11 a 9 μm), que consta de unas 100 líneas discretas y muy juntas. Como se explica en la sección 7B.3, cualquiera de esas líneas se puede elegir al sintonizar el láser. Aunque el intervalo de longitudes de onda disponible es limitado, la región de 900 a 1100 cm^{-1} es particularmente rica en bandas de absorción producidas por los modos de tensión interactivos del CO_2 . Por tanto, esta fuente es útil para la determinación cuantitativa de algunas especies importantes como el amoníaco, butadieno, benceno, etanol, dióxido de nitrógeno y tricloroetileno. Una propiedad importante de la fuente láser es la potencia radiante disponible en cada línea, la cual es varios órdenes de magnitud mayor que la de las fuentes de cuerpo negro.

Los rayos láser de dióxido de carbono se utilizan ampliamente en aplicaciones de detección remota como el lidar (acrónimo de *light detection and ranging*) cuyo principio de funcionamiento es similar al del radar. El sistema lidar transmite radiación hasta un blanco que interactúa con ella y la modifica. Una parte de la radiación es reflejada de nuevo al instrumento lidar, donde se analiza y se obtiene información acerca del

¹² Véase A. A. Demidov, en *Introduction to Laser Spectroscopy*, 2a. ed., D. L. Andrews y A. A. Demidov, eds., Nueva York: Kluwer Academic/Plenum Press, 2002; Z. Zelinger, M. Strizik, P. Kubat y S. Civiš, *Anal. Chem. Acta*, **2000**, 422, p. 179; P. L. Meyer, M. W. Sigrist, *Rev. Sci. Instrum.*, **1990**, 61, p. 1779.

blanco. Por medio del lidar se puede determinar distancia, velocidad, giro, composición química y concentración de blancos remotos.

16C.2 Transductores de infrarrojo

Los transductores de infrarrojo son de tres tipos generales: 1) transductores piroeléctricos, 2) transductores fotoconductores y 3) transductores térmicos. Por lo común, el primero está instalado en fotómetros, espectrofotómetros IR de transformada de Fourier y en espectrofotómetros dispersivos. Los transductores fotoconductores están en muchos instrumentos IR de transformada de Fourier. Los viejos instrumentos dispersivos están equipados con detectores térmicos, los cuales son muy lentos para usarlos en espectrofotómetros IR de transformada de Fourier.

Transductores piroeléctricos

Los transductores piroeléctricos se construyen con láminas cristalinas (*wafers*) de materiales piroeléctricos, que son aislantes (materiales dieléctricos) con propiedades térmicas y eléctricas muy especiales. El sulfato de triglicina $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ por lo general deuterado o con una fracción de glicina reemplazada con alanina, es el material piroeléctrico más importante que se utiliza en los sistemas de detección infrarroja.

Cuando se aplica un campo eléctrico a un material dieléctrico tiene lugar la polarización eléctrica, cuya magnitud es función de la constante dieléctrica del material. Para la mayoría de los dieléctricos esta polarización inducida disminuye a cero cuando se elimina el campo externo. En cambio, las sustancias piroeléctricas conservan una fuerte polarización dependiente de la temperatura después de eliminar el campo. Por consiguiente, al colocar el cristal piroeléctrico entre dos electrodos, uno de los cuales es transparente a la radiación infrarroja, se obtiene un condensador que depende de la temperatura. Al cambiar su temperatura mediante la radiación infrarroja se modifica la distribución de carga a través del cristal, lo que se puede detectar como una corriente en un circuito eléctrico externo que conecta las dos caras del condensador. La magnitud de esta corriente es proporcional al área de la superficie del cristal y a la razón de cambio de la polarización respecto a la temperatura. Los cristales piroeléctricos pierden su polarización residual cuando al calentarse alcanzan una temperatura denominada *punto de Curie*. Para el sulfato de triglicina el punto de Curie es 47°C.

Los transductores piroeléctricos manifiestan tiempos de respuesta que son suficientemente rápidos para facilitar el rastreo de los cambios en la señal en el dominio del tiempo procedente de un interferómetro.

Por esta razón, muchos espectrómetros IR de transformada de Fourier para la región IR intermedia utilizan este tipo de transductor.

Transductores fotoconductores

Los transductores fotoconductores de IR constan de una delgada película de un material semiconductor, como sulfuro de plomo, telururo de cadmio-telururo de mercurio o antimoniuro de indio, depositada sobre una superficie de vidrio no conductora y sellada, colocada en una cámara al vacío para proteger al semiconductor contra la atmósfera. En estos materiales, la absorción de radiación impulsa electrones de valencia no conductores hacia estados conductores de mayor energía, disminuyendo así la resistencia eléctrica del semiconductor. Por lo común, un fotoconductor se coloca en serie con una fuente de voltaje y un resistor de carga, y la caída de voltaje en el resistor de carga sirve como medida de la potencia del haz de radiación.

Los fotoconductores de sulfuro de plomo son los transductores que más se utilizan para la región espectral del infrarrojo cercano de $10\,000$ a 333 cm^{-1} (de 1 a $3\text{ }\mu\text{m}$). Pueden funcionar a temperatura ambiente. Los transductores fotoconductores de telururo de cadmio-telururo de mercurio se utilizan para la radiación del infrarrojo medio y lejano. Estos detectores se deben enfriar con nitrógeno líquido (77 K) para reducir al mínimo el ruido térmico. Las longitudes de onda de corte y otras muchas propiedades de estos transductores dependen de la relación telururo de mercurio-telururo de cadmio, la cual se puede modificar en forma continua.

El transductor de telururo de cadmio-telururo de mercurio es más rápido y más sensible que el transductor de sulfato de triglicina que se trató en la sección anterior. Por esta razón, el transductor de telururo de cadmio-telururo de mercurio se aplica también en los espectrómetros IR de transformada de Fourier, en particular en los que requieren tiempos de respuesta rápidos, como los espectrómetros para cromatografía de gases.

Transductores térmicos

Los transductores térmicos, cuya respuesta depende del efecto calorífico de la radiación, forman parte de los antiguos espectrómetros dispersivos para detectar las longitudes de onda del infrarrojo, excepto para las más cortas. Con estos dispositivos, un pequeño cuerpo negro absorbe la radiación y se mide la temperatura resultante. La potencia radiante del haz de un espectrofotómetro es muy baja (10^{-7} a 10^{-9} W), por lo que la capacidad calorífica del elemento absorbente debe ser lo más pequeña posible para producir un cambio de temperatura detectable. En las mejores circunstancias,

los cambios de temperatura se limitan a unas pocas milésimas de kelvin.

El problema de medir la radiación infrarroja por medios térmicos se complica por el ruido térmico del medio circundante. Por esta razón los transductores térmicos se mantienen al vacío y se protegen con cuidado contra la radiación térmica emitida por otros objetos cercanos. Para reducir al mínimo los efectos de fuentes caloríficas extrañas, el haz de la fuente se divide mediante un troceador. De esta forma, la señal del analito, después de la transformación, tiene la frecuencia del troceador y se puede separar por medios electrónicos de las señales de ruido extrañas, las cuales son de ordinario de banda ancha o varían sólo con lentitud respecto al tiempo.

Termopares. En su forma más simple, un termopar consta de dos uniones que se forman soldando los extremos de dos piezas de un metal como el bismuto, con otro metal distinto como el antimonio. Entre las dos uniones se genera un potencial que varía en función de su diferencia de temperatura.

La unión del transductor para radiación infrarroja está constituida por alambres muy finos o por evaporación de los metales sobre un soporte no conductor. En cualquier caso, la unión se oscurece para mejorar su capacidad de absorber calor y se coloca en una cámara de vacío sellada con una ventana transparente a

la radiación infrarroja. El tiempo de respuesta es casi siempre de 30 ms.

La unión de referencia, que por lo regular se aloja en la misma cámara que la unión activa, se diseña para que su capacidad calorífica sea relativamente grande, y se protege con cuidado contra la radiación incidente. Puesto que la señal del analito se hace pasar por un troceador, sólo es importante la diferencia de temperatura entre las dos uniones; por tanto, la unión de referencia no tiene por qué mantenerse a temperatura constante. Para aumentar la sensibilidad se pueden conectar varios termopares en serie para originar lo que se llama *termopila*.

Bolómetros. Un bolómetro es un tipo de termómetro de resistencia construido con tiras de metales como platino o níquel, o con un semiconductor. En este último caso se denomina *termistor*. Los materiales semiconductores manifiestan un cambio de resistencia relativamente grande en función de la temperatura. El elemento sensible es pequeño y está ennegrecido para absorber el calor radiante. Los bolómetros no se utilizan tanto como otros transductores de radiación infrarroja para la región del infrarrojo medio. Sin embargo, un bolómetro de germanio, que trabaja a 1.5 K, es un transductor excelente para la radiación comprendida en el intervalo de 5 a 400 cm^{-1} (de 2000 a $25\text{ }\mu\text{m}$). El tiempo de respuesta es de sólo algunos milisegundos.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

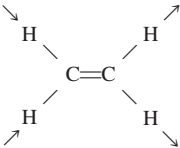
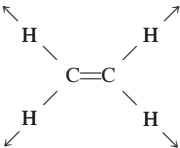
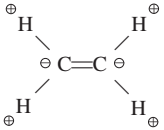
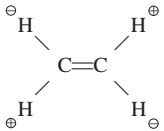
*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que tienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- *16.1 El espectro infrarrojo del CO presenta una banda de absorción vibracional centrada en 2170 cm^{-1} .
 - a) ¿Cuál es la constante de fuerza del enlace del CO?
 - b) ¿En qué número de onda se presentaría el correspondiente pico del ^{14}CO ?
- *16.2 El HCl gaseoso presenta una absorción en el infrarrojo a 2890 cm^{-1} debido a la vibración de estiramiento hidrógeno/cloro.
 - a) Calcule la constante de fuerza del enlace.
 - b) Calcule el número de onda de la banda de absorción para el HCl, suponga que la constante de fuerza es igual que la calculada en el inciso a).
- 16.3 Calcule la frecuencia de absorción correspondiente a la vibración de estiramiento —C—H, considere al grupo como una molécula C—H diatómica sencilla con una constante de fuerza de $k = 5.0 \times 10^2\text{ N/m}$. Compare el valor calculado con el intervalo encontrado en las gráficas de correlación, como la que se muestra en la figura 17.6. Repita el cálculo para el enlace con deuterio.
- *16.4 La longitud de onda de la vibración de estiramiento fundamental O—H es aproximadamente $1.4\text{ }\mu\text{m}$. ¿Cuáles son la longitud de onda y el número de onda aproximados del primer sobretono para el estiramiento O—H?

- *16.5** La longitud de onda de la vibración de estiramiento fundamental N—H es aproximadamente $1.5\ \mu\text{m}$. ¿Cuáles son la longitud de onda y el número de onda aproximados del primer sobretono para el estiramiento N—H?
- *16.6** El dióxido de azufre es una molécula no lineal. ¿Cuántos modos de vibración tendrá este compuesto? ¿Cuántas bandas de absorción se podrían esperar para el dióxido de azufre?
- *16.7** Indique si las siguientes vibraciones son o no activas en el infrarrojo.

Molécula	Modo de vibración
a) CH_3-CH_3	C—C estiramiento
b) CH_3-CCl_3	C—C estiramiento
c) SO_2	Estiramiento simétrico
d) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	C—H estiramiento:
	
e) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	C—H estiramiento:
	
f) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	CH_2 aleteo:
	
g) $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	CH_2 torsión:
	

- 16.8** ¿Cuáles son las ventajas de un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier si se le compara con un instrumento dispersivo?



- 16.9** ¿Qué recorrido del espejo sería necesario en un espectrómetro IR de transformada de Fourier para proporcionar una resolución de a) $0.050\ \text{cm}^{-1}$, b) $0.40\ \text{cm}^{-1}$, y c) $4.0\ \text{cm}^{-1}$?

- *16.10** Se ha establecido que a temperatura ambiente (25°C) la mayoría de las moléculas está en el nivel de energía vibracional fundamental ($\nu = 0$).
- Mediante la ecuación de Boltzmann (ecuación 8.1) calcule las siguientes relaciones de población en estado excitado y en estado fundamental para el HCl: $N(\nu = 1)/N(\nu = 0)$. La frecuencia de vibración fundamental del HCl se produce a 2885 cm^{-1} .
 - Con los resultados del inciso a) determine $N(\nu = 2)/N(\nu = 0)$.
- 16.11** ¿Por qué con frecuencia los instrumentos IR no dispersivos se usan para determinar gases en lugar de los espectrómetros IR dispersivos?
- 16.12** Los primeros instrumentos IR de transformada de Fourier empleaban tres sistemas interferométricos distintos. Explique en forma breve cómo se han podido simplificar los sistemas ópticos en los instrumentos más modernos.
- *16.13** En un determinado análisis de trazas de infrarrojo de transformada de Fourier se recogieron 16 interferogramas. La relación señal-ruido de un pico espectral determinado fue aproximadamente de 5:1. ¿Cuántos interferogramas se deberían realizar y promediar si se pretendiera obtener una relación señal-ruido $S/N = 20:1$?
-  ***16.14** Si en un interferómetro de Michelson el espejo se mueve a una velocidad de 1.00 cm/s , ¿cuál será la frecuencia en el transductor debido a la luz que sale de la fuente a frecuencias de a) $4.8 \times 10^{13}\text{ Hz}$ b) $4.9 \times 10^{13}\text{ Hz}$ y c) $5.0 \times 10^{13}\text{ Hz}$? ¿Cuáles son los números de onda correspondientes a estas frecuencias?

Problema de reto

- 16.15** a) El espectro IR del N_2O gaseoso manifiesta tres intensas bandas de absorción a 2224 cm^{-1} , 1285 cm^{-1} y 2089 cm^{-1} . Además, dos bandas más bien débiles se observan a 2563 cm^{-1} y a 2798 cm^{-1} . Se sabe que el N_2O es una molécula lineal, pero suponga que no se sabe si la estructura es $\text{N}-\text{N}-\text{O}$ o $\text{N}-\text{O}-\text{N}$. Mediante los datos de IR decida entre las dos estructuras. ¿Qué vibraciones se pueden asignar a las bandas de absorción intensa? ¿Cuáles son las causas posibles de las absorciones débiles?
- b) El espectro IR de HCN muestra tres bandas intensas de absorción a 3312 cm^{-1} , 2089 cm^{-1} y 712 cm^{-1} . A partir de sólo esta información, ¿podría deducir si el HCN es lineal o no lineal? Si se supone que el HCN es lineal, asigne vibraciones a las tres bandas de absorción.
- c) ¿Cuántos modos vibracionales fundamentales son de esperarse para el BF_3 ? ¿Cuáles de ellos se espera que sean IR activos? ¿Por qué? Trace las vibraciones.
- d) ¿Cuántos modos vibracionales fundamentales pronosticaría para 1) metano, 2) benceno, 3) tolueno, 4) etileno y 5) tetracloruro de carbono?

Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo

La moderna espectrometría en el infrarrojo es una herramienta multifacética que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. En este capítulo la atención se enfoca en los usos de la espectrometría IR de reflexión y de absorción para las investigaciones estructurales de compuestos moleculares, sobre todo los orgánicos y especies de interés en la bioquímica. Luego se examinan con menos detalle varias de las otras aplicaciones de la espectroscopía en el infrarrojo.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

Como se muestra en la tabla 17.1, las aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo se dividen en tres grandes categorías relacionadas con tres regiones espectrales. La región más ampliamente utilizada es la del infrarrojo medio, que se extiende desde casi 670 hasta 4000 cm^{-1} (2.5 y $14.9\text{ }\mu\text{m}$). Los espectros de absorción, reflexión y emisión se utilizan en los análisis cualitativos y cuantitativos. La región del infrarrojo cercano, comprendida entre 4000 y $14\,000\text{ cm}^{-1}$ (0.75 y $2.5\text{ }\mu\text{m}$), también es muy útil en la determinación cuantitativa rutinaria de ciertas especies, como agua, dióxido de carbono, azufre, hidrocarburos de bajo peso molecular, nitrógeno de las aminas y muchos otros compuestos sencillos que tienen interés en la agricultura y en la industria. Con frecuencia, estas determinaciones se basan en medidas de la reflectancia difusa de muestras sólidas o líquidas sin tratamiento previo o en estudios de absorción de gases. El principal uso de la región infrarroja lejana (15 a $1000\text{ }\mu\text{m}$) es en la determinación de estructuras de especies inorgánicas y organometálicas con base en mediciones de absorción.

17A ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO

La espectrometría de absorción y reflexión en el infrarrojo medio es la principal herramienta para determinar la estructura de especies orgánicas y bioquímicas. En esta sección se examinan las aplicaciones de la absorción en el infrarrojo medio. En la sección 17B se tratan las mediciones de la reflectancia en el infrarrojo medio.¹

17A.1 Manipulación de la muestra

Como se explica en los capítulos anteriores, en la mayoría de los casos los espectros moleculares ultravioleta y visible se obtienen a partir de soluciones diluidas del analito. Para conseguir que las medidas de absorbancia se encuentren dentro del intervalo óptimo, se ajusta en forma adecuada la concentración o el espesor de la celda o cubeta. Pero, por lo general, esta práctica no es aplicable en la espectroscopía en el infrarrojo porque no existen buenos solventes que sean transparentes en toda la región espectral de interés. Por consiguiente, la manipulación de la muestra es a menudo la parte más difícil del análisis espectrométrico infra-

¹ Para un examen más detallado, véase R. M. Silverstein, F. X. Webster, y D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., cap. 2, Nueva York: Wiley, 2005; B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*, Nueva York: VCH, 1995; N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3a. ed., San Diego: Academic Press, 1990.

TABLA 17.1 Principales aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo.

Regiones espectrales	Tipo de medición	Tipo de análisis	Tipo de muestras
Infrarrojo cercano	Reflectancia difusa	Cuantitativo	Materiales comerciales sólidos o líquidos
	Absorción	Cuantitativo	Mezclas gaseosas
Infrarrojo medio	Absorción	Cualitativo	Sólidos, líquidos o gaseosos puros
		Cuantitativo	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
		Cromatográfico	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
	Reflectancia	Cualitativo	Sólidos o líquidos puros
	Emisión	Cuantitativo	Muestras atmosféricas
Infrarrojo lejano	Absorción	Cualitativo	Especies inorgánicas puras u organometálicas

rojo y la que requiere más tiempo.² En esta sección se da una idea general de las técnicas comunes de preparación de la muestra para las mediciones de absorción en el infrarrojo.

Gases

El espectro de un líquido o gas de bajo punto de ebullición se puede obtener al permitir que la muestra se expanda en una celda o cubeta cilíndrica en la que se ha hecho el vacío, equipada con las ventanas adecuadas. Para este fin, hay una gran variedad de cubetas cilíndricas con caminos ópticos que oscilan entre pocos centímetros y 10 metros o más. Las longitudes de trayectoria más largas se obtienen en celdas compactas con superficies internas reflejantes, de modo que el haz pasa numerosas veces por la muestra antes de salir de la celda (véase figura 16.13).

Soluciones

Siempre que sea posible, es conveniente obtener el espectro infrarrojo de soluciones preparadas de tal manera que contengan una concentración conocida de la muestra, como se hace por lo regular en espectrome-

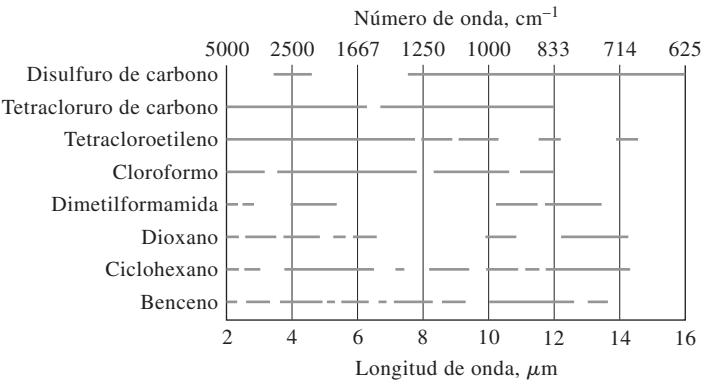
tría ultravioleta/visible. Sin embargo, esta técnica tiene ciertas limitaciones en cuanto a sus aplicaciones porque depende de la disponibilidad de solventes que sean transparentes en las regiones del infrarrojo importantes.

Solventes. En la figura 17.1 se enumeran los solventes más comunes que se utilizan en los estudios espectroscópicos IR de compuestos orgánicos. En esta figura se puede ver que no existe un solo solvente que sea transparente en toda la región del infrarrojo medio.

El agua y los alcoholes son difíciles de usar como solventes en la espectrometría en el infrarrojo. El agua manifiesta varias bandas de absorción en la región IR, como se puede ver en la figura 17.2. En ella se muestra el espectro del agua junto con el de una solución acuosa de aspirina. El espectro de diferencias calculado por computadora revela el espectro de la aspirina soluble en agua. El agua y los alcoholes también atacan a los haluros de metales alcalinos, que son los materiales más utilizados en las ventanas de las cubetas. Por consiguiente, los materiales insolubles en agua que se usan para manufacturar las ventanas, como el fluoruro de bario, se deben utilizar con dichos solventes. Es necesario poner cuidado en secar los solventes que se indican en la figura 17.1 antes de usarlos con las celdas típicas.

²Véase *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, P. B. Coleman, ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 1993; T. J. Porro y S. C. Pattacini, *Spectroscopy*, **1993**, 8 (7), p. 40; *ibid.*, 8 (8), p. 39; A. L. Smith, *Applied Infrared Spectroscopy*, véase York: Wiley, 1979, cap. 4.

FIGURA 17.1 Solventes para espectroscopía en la región del infrarrojo. Las líneas horizontales indican las regiones útiles.



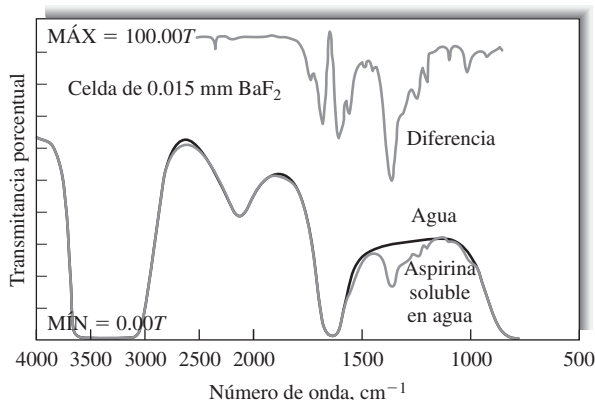


FIGURA 17.2 Espectros infrarrojos de agua y de una solución acuosa que contiene aspirina soluble en agua. El espectro superior muestra el espectro de diferencias generado por computadora obtenido al restar el espectro del agua del de la solución. (Tomado de *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, P. B. Coleman, ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 1993. Con autorización.)

Celdas. Debido a la tendencia de los solventes a absorber la radiación IR, las celdas para líquidos suelen ser mucho más estrechas (0.01 a 1 mm) que las empleadas en las regiones ultravioleta y visible. Con frecuencia, se requieren concentraciones de muestra relativamente altas, de 0.1 a 10%, porque las longitudes de las trayectorias son cortas y la absortividad molar es baja. Las celdas para líquidos están diseñadas en general para que sea fácil desmontarlas y se usan separadores de teflón que permiten variar la longitud de trayectoria (véase figura 17.3). Las celdas con longitud de trayectoria fija se llenan o se vacían mediante una jeringa hipodérmica.

Hay una diversidad de materiales para las ventanas, como se ve en la tabla 17.2. A menudo, los materiales para las ventanas se escogen de acuerdo con el costo, los intervalos de transparencia, la solubilidad en el

solvente y la reactividad con la muestra o el solvente. Las ventanas de cloruro de sodio y de bromuro de potasio son las que más se usan y las más baratas. Incluso si se tiene cuidado, las superficies se deslustran con el paso del tiempo debido a la absorción de humedad. Si se pulen con un polvo especial recuperan su condición original.

En el caso de muestras que son húmedas o acuosas, son adecuados el fluoruro de calcio y el fluoruro de bario, aunque ninguno transmite bien a lo largo de toda la región del infrarrojo medio. Se utiliza mucho el bromuro de plata; aunque es más caro, es fotosensible y se raya con facilidad. Los materiales Irtran también son resistentes al ataque químico y son insolubles en agua. Son un poco más caros y sus índices de refracción son

TABLA 17.2 Materiales comunes para las ventanas.

Material	Intervalos aplicables cm^{-1}	Solubilidad, del agua g/100 g H_2O , 20°C
Cloruro de sodio	40 000–625	36.0
Bromuro de potasio	40 000–385	65.2
Cloruro de potasio	40 000–500	34.7
Yoduro de cesio	40 000–200	160.0
Sílice fundida	50 000–2500	Insoluble
Fluoruro de calcio	50 000–1100	1.51×10^{-3}
Fluoruro de bario	50 000–770	0.12 (25°C)
Yoduro-bromuro de talio, KRS-5	16 600–250	<0.0476
Bromuro de plata	20 000–285	1.2×10^{-7}
Irtran-2, sulfuro de zinc	10 000–715	Insoluble
Irtran-4, seleniuro de zinc	10 000–515	Insoluble
Polietileno	625–30	Insoluble

Tomado de *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, P. B. Coleman, ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.

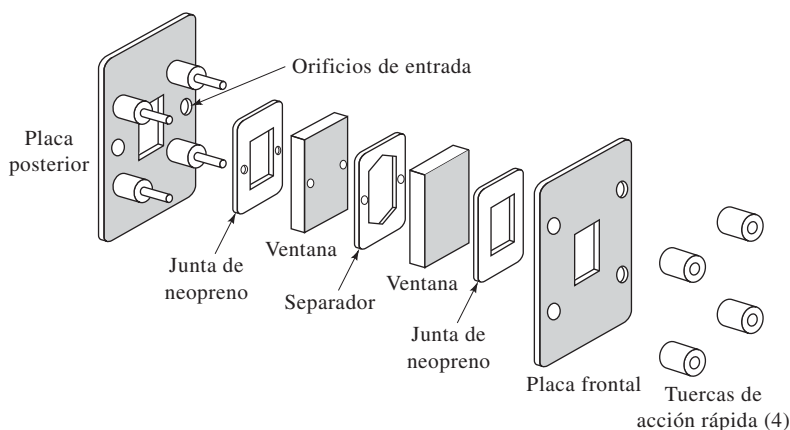


FIGURA 17.3 Vista expandida de una celda IR desmontable para muestras líquidas. Hay separadores de teflón con grosores de 0.015 a 1 mm. (Cortesía de Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT.)

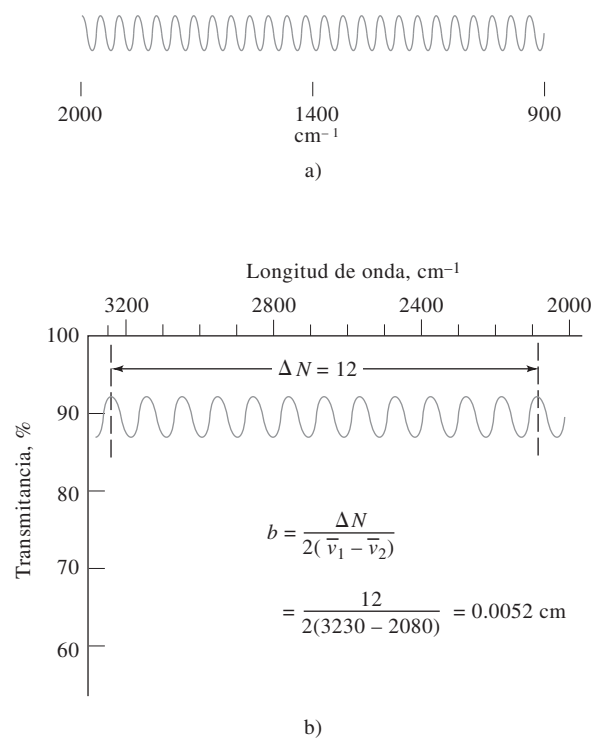


FIGURA 17.4 Determinación de la longitud de la trayectoria de las celdas de IR a partir de las franjas de interferencia. a) Las franjas se observan en una celda vacía en la trayectoria de la luz. En b) se proporciona un ejemplo del cálculo de la longitud de la trayectoria.

más altos, ya que van de 2.2 a 2.4, lo cual puede ocasionar franjas de interferencias debido a la falta de correspondencia con el índice de refracción de la muestra, que es de alrededor de 1.4 a 1.6.

En la figura 17.4 se muestra cómo se puede determinar el espesor b de las celdas angostas empleadas en infrarrojo mediante el método de las franjas de interferencia. El patrón de interferencia de la figura 17.4a se obtiene al insertar una celda vacía en la trayectoria luminosa del haz de la muestra y registrando la transmitancia contra el aire en el haz de referencia. La radiación que se refleja desde las paredes de la celda interfiere con el haz transmitido para producir los máximos y mínimos de interferencia. Los primeros tienen lugar cuando la radiación que se refleja desde las dos caras internas de la celda ha viajado una distancia igual a un múltiplo entero N de longitud de onda de la radiación que se transmite sin reflexión. Siempre que la longitud de onda sea igual a $2b/N$ tendrá lugar una interferencia constructiva. Es decir,

$$\frac{2b}{N} = \lambda \quad (17.1)$$

Como se indica en la figura 17.4b, se cuenta la cantidad de franjas de interferencia ΔN entre dos longitudes de onda determinadas λ_1 y λ_2 y se introduce en la ecuación

$$\Delta N = \frac{2b}{\lambda_1} - \frac{2b}{\lambda_2} = 2b\bar{\nu}_1 - 2b\bar{\nu}_2$$

o bien

$$b = \frac{\Delta N}{2(\bar{\nu}_1 - \bar{\nu}_2)} \quad (17.2)$$

Es necesario tener en cuenta que las franjas de interferencia no se ven cuando la celda se llena con líquido porque el índice de refracción de la mayoría de los líquidos se aproxima al del material de la ventana; de este modo, se reduce al mínimo la reflexión (ecuación 6.15). Por otra parte, se puede observar la interferencia que aparece en la región comprendida entre 2800 y 2000 cm^{-1} en la figura 16.1. En este caso la muestra es una hoja de poliestireno que tiene un índice de refracción considerablemente distinto al del aire. Por esta razón, tiene lugar una reflexión significativa en las dos interfases de la hoja. A menudo, la ecuación 17.2 se utiliza para calcular el espesor de películas de polímeros delgadas.

Líquidos

Cuando la cantidad de una muestra líquida es pequeña o cuando no se dispone del solvente apropiado, es habitual obtener los espectros del líquido puro. En este caso, sólo una película muy delgada tiene una longitud de trayectoria lo suficientemente corta para producir espectros satisfactorios. Por lo común, una gota del líquido puro se presiona entre dos placas de sal gema (NaCl 97%, pureza) para obtener una lámina con un espesor de 0.015 mm o menos. Las dos placas, que se mantienen unidas por capilaridad, se colocan en la trayectoria del haz. Esta técnica no proporciona datos de transmitancia particularmente reproducibles, pero por lo general, los espectros obtenidos son satisfactorios para las investigaciones cualitativas.

Sólidos

La mayoría de los compuestos orgánicos presenta numerosas bandas de absorción en toda la región del infrarrojo medio y con frecuencia es imposible encontrar un solvente que no dé lugar al traslape de picos. Por esta razón los espectros se obtienen a menudo en dispersiones del sólido en una matriz líquida o sólida. En estas técnicas, por lo general, la muestra sólida se debe pulverizar hasta que el tamaño de sus partículas sea menor que la longitud de onda de la radiación para evitar los efectos de dispersión de la radiación.

Pastillas. Una de las técnicas más populares de manipulación de las muestras sólidas es la formación de pastillas de KBr, pero también se han utilizado otros haluros de metales alcalinos. Las sales de haluros tienen la propiedad de fluir en frío, por la cual cuando el material finamente pulverizado se somete a una presión suficiente manifiesta propiedades transparentes o translúcidas como el vidrio. Con esta técnica, se mezcla un miligramo o menos de la muestra, finamente pulverizada, con alrededor de 100 mg de polvo de bromuro de potasio desecado. La mezcla se puede realizar en un mortero y con mano o, mejor, en un pequeño molino de bolas. Después se presiona la mezcla en un troquel especial entre 10 000 y 15 000 libras por pulgada cuadrada hasta obtener un disco transparente. Se obtienen mejores resultados si el disco se prepara en vacío para eliminar el aire atrapado. A continuación, el disco se coloca en la trayectoria del haz del instrumento para el examen espectroscópico. Los espectros resultantes presentan casi siempre bandas a 3450 y 1640 cm^{-1} (2.9 y $6.1\text{ }\mu\text{m}$) debidas a la humedad absorbida.

Para muchos compuestos, las pastillas de KBr producen espectros excelentes que aparecen en muchos archivos. Por ser iónico, el KBr transmite a lo largo de la mayor parte de la región del infrarrojo hasta una frecuencia de aproximadamente 400 cm^{-1} . Hay intercambio de iones en algunas muestras como los hidroclozuros de amina o sales inorgánicas. Con las primeras, se encuentran con frecuencia bandas de hidrobromuro de amina. Asimismo, puede haber polimorfismo debido a las fuerzas que intervienen al moler y someter a presión la sustancia. Todo esto puede convertir un polimorfo en otro. Aunque el KBr es el que más se usa en las sales para pastillas, se usan algunas veces materiales como CsI y CsBr.

Suspensiones. Los espectros IR de sólidos insolubles en un solvente transparente al infrarrojo o que no se prestan para la formación de pastillas con el KBr se obtienen al dispersar el analito en un aceite mineral o una *suspensión* de hidrocarburo fluorado. Las suspensiones se preparan moliendo de 2 a 5 mg de la muestra finamente pulverizada (tamaño de partícula $<2\text{ }\mu\text{m}$) en una o dos gotas de un aceite de hidrocarburo pesado (Nujol). Si es probable que las bandas del hidrocarburo interfieran, se puede usar Fluorolube, un polímero halogenado. En cualquier caso, la suspensión resultante se estudia luego al colocar una delgada capa entre dos placas planas de sal.

Otros métodos para sólidos. También se puede observar el comportamiento de los sólidos en el infrarrojo por técnicas de reflectancia y por el método fotoacústico. Con frecuencia, estos espectros son similares a los

de absorción y proporcionan la misma clase de información. Estas técnicas se tratan en las secciones 17B y 17C.

17A.2 Análisis cualitativo

El uso generalizado de la espectroscopía en el infrarrojo medio por parte de los químicos para identificar compuestos orgánicos se inició a finales de los años cincuenta, con la aparición en el mercado de espectrofotómetros dispersivos de doble haz con registro, baratos y de fácil manejo que producían espectros en el intervalo de 5000 a 670 cm^{-1} (2 a $15\text{ }\mu\text{m}$). El surgimiento de este tipo de instrumentos, así como de los espectrómetros de resonancia magnética nuclear y de masas, revolucionó la forma en que los químicos identificaban las especies orgánicas, inorgánicas y biológicas. De repente, el tiempo necesario para realizar una determinación estructural se redujo de manera notable.

En la figura 17.5 hay cuatro espectros característicos obtenidos con un instrumento barato de doble haz. La identificación de un compuesto orgánico a partir de un espectro de este tipo es un proceso que consta de dos etapas. En la primera se determina qué grupos funcionales son los que tienen más probabilidad de estar presentes al examinar la *región de frecuencias de grupo*, que abarca la radiación comprendida entre 3600 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} aproximadamente (véase figura 17.5). La segunda etapa consiste en comparar con detalle el espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales que se encontraron en la primera etapa. En este caso es particularmente útil la región de la *huella dactilar*, comprendida entre 1200 cm^{-1} y 600 cm^{-1} (figura 17.5), debido a que pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de una molécula causan cambios importantes en el aspecto y la distribución de las bandas en esta región. Por tanto, una gran similitud en la región de huella dactilar (así como en otras) de los espectros de dos compuestos constituye una evidencia casi certera de que son idénticos.

Frecuencias de grupo

Ya se explicó que la frecuencia aproximada (o número de onda) a la que un grupo funcional, como $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}-\text{H}$, $\text{C}\equiv\text{C}$ u $\text{O}-\text{H}$, absorbe radiación en el infrarrojo se puede calcular a partir de las masas de los átomos y de la constante de fuerza del enlace entre ellos (ecuaciones 16.14 y 16.15). Estas frecuencias, denominadas *frecuencias de grupo*, rara vez permanecen invariables, debido a las interacciones con otras vibraciones asociadas a uno o a los dos átomos que forman el grupo. Por otra parte, los efectos de dichas interac-

ciones suelen ser pequeños; como consecuencia de ello, se puede asignar un intervalo de frecuencias dentro del cual es muy probable encontrar el máximo de absorción para un grupo funcional determinado. En la tabla 17.3 se enumeran las frecuencias de grupo para algunos de los grupos funcionales más comunes. Una presentación más detallada de las frecuencias de grupo se da en la *gráfica de correlación* que se muestra en la figura 17.6.³ Observe que aunque la mayoría de las frecuencias de grupo están en el intervalo de 3600 a 1250 cm^{-1} , algunas se encuentran en la región de la huella dactilar. Entre éstas están la vibración de estiramiento del grupo C—O—C a aproximadamente 1200 cm^{-1} y la vibración de estiramiento del enlace C—Cl entre 700 y 800 cm^{-1} .

³Otras gráficas de correlación se pueden encontrar en R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kienle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., cap. 2, Nueva York: Wiley, 2005.

En los cuatro espectros de la figura 17.5 se identifican varias frecuencias de grupo. Los cuatro espectros contienen una banda de absorción en el intervalo de 2900 a 3000 cm^{-1} , que corresponde a una vibración de estiramiento del enlace C—H e indica por lo general la presencia de uno o más grupos alcanos (vea la tabla 17.3). Los dos picos alrededor de 1375 cm^{-1} y 1450 cm^{-1} son también frecuencias de grupo características de los grupos C—H y resultan de las vibraciones de flexión en la molécula. En el espectro de la figura 17.5c se ilustra la frecuencia de grupo para una vibración de estiramiento del enlace O—H en alrededor de 3200 cm^{-1} así como las frecuencias de grupo de los alcanos. Estas bandas también están presentes en el espectro del *n*-hexanal que se muestra en la figura 16.12.

Por último, la frecuencia de grupo característica para la vibración de estiramiento del enlace C—Cl se muestra en el espectro 17.5d en alrededor de 800 cm^{-1} .

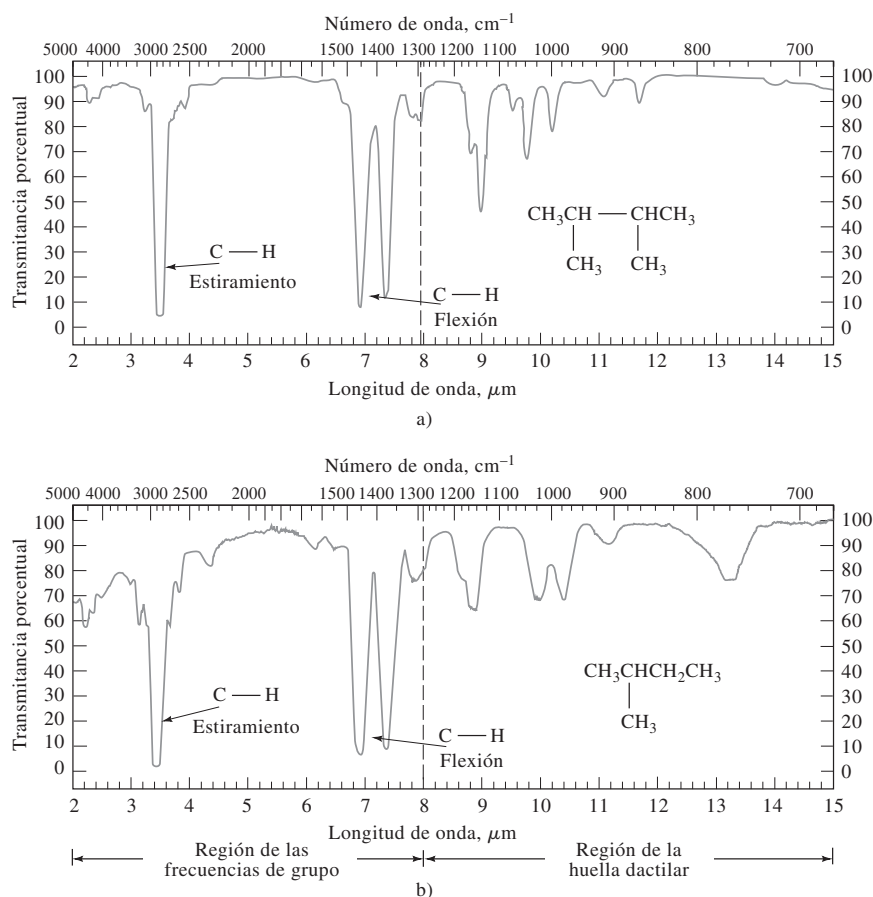


FIGURA 17.5 La región de las frecuencias de grupo del infrarrojo medio (~ 3600 a 1250 cm^{-1}) se utiliza para identificar grupos funcionales comunes. Con la región de la huella dactilar (~ 1200 a 600 cm^{-1}) se identifican compuestos. (Tomado de R. M. Roberts, J. C. Gilbert, L. B. Rodewald y A. S. Wingrove, *Modern Experimental Organic Chemistry*, 4a. ed., Filadelfia: Saunders, 1985. Con autorización.)

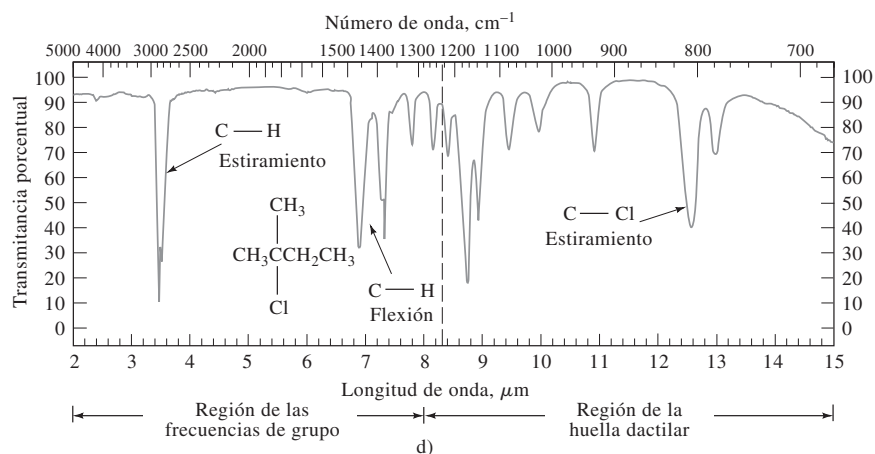
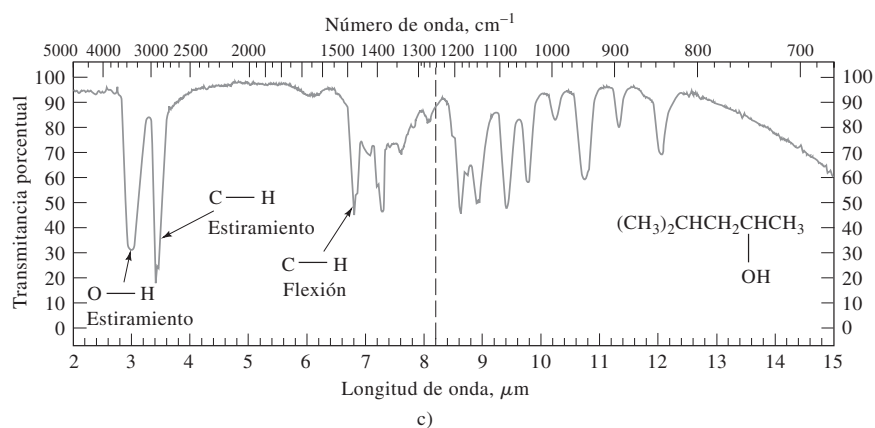


FIGURA 17.5 (continuación)

TABLA 17.3 Resumen de las frecuencias de grupo para grupos orgánicos funcionales.

Enlace	Tipo de compuesto	Frecuencias, cm^{-1}	Intensidad
C—H	Alcanos	2850–2970	Fuerte
		1340–1470	Fuerte
C—H	Alquenos ($>\text{C}=\text{C}<\text{H}$)	3010–3095	Media
		675–995	Fuerte
C—H	Alquinos ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3300	Fuerte
C—H	Anillos aromáticos	3010–3100	Media
		690–900	Fuerte
O—H	Alcoholes monoméricos, fenoles	3590–3650	Variable
	Alcoholes con puentes de hidrógeno, fenoles	3200–3600	Variable, a veces amplia
	Ácidos carboxílicos monoméricos	3500–3650	Media
	Ácidos carboxílicos con puentes de hidrógeno	2500–2700	Amplia
N—H	Aminas, amidas	3300–3500	Media
C=C	Alquenos	1610–1680	Variable
C=C	Anillos aromáticos	1500–1600	Variable
C≡C	Alquinos	2100–2260	Variable
C—N	Aminas, amidas	1180–1360	Fuerte
C≡N	Nitrilos	2210–2280	Fuerte
C—O	Alcoholes, éteres, ácidos carboxílicos, ésteres	1050–1300	Fuerte
C=O	Aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres	1690–1760	Fuerte
NO ₂	Compuestos nitro	1500–1570	Fuerte
		1300–1370	Fuerte



Las frecuencias de grupo y las tablas de correlación permiten hacer conjeturas inteligentes acerca de cuáles son los grupos funcionales con mayor probabilidad de estar presentes o ausentes en una molécula. Por lo general, es imposible reconocer sin ambigüedad el origen de todas las bandas presentes en un determinado espectro o establecer la identidad exacta de una molécula. Las frecuencias de grupo y las tablas de correlación sirven como punto de partida para el proceso de identificación.

Región de la huella dactilar

Pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de las moléculas dan lugar a cambios significativos en la distribución de los máximos de absorción en la región del espectro que se extiende desde alrededor de 1200 hasta 600 cm^{-1} (8 a 14 μm). Por consiguiente, la región de la huella dactilar sirve para identificar compuestos al comparar los espectros. La mayoría de los enlaces sencillos origina bandas de absorción a estas frecuencias; como sus energías son aproximadamente iguales, se producen interacciones fuertes entre los enlaces vecinos. Por tanto, las bandas de absorción son la combinación de estas distintas interacciones y dependen de la estructura del esqueleto completo de la molécula. Debido a la complejidad de los espectros, rara vez es posible interpretar en forma exacta los espectros en esta región. No obstante, para fines de identificación, la riqueza de las características de los espectros es una ventaja distintiva. Muchos compuestos contienen bandas de absorción únicas en esta región, lo cual es muy útil en la identificación final.

Las figuras 17.5a y b ilustran el carácter único de los espectros de infrarrojo, sobre todo en la región de la huella dactilar. Las dos moléculas difieren sólo en un grupo metilo, pero sus espectros son muy distintos en la región de la huella dactilar.

Como se muestra en la figura 17.6, algunos grupos inorgánicos, como sulfato, fosfato, nitrato y carbonato absorben radiación IR en la región de la huella dactilar ($<1200 \text{ cm}^{-1}$ o $>8.3 \mu\text{m}$).

Limitaciones del uso de las tablas de correlación

El establecimiento inequívoco de la identidad o estructura de un compuesto raras veces es posible con la sola ayuda de las tablas o gráficas de correlación. Con frecuencia surgen incertidumbres como consecuencia de la superposición de frecuencias de grupo, de las variaciones espectrales dependientes del estado físico de la muestra, es decir, si es una solución, una suspensión, una pastilla, etcétera, y las limitaciones de los instrumentos.

Cuando se usan las frecuencias de grupo, es esencial que se considere e interrelacione el espectro completo,

y no una pequeña parte. La interpretación basada en una parte del espectro se debe confirmar o rechazar mediante el estudio en otras regiones.

En resumen, las tablas de correlación sirven sólo como guía para un estudio posterior más minucioso. En algunas excelentes monografías se describe con detalle las características de absorción de los grupos funcionales.⁴ Un estudio de estas características, así como de las propiedades físicas de la muestra, pueden permitir la identificación inequívoca. La espectroscopía en el infrarrojo, cuando se utiliza en combinación con otros métodos como espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear y análisis elemental, hace posible, por lo general, la identificación de una especie.

Colecciones de espectros

Como ya se señaló, las gráficas de correlación pocas veces son suficientes para identificar de manera positiva un compuesto orgánico a partir de su espectro infrarrojo. Sin embargo, existen diversos catálogos de espectros infrarrojos que ayudan en la identificación cualitativa porque facilitan la comparación de los espectros con los de una gran cantidad de compuestos puros.⁵ La búsqueda manual en grandes catálogos de espectros es lenta y tediosa. Por esta razón, se utilizan mucho los sistemas que realizan esta indagación a través de una computadora.

Sistemas de búsqueda por computadora

En la práctica, todos los fabricantes de instrumentos de infrarrojo ofrecen sistemas de búsqueda por computadora para ayudar en la identificación de los compuestos a partir de la información sobre espectros de infrarrojo almacenados.⁶ La posición y la magnitud relativa de los picos del espectro del analito se determinan y almacenan en la memoria para dar un perfil, el cual luego se compara con los espectros de los compuestos puros almacenados en discos compactos con memoria de sólo lectura. Luego, la computadora los co-teja e imprime una lista de los que tienen espectros similares a los del analito. Por lo general, los espectros

⁴R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kienle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., Nueva York: Wiley, 2005; B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*, Nueva York: VCH, 1995; N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3a. ed., San Diego: Academic Press, 1990.

⁵Véase Informatics/Sadtler Group, Bio-Rad Laboratories, Inc., Filadelfia, PA; C. J. Pouchert, *The Aldrich Library of Infrared Spectra*, 3a. ed., Milwaukee, WI: Aldrich Chemical Co., 1981; Thermo Galactic, *Spectra Online* (<http://spectra.galactic.com>).

⁶Véase E. Pretsch, G. Toth, M. E. Monk y M. Badertscher, *Computer-Aided Structure Elucidation: Spectra Interpretation and Structure Generation*, Nueva York: VCH-Wiley, 2003; B. C. Smith, *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1998, cap. 9; W. O. George y H. Willis, *Computer Methods in UV, Visible and IR Spectroscopy*, Nueva York: Springer-Verlag, 1990.

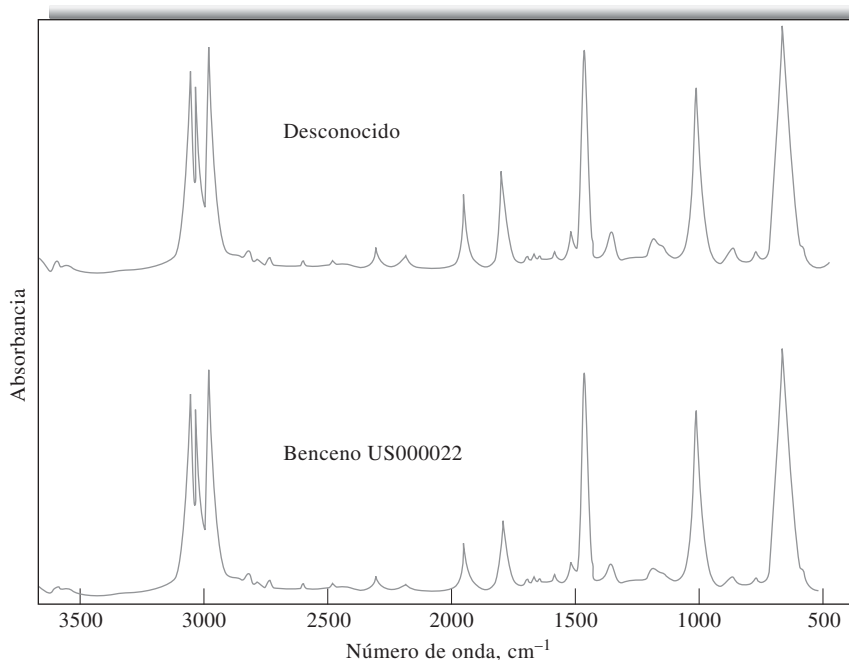


FIGURA 17.7 Representación de un espectro desconocido y del más parecido después de una búsqueda por computadora. (Cortesía de Informatics/Sadtler Group, Bio-Rad Laboratories, Inc., Filadelfia, PA.)

del analito y del compuesto probable se muestran en forma simultánea en la pantalla de la computadora para compararlos, como se puede ver en la figura 17.7.

En 1980 ya se disponía de programas para computadora de la Sadtler Standard IR Collection y de la Sadtler Commercial IR Collection. En la actualidad, estas colecciones contienen más de 220 000 espectros.⁷ Entre ellos hay espectros de compuestos puros en fase gaseosa y en fase condensada. Hay disponibles bases de datos individuales en áreas de aplicación, como polímeros, productos industriales, compuestos orgánicos puros, ciencias forenses y ambiente. Varios fabricantes de instrumentos IR de transformada de Fourier ya incorporaron estos programas informáticos en las computadoras de sus instrumentos, con lo que se dispone de manera instantánea de colecciones de espectros infrarrojos de cientos de miles de compuestos.

El algoritmo de Sadtler constituye un sistema de búsqueda en que el espectro del compuesto desconocido se codifica de acuerdo con la ubicación de su pico de absorción más elevado; luego, se codifica por su ubicación cada una de las bandas intensas adicionales ($%T < 60\%$) en 10 regiones de 200 cm^{-1} de ancho desde 4000 hasta 2000 cm^{-1} . Por último, se codifi-

can de forma similar las bandas intensas en 17 regiones de 100 cm^{-1} de ancho desde 2100 hasta 400 cm^{-1} . Los compuestos se codifican de la misma forma en la colección. Los datos se organizan de acuerdo con la posición de la banda más intensa y sólo se consideran con fines de identificación los compuestos en los cuales esta misma banda es la más intensa. Este procedimiento es rápido y da como resultado una lista de compuestos probables en un periodo muy corto. Por ejemplo, se necesitan sólo algunos segundos para buscar una colección básica de 50 000 compuestos mediante este procedimiento.

Además de los sistemas de búsqueda, la inteligencia artificial apoyada con programas para computadora trata de determinar la estructura o subestructura a partir de los perfiles de los espectros. En algunos de estos programas se utilizan datos provenientes de diferentes tipos de instrumentos, como espectrómetros de resonancia magnética nuclear, de masas y para el infrarrojo, con el fin de determinar estructuras.⁸

17A.3 Aplicaciones cuantitativas

Los métodos cuantitativos de absorción en el infrarrojo difieren un poco de los métodos espectroscópicos moleculares de ultravioleta/visible debido a la mayor complejidad de los espectros, a la estrechez de las ban-

⁷Véase nota 5.



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **interpretación e identificación de los espectros en el infrarrojo**.

⁸Por ejemplo, véase, M. E. Munk, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1998**, 38, p. 997.

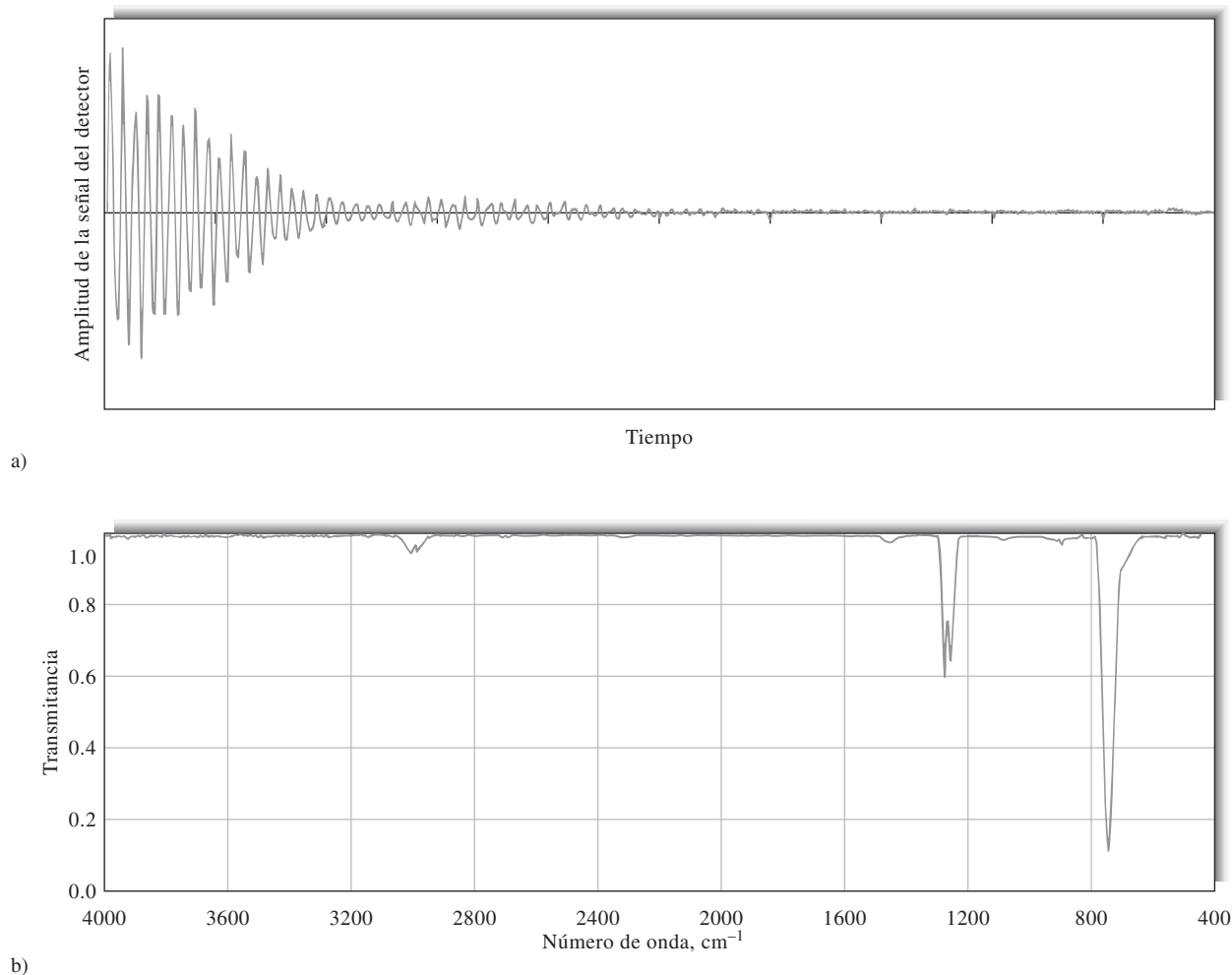


FIGURA 17.8 a) Interferograma obtenido a partir de un espectrómetro representativo IR de transformada de Fourier para el cloruro de metileno. En la gráfica se muestra la señal de salida del detector en función del tiempo o del desplazamiento del espejo móvil del interferómetro. b) Espectro IR del cloruro de metileno producido por la transformación de Fourier de los datos de a). Observe que la transformada de Fourier toma la intensidad de la señal colectada en función del tiempo y produce transmitancia en función de la frecuencia después de la sustracción de un interferograma de fondo y de la determinación de una escala adecuada.

das de absorción y a las limitaciones instrumentales de los instrumentos IR. Por lo general, los datos cuantitativos que se obtienen con los antiguos instrumentos dispersivos de infrarrojo son de menor calidad que los que se obtienen con los espectrofotómetros ultravioleta/visible. La precisión y la exactitud de las mediciones con los instrumentos para infrarrojo de transformada de Fourier son claramente mejores que las de los instrumentos dispersivos. Sin embargo, para obtener resultados de buena calidad es esencial prestar una atención meticulosa a los detalles.⁹

⁹Para analizar la espectroscopia IR de la transformada de Fourier véase B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1995; P. R. Griffiths y J. A. deHasech, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1986.

Desviaciones de la ley de Beer

Con la radiación infrarroja, las desviaciones instrumentales respecto a la ley de Beer son más comunes que con la radiación ultravioleta y visibles porque las bandas de absorción son relativamente estrechas. Además, con los instrumentos dispersivos, la baja intensidad de las fuentes y las bajas sensibilidades de los transductores en esta región requieren el uso de anchuras de rendija del monocromador relativamente amplias; por consiguiente, las anchuras de banda que se emplean son a menudo del mismo orden de magnitud que la anchura de los picos de absorción. Ya se señaló en la sección 13B.2 que esta combinación de circunstancias causa por lo general una relación no lineal entre la absorbancia y la concentración. Asimismo,

de acuerdo con la sección 16B.1, los instrumentos de transformada de Fourier para infrarrojo muestran mejores características de funcionamiento. Entonces, las desviaciones respecto a la ley de Beer no son tan graves como con los instrumentos dispersivos. En cualquier caso, el análisis cuantitativo requiere por lo general curvas de calibración determinadas empíricamente.

Medición de la absorbancia

En las regiones ultravioleta y visible se suelen emplear celdas de absorción emparejadas para el disolvente y la solución, de esta manera la absorbancia se obtiene mediante la relación

$$A = \log \frac{P_{\text{solvente}}}{P_{\text{solución}}}$$

La utilización del solvente en una celda emparejada como absorbente de referencia tiene la ventaja de anular en gran parte los efectos de la pérdida de radiación por reflexión en las distintas interfases, de la dispersión y la absorción por parte del solvente, y de la absorción en las ventanas del recipiente. Esta técnica rara vez resulta adecuada para mediciones en la región infrarroja debido a la dificultad de obtener celdas cuyas características de transmisión sean idénticas. La mayoría de las celdas para el infrarrojo posee una longitud de trayectoria muy corta, lo cual dificulta la reproducción exacta. Además, las ventanas de las celdas son atacadas con facilidad por los contaminantes de la atmósfera y los solventes. Por esta razón, sus características de transmisión cambian de manera continua con el uso. Por estas razones, al trabajar en el infrarrojo, a menudo se prescinde totalmente del absorbente de referencia y la intensidad del haz que atraviesa la muestra se compara con la de un haz que no atraviesa obstáculos. En ambos casos, la transmitancia resultante es por lo general menor que 100%, incluso en las regiones del espectro donde la muestra no absorbe (véase figura 17.5).

Por lo que se refiere al trabajo cuantitativo, es necesario corregir los efectos de la radiación dispersada y absorbida por el solvente y la celda. Se utilizan dos métodos. En el procedimiento llamado *celda dentro-celda fuera* se obtienen sucesivamente los espectros del solvente puro y de la solución del analito respecto al haz de referencia sin obstáculos. Se utiliza la misma celda para ambas mediciones. Luego se determina la transmitancia de cada solución respecto a la del haz de referencia en un máximo de absorción del analito. Estas transmitancias se pueden expresar como

$$T_0 = P_0/P_r$$

y

$$T_s = P/P_r$$

donde P_r es la potencia del haz sin obstáculos y T_0 y T_s son las transmitancias del solvente y de la solución del analito, respectivamente, respecto a esta referencia. Si P_r permanece constante durante las dos mediciones, entonces puede obtenerse la transmitancia de la muestra respecto a la del solvente dividiendo ambas ecuaciones. Es decir,

$$T = T_s/T_0 = P/P_0$$

Con los modernos espectrómetros de transformada de Fourier para infrarrojo, el interferograma de referencia se obtiene sin muestra en la celda de la muestra. Luego se coloca la muestra en la celda y se obtiene un segundo interferograma. En la figura 17.8a se ilustra un interferograma obtenido mediante un espectrómetro de transformada de Fourier con cloruro de metileno, CH_2Cl_2 , en la celda de la muestra. Se aplica entonces la transformada de Fourier a los dos interferogramas para determinar los espectros IR de la referencia y de la muestra. La relación entre los dos espectros se puede calcular para tener un espectro IR del analito como el que se ilustra en la figura 17.8b.

Otra forma de obtener P_0 y T para una sola banda de absorción es el método de la línea base. En el caso de un instrumento que despliega transmitancia, se supone que la transmitancia del solvente es constante, o al menos cambia en forma lineal entre los “hombros” del pico de absorción, como se ilustra en la figura 17.9. Las cantidades T_0 y T_s se obtienen entonces como se muestra en la figura. En el caso de una lectura directa, como se puede ver en la figura 17.7, se supone que la absorbancia es constante o que cambia en forma lineal bajo la banda de absorción. La absorbancia del pico se determina luego restando la absorbancia de la línea base.

Aplicaciones típicas

Con la excepción de las moléculas homonucleares, todas las especies moleculares orgánicas e inorgánicas absorben radiación en la región del infrarrojo. Por consiguiente, la espectrofotometría en el infrarrojo ofrece

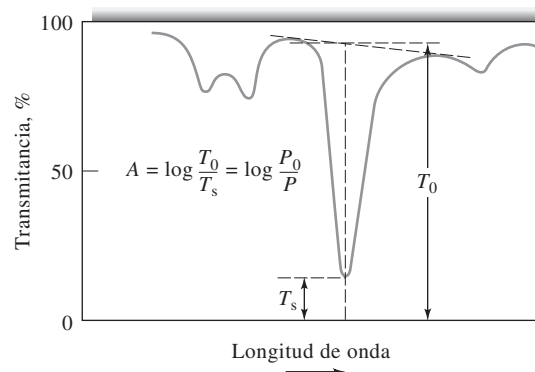


FIGURA 17.9 Método de la línea base para la determinación de la absorbancia de un máximo de absorción.

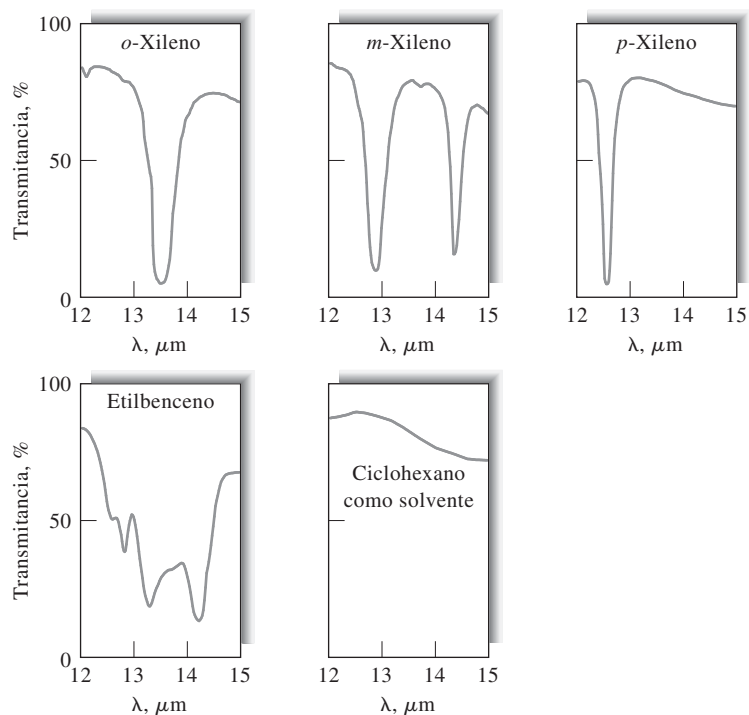


FIGURA 17.10 Espectros de los isómeros C_8H_{10} en ciclohexano.

la posibilidad de determinar un número extraordinariamente grande de sustancias. Además, la singularidad del espectro infrarrojo lleva a un grado de especificidad que es igualado o superado por relativamente pocos métodos analíticos. Esta especificidad encontró una aplicación particular en el análisis de mezclas de compuestos orgánicos estrechamente relacionados. A continuación se presentan dos ejemplos que ilustran estas aplicaciones.

Análisis de una mezcla de hidrocarburos aromáticos.

Una aplicación característica de la espectroscopía en el infrarrojo cuantitativa es la resolución de los isómeros C_8H_{10} en una mezcla que incluye *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno y etilbenceno. En la figura 17.10 se muestran los espectros de absorción en el infrarrojo de los componentes individuales, disueltos en ciclohexano, en el intervalo de 12 a 15 μm . Las bandas de absorción útiles para la determinación de los componentes individuales aparecen a 13.47, 13.01, 12.58 y 14.36 μm , respectivamente. Por desgracia, la absorbancia de una mezcla a cualquiera de estas longitudes de onda no se puede atribuir a la concentración de un único componente debido al traslape de las bandas de absorción. Por tanto, es necesario determinar las absorptividades molares de cada uno de los compuestos en las cuatro longitudes de onda. Luego se escriben cuatro ecuaciones simultáneas con las cuales se calcula la concentración de cada especie a partir de cuatro medidas de absorbancia (véase la sección 14D.2). Por otro lado, las téc-

nicas quimiométricas, como los métodos analíticos factoriales,¹⁰ pueden utilizar regiones espectrales completas para determinar cada uno de los componentes. Dichos métodos se pueden aplicar aun cuando la relación entre absorbancia y concentración no sea lineal, como ocurre con frecuencia en la región IR.

Determinación de contaminantes atmosféricos. La reciente proliferación de normas oficiales respecto a los contaminantes atmosféricos requirió el perfeccionamiento de métodos sensibles, rápidos y altamente específicos para una variedad de compuestos químicos. Los procedimientos basados en la absorción en el infrarrojo parecen cumplir estos requisitos mejor que cualquier otra herramienta analítica sencilla.

¹⁰E. R. Malinowski, *Factor Analysis in Chemistry*, 3a. ed., Nueva York: Wiley, 2002.

TABLA 17.4 Un ejemplo del análisis IR de contaminantes del aire.

Contaminante	Concent., ppm	Encontrado, ppm	Error relativo, %
Monóxido de carbono	50.0	49.1	1.8
Metiletilcetona	100.0	98.3	1.7
Metanol	100.0	99.0	1.0
Óxido de etileno	50.0	49.9	0.2
Cloroformo	100.0	99.5	0.5

Cortesía de Thermo Electron Corp.

TABLA 17.5 Determinación IR de gases de acuerdo con la OSHA.

Compuesto	Exposición permitida, ppm*	Longitud de onda, μm	Concentración mínima detectable, ppm [†]
Disulfuro de carbono	4	4.54	0.5
Cloropreno	10	11.4	4
Diborano	0.1	3.9	0.05
Etilendiamina	10	13.0	0.4
Cianuro de hidrógeno	4.7 [‡]	3.04	0.4
Metilmercaptano	0.5	3.38	0.4
Nitrobenceno	1	11.8	0.2
Piridina	5	14.2	0.2
Dióxido de azufre	2	8.6	0.5
Cloruro de vinilo	1	10.9	0.3

Cortesía de Thermo Electron Corp.

*Límites de exposición para una media ponderada de ocho horas de acuerdo con la OSHA 1992-1993.

[†]Para celdas de 20.25 m.

[‡]Límite de exposición a corto plazo: promedio ponderado de tiempo de 15 minutos que no se excederá en ningún momento durante el día de trabajo.

En la tabla 17.4 se señalan las posibilidades de la espectroscopía en el infrarrojo para el análisis de mezclas de gases. Una muestra patrón de aire, que contenía cinco especies de concentraciones conocidas, se analizó con una versión computarizada del instrumento que se muestra en la figura 16.13; se utilizó una celda para gases de 20 m. Los datos se imprimieron después de uno o dos minutos de haber introducido la muestra.

En la tabla 17.5 se presentan las posibles aplicaciones de los fotómetros de filtro para el infrarrojo, como el que se observa en la figura 16.13, para la determinación cuantitativa de diversas sustancias químicas presentes en la atmósfera, con el fin de asegurar el cumplimiento de las normas fijadas por la *Occupational Safety and Health Administration*, OSHA.

De las más de 400 sustancias químicas para las cuales la OSHA ha establecido los límites máximos de tolerancia, más de la mitad posee características de absorción adecuadas para su análisis en el infrarrojo mediante fotómetros de filtros o espectrofotómetros para el infrarrojo. Es evidente que con todos estos compuestos absorbentes es de esperar que haya superposición entre sus bandas, pero aun así, el método proporciona un grado bastante elevado de selectividad.

Inconvenientes y limitaciones de los métodos de infrarrojo cuantitativos

Hay varios inconvenientes en el análisis cuantitativo mediante espectrometría en el infrarrojo. Entre ellos figura el frecuente incumplimiento de la ley de Beer y la complejidad de los espectros. La riqueza de las características de los espectros aumenta la probabilidad de que se traslapen las bandas de absorción. Además, con los instrumentos dispersivos antiguos, las bandas

angostas y el efecto de la radiación parásita hacen que las mediciones de la absorbancia dependan de forma determinante de la anchura de la rendija y de los parámetros de la longitud de onda. Por último, las celdas angostas que se requieren para muchos análisis son poco prácticas de utilizar y ocasionan importantes incertidumbres analíticas. Por estas razones, los errores analíticos en un análisis infrarrojo cuantitativo, incluso poniendo mucho cuidado y esfuerzo, pocas veces pueden reducirse a la escala de los que se producen con los métodos ultravioleta y visible.

17B ESPECTROMETRÍA DE REFLEXIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO

La espectroscopía de reflexión en el infrarrojo ha encontrado varias aplicaciones, sobre todo en el caso de muestras sólidas difíciles de manipular, como películas y fibras de polímeros, alimentos, cauchos, productos agrícolas y muchos otros.¹¹ Los espectros de reflexión en el infrarrojo medio, aunque no son idénticos a los correspondientes espectros de absorción, en general tienen apariencia similar y proporcionan la misma información que sus equivalentes de absorción. Los espectros de reflectancia se pueden utilizar tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo. La mayoría de los actuales fabricantes de instrumentos ofrecen adaptadores que se instalan dentro de los compartimientos de las celdas de los instrumentos de absorción infrarroja y facilitan la obtención de espectros de reflexión.

¹¹ Véase F. M. Mirabella, ed., *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1998; G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*, Nueva York: Springer, 1969; N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1967.

17B.1 Tipos de reflexión

La reflexión de la radiación es de cuatro tipos: *reflexión especular*, *reflexión difusa*, *reflexión interna* y *reflectancia atenuada total*. Hay reflexión especular cuando el medio reflectante es una superficie uniformemente pulida. En este caso, el ángulo de reflexión es idéntico al ángulo de incidencia de la radiación. Si la superficie contiene una sustancia capaz de absorber radiación infrarroja, la intensidad relativa de la reflexión es menor para las longitudes de onda que son absorbidas que para las que no lo son. Por consiguiente, la representación gráfica de la reflectancia R , que es la fracción de la energía radiante incidente reflejada, contra la longitud de onda o número de onda, proporciona un espectro para un compuesto que es similar, en su aspecto general, al espectro de transmisión de la especie. Los espectros de reflexión especular se pueden utilizar para el examen y caracterización de las superficies lisas de sólidos y de sólidos revestidos, pero no se utilizan tanto como los espectros de reflexión difusa y total. Por tal razón, este apartado se centra en estos dos últimos.

17B.2 Espectrometría de reflectancia difusa

La espectrometría de transformada de Fourier y reflectancia difusa infrarroja (DRIFTS, por sus siglas en inglés) es una forma eficaz de obtener directamente espectros infrarrojos a partir de muestras pulverizadas con un mínimo de preparación de las mismas.¹² Además de ahorrar tiempo en la preparación de la muestra, facilita la obtención de datos espectrales en la región ordinaria del infrarrojo de muestras que no han sufrido una alteración importante en su estado original. Para que las mediciones de reflectancia difusa tuvieran un uso extendido fue necesario esperar hasta disponer de instrumentos de transformada de Fourier, a mediados de los años setenta, porque la intensidad de la radiación que refleja una muestra pulverizada es demasiado baja para poder medirla con instrumentos dispersivos con una resolución media y relaciones señal-ruido adecuadas.

La reflexión difusa es un proceso complejo que tiene lugar cuando un haz de radiación choca con la superficie de un polvo fino. En este tipo de muestras se produce una reflexión especular en cada superficie plana. Sin embargo, como hay múltiples superficies planas y se encuentran orientadas en forma aleatoria, la radiación se refleja en todas direcciones. Es característico que la intensidad de la radiación reflejada sea más o menos independiente del ángulo de visión.

Ya hay varios modelos que se han desarrollado para describir la intensidad de la radiación reflejada difusa en términos cuantitativos. El más utilizado de ellos es el que crearon Kubelka y Munk.¹³ Fuller y Griffiths, al analizar este modelo, demostraron que la intensidad de la reflectancia relativa para un polvo $f(R'_\infty)$ se obtiene con¹⁴

$$f(R'_\infty) = \frac{(1 - R'_\infty)^2}{2R'_\infty} = \frac{k}{s}$$

donde R'_∞ es el cociente de la intensidad reflejada por la muestra entre la de un patrón no absorbente, como el cloruro de potasio finamente pulverizado. La cantidad k es el coeficiente de absorción molar del analito y s es el coeficiente de dispersión. Para una muestra diluida, k está relacionado con la absortividad molar ϵ y la concentración molar del analito c mediante la relación

$$k = 2.303\epsilon c$$

Entonces, los espectros de reflectancia son una representación gráfica de $f(R'_\infty)$ contra el número de onda (véase figura 17.12b).

Instrumentos

En la actualidad, la mayoría de los fabricantes de instrumentos IR de transformada de Fourier ofrece unos adaptadores que se instalan en los compartimientos de las celdas y permiten realizar mediciones de reflectancia difusa. En la figura 17.11 se ilustra un tipo de adaptador. El haz colimado, procedente del interferómetro, se dirige a un espejo elipsoidal y después a la muestra. Por lo general, la muestra está en forma de polvo y mezclada con KBr o KCl como diluyente. Entonces la mezcla se coloca en un recipiente de 3 a 4 mm de profundidad y de casi 10 a 15 mm de diámetro. Una combinación complicada de reflexión, absorción y dispersión ocurre antes de que el haz se dirija hacia el detector.

Para obtener un espectro con un instrumento de haz sencillo, primero se almacena la señal de la muestra. Se registra una señal de referencia con un buen reflector, como el KBr o el KCl finamente molido colocado en lugar de la muestra. La reflectancia se obtiene con el cociente de estas señales.

Comparación de los espectros de absorción y de reflexión

En la figura 17.12 se compara el espectro de absorción IR ordinario del carbazol obtenido mediante una pastilla de KBr con el espectro de reflectancia difusa de una mezcla finamente molida de carbazol en cloruro

¹²Para información adicional, véase M. Milosevic, S. L. Berets, *Appl. Spectrosc. Rev.*, **2002**, 37, p. 347; P. R. Griffiths y M. P. Fuller en *Advances in Infrared and Raman Spectroscopy*, R. J. H. Clark y R. E. Hester, eds., vol. 9, cap. 2, Londres: Heydon and Sons, 1982.

¹³P. Kubelka y E. Munk, *Tech. Phys.*, **1931**, 12, p. 593; P. Kubelka, *J. Opt. Soc. Am.*, **1948**, 38, p. 448.

¹⁴M. P. Fuller y P. R. Griffiths, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, p. 1906.

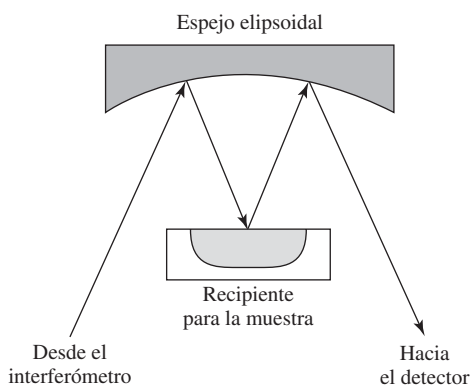


FIGURA 17.11 Accesorio de reflectancia difusa para un espectrómetro IR de transformada de Fourier.

de potasio a 5%. Observe que la ubicación de los picos es la misma en ambos espectros, pero su altura relativa difiere en forma considerable. Las diferencias son características, los picos secundarios aparecen por lo regular más grandes en el espectro de reflexión.

17B.3 Espectrometría de reflectancia atenuada total

La espectroscopía de reflexión interna es una técnica que permite obtener espectros infrarrojos de muestras que presentan alguna dificultad, como sólidos de limitada solubilidad, películas, fibras, pastas, adhesivos y polvos.¹⁵

Principios

Cuando un haz de radiación pasa de un medio denso a uno menos denso, hay reflexión. La fracción del haz incidente que se refleja es mayor a medida que aumenta el ángulo de incidencia; más allá de un cierto ángulo crítico, la reflexión es completa. Teóricamente está demostrado que durante el proceso de reflexión el haz penetra una cierta distancia en el medio menos denso antes de reflejarse. La profundidad de penetración, que puede variar desde una fracción de longitud de onda hasta varias longitudes de onda, depende de la longitud de onda, del índice de refracción de los dos materiales y del ángulo que forma el haz incidente con la interfase. La radiación que penetra se denomina *onda evanescente*. A longitudes de onda en las que el medio menos denso absorbe la radiación evanescente, ocurre atenuación del haz, lo cual se conoce como *reflectancia atenuada total* (ATR, por sus siglas

en inglés). El espectro de reflectancia atenuada total resultante se parece al espectro ordinario infrarrojo, aunque con algunas diferencias.

Instrumentos

En la figura 17.13 se ilustra un aparato para la medición de la reflectancia atenuada total. Como se puede apreciar en la figura superior, la muestra, en este caso, un sólido, se coloca sobre las caras opuestas de un material cristalino transparente con un alto índice de refracción. Al efectuar ajustes adecuados del ángulo incidente, la radiación experimenta múltiples reflexiones internas antes de pasar del cristal al detector. En cada una de esas reflexiones tiene lugar la absorción y la atenuación.

En la figura 17.13b se muestra un esquema óptico de un adaptador que se instala dentro del área de la celda de la mayor parte de los espectrómetros de infrarrojo y permite medir la reflectancia atenuada total. También hay celdas para muestras líquidas.

Espectros de reflectancia atenuada total

Estos espectros son similares a los espectros de absorción ordinarios. En general, se observan los mismos picos, pero sus intensidades relativas son distintas. Las absorbancias, aunque dependen del ángulo de inciden-

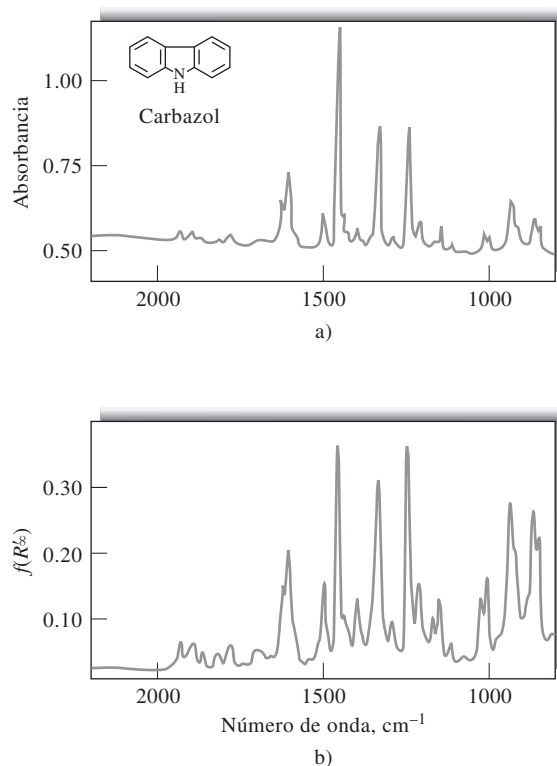


FIGURA 17.12 a) Comparación del espectro de absorción del carbazol con su espectro de reflectancia difusa.

¹⁵ Véase F. M. Mirabella, ed., *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1998; G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*, Nueva York: Springer, 1969; N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1967.

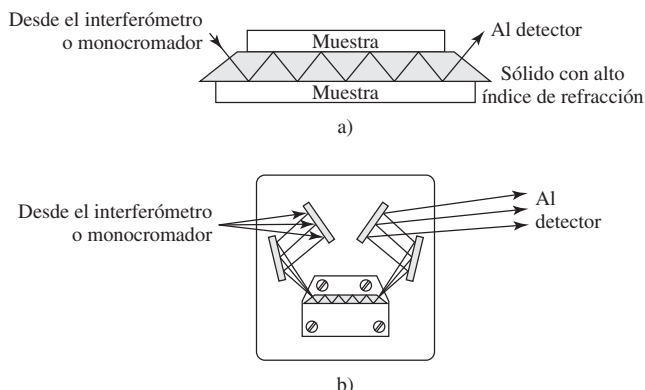


FIGURA 17.13 Aparato de reflectancia atenuada total. En a) se ilustra una muestra sólida colocada sobre un cristal interno de reflexión con alto índice de refracción. Entre los materiales utilizados como cristales de reflectancia atenuada total están KRS-5, AgCl, Ge, Si y los materiales Irtran. Las muestras sólidas se pueden someter a presión contra el cristal para lograr un contacto óptico. En b) se muestra un accesorio representativo para reflectancia atenuada total. Con muchos aparatos, la placa de reflexión interna se puede colocar en el portamuestras para proporcionar varios ángulos de incidencia.

cia, son independientes del espesor de la muestra debido a que la radiación sólo penetra unos pocos micrometros en ella. La *profundidad de penetración efectiva* d_p depende de la longitud de onda del haz, de los índices de refracción del cristal y de la muestra y del ángulo del haz. La profundidad de penetración se calcula con

$$d_p = \frac{\lambda_c}{2\pi \left[\sin^2 \theta - (n_s/n_c)^2 \right]^{1/2}}$$

donde λ_c es la longitud de onda del cristal (λ/n_c), θ es el ángulo de incidencia n_s y n_c son los índices de refracción de la muestra y del cristal, respectivamente. Observe que la profundidad de penetración efectiva puede cambiar si se cambia el material del cristal, el ángulo de incidencia o ambos. Es posible obtener un perfil de profundidades de una superficie mediante espectroscopia de reflectancia atenuada total. En la práctica, un cristal de reflexión múltiple con un ángulo de 45° se acomoda a la mayor parte de las muestras de rutina.

Una de las principales ventajas de la espectroscopia de reflectancia atenuada total es que, con una mínima preparación, se pueden obtener con facilidad los espectros de absorción de una gran variedad de tipos de muestras. Se pueden estudiar hilos, telas y fibras comprimiendo las muestras sobre el cristal denso. De una forma semejante se puede manipular pastas, polvos o suspensiones. También se pueden analizar soluciones

acuosas siempre que el cristal sea insoluble en agua. Hay hasta celdas para flujo de reflectancia atenuada total. La espectroscopia de reflectancia atenuada total se aplica en muchas sustancias, como polímeros, cauchos y otros sólidos. Es interesante subrayar que los espectros resultantes están libres de las franjas de interferencia ya mencionadas.

Los espectros que se obtienen con los métodos de reflectancia atenuada total difieren de los espectros de absorción en el infrarrojo debido a las distorsiones que ocurren cerca de las bandas de absorción intensas, donde el índice de refracción de la muestra cambia algunas veces con rapidez. Asimismo, la orientación de la muestra en el cristal de reflectancia atenuada total tiene la aptitud de influir en las formas de las bandas y en las intensidades relativas. No obstante, la intensidad de la banda de reflectancia atenuada total por lo regular es proporcional a la concentración, de modo que se pueden efectuar las mediciones cuantitativas.

17C ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA EN EL INFRARROJO

Esta técnica proporciona una manera de obtener espectros de absorción en el ultravioleta, en la región visible y en el infrarrojo de sólidos, semisólidos y líquidos turbios.¹⁶ Por lo general, la obtención de los espectros de estos materiales mediante métodos ordinarios es cuando menos difícil o casi imposible debido a la dispersión de la luz y a la reflexión de la misma.

17C.1 Efecto fotoacústico

La espectroscopia fotoacústica infrarroja se basa en un efecto de absorción de la luz que investigaron por primera vez Alexander Graham Bell y otros alrededor de 1880. Se observa este efecto cuando se irradia un gas que está adentro de una celda con un haz que ha pasado a través de un troceador. La longitud de onda de la radiación de este haz es tal que la absorbe el gas. La radiación absorbida ocasiona calentamiento periódico del gas, lo cual da como resultado fluctuaciones de presión dentro de la cámara. Si la tasa de modulación o corte (*chopping rate*) queda dentro del intervalo de la frecuencia acústica, estos impulsos de presión se pueden detectar mediante un micrófono sensible. El efecto fotoacústico se utiliza desde principios del siglo XX para analizar los gases absorbentes, pero adquirió nueva importancia a últimas fechas con el surgimiento de los rayos láser sintonizables para el infrarrojo como

¹⁶ Véase K. H. Michaelian, *Photoacoustic Infrared Spectroscopy*, Hoboken, NJ: Wiley, 2003.

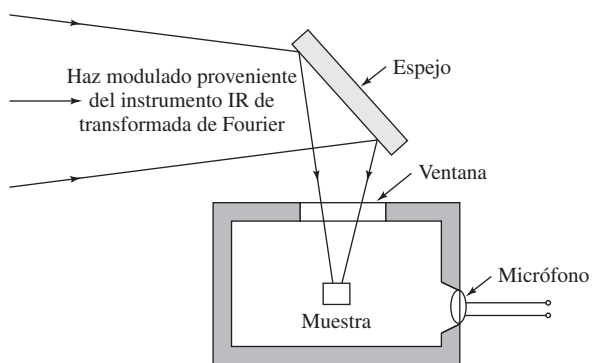


FIGURA 17.14 Diagrama de un aparato fotoacústico para un espectrómetro IR de transformada de Fourier.

fuentes. Sin embargo, tiene mayor importancia el uso actual del efecto fotoacústico para obtener espectros de absorción de sólidos y líquidos turbios.

17C.2 Espectros fotoacústicos en el infrarrojo

La espectroscopía fotoacústica en el infrarrojo tenía aplicaciones limitadas antes de que surgieran los instrumentos de transformada de Fourier en el infrarrojo. En la actualidad, varios fabricantes producen accesorios fotoacústicos para instrumentos IR de transformada de Fourier. En las mediciones fotoacústicas, la muestra se coloca en un recipiente pequeño dentro del accesorio fotoacústico que se ilustra en la figura 17.14. La cámara del espectrómetro fotoacústico se llena con un gas de alta conductividad térmica, como helio o nitrógeno, y se coloca en el compartimiento de la muestra. El espejo mostrado desvía el haz modulado sobre la muestra. Cuando la muestra absorbe el haz infrarrojo el resultado es un decaimiento no radiativo de los estados vibracionales excitados de las moléculas de la muestra. Esto puede transferir calor a la superficie de la muestra y ocasionar la generación de una onda acústica modulada en el gas que está dentro de la cámara. Un micrófono muy sensible detecta la onda acústica.

Por lo general, los espectros fotoacústicos se grafican en un formato similar al de los espectros de absorción, como se muestra en la figura 17.15. Los espectros se grafican como una razón respecto a un barrido de fondo de un material totalmente absorbente como el negro de carbón. Aunque las frecuencias de las transiciones son las mismas que en los espectros de absorción, las intensidades relativas dependen de la longitud de onda y de la frecuencia de modulación.

Los espectros fotoacústicos se obtienen en muestras con casi ninguna preparación. El único requisito es que la muestra se ajuste al portamuestras. Aparte de usarse con sólidos y líquidos turbios, los métodos fotoacústicos se utilizan para detectar los componen-

tes de mezclas separadas por cromatografía en capa fina y por cromatografía de líquidos de alta resolución, así como para supervisar las concentraciones de los contaminantes gaseosos de la atmósfera.

17D ESPECTROSCOPÍA EN EL INFRARROJO CERCANO

La región espectral del infrarrojo cercano se extiende desde el extremo superior de longitudes de onda de la región visible, en alrededor de 770 nm a 2500 nm (de 13 000 a 4000 cm^{-1}).¹⁷ Las bandas de absorción en esta zona son sobretonos o combinaciones (sección 16A.4) de las bandas vibracionales de tensión fundamentales que se producen en la región de 3000 a 1700 cm^{-1} . Por lo general, los enlaces afectados son C—H, N—H, y O—H. Puesto que se trata de sobretonos o bandas de combinación, sus absorptividades molares son pequeñas y los límites de detección son del orden de 0.1%.

A diferencia de la espectrometría en el infrarrojo medio, los usos más importantes de la radiación en el infrarrojo cercano son los relacionados con la determinación *cuantitativa* de especies, como agua, proteínas, hidrocarburos de bajo peso molecular y grasas en productos agrícolas, alimentos, petróleo y de la industria química. Se utilizan tanto las medidas de reflexión difusa como las de transmisión, aunque la reflectancia difusa, con mucho, es la que más se utiliza.

¹⁷ Consulte el *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 2a. ed., D. A. Burns y E. W. Ciurczak, eds., Nueva York: Marcel Dekker, 2001, si desea una referencia general sobre la región del infrarrojo cercano. Para un panorama de los instrumentos comerciales, vea C. M. Henry, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 625A. En las publicaciones sobre espectrometría en la región del infrarrojo cercano, la abscisa es por lo regular la *longitud de onda* en nanómetros o micrómetros en contraste con los espectros en el infrarrojo medio en los que la abscisa es el número de onda en unidades de cm^{-1} .

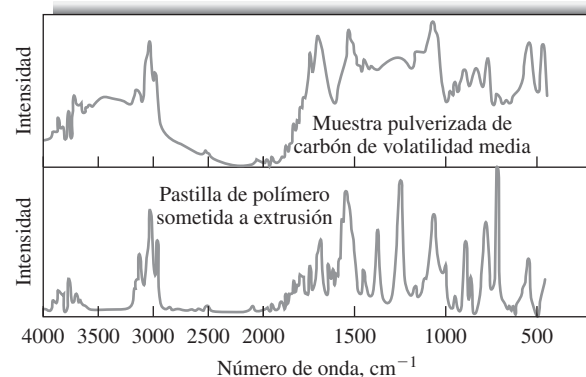


FIGURA 17.15 Espectros IR fotoacústicos de a) una muestra de carbón pulverizada y b) una pastilla de polímero sometida a extrusión. (Tomado de *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, P. B. Coleman, ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.)

17D.1 Instrumentos

Hay cuatro tipos distintos de instrumentos para la región del infrarrojo cercano. Los instrumentos de red son similares a los que se utilizan en la espectroscopía de absorción en la región UV-visible. Asimismo, hay instrumentos discretos con filtros que, por lo regular, contienen una rueda con éstos para elegir diferentes longitudes de onda. Son menos flexibles que otros instrumentos, pero útiles para muestras fijas bien caracterizadas. Además, hay instrumentos de filtro fotoacústico sintonizable, este último es un dispositivo de estado sólido que difracta la radiación a longitudes de onda determinadas por medio de una señal de radiofrecuencia aplicada al cristal. La rapidez y la resistencia son las ventajas principales de los dispositivos con filtros fotoacústicos sintonizables. Los espectrómetros de transformada de Fourier también ya están disponibles comercialmente para la espectrometría en el infrarrojo cercano. Las ventajas asociadas normalmente con los instrumentos de transformada de Fourier en la región del infrarrojo medio, como rendimiento y resolución altos, son menos aplicables en la región del infrarrojo cercano. No obstante, la reproducibilidad de la longitud de onda y las características de la relación señal-ruido son ventajas principales de los sistemas de transformada de Fourier.

La mayor parte de los espectrómetros están equipados con lámparas de tungsteno-halógeno con ventanas de cuarzo. Las celdas para las mediciones de absorción son casi siempre de cuarzo o sílice fundida, y son transparentes hasta aproximadamente 3000 nm. La longitud de las celdas varía de 0.1 a 10 cm. Los detectores varían desde fotoconductores de PbS y PbSe hasta fotodiodos de InSb e InAs. Hay detectores en serie, como los de InGaAs, para usarlos en esta región. Varios espectrofotómetros UV-visible comerciales están diseñados para trabajar desde 180 a 2500 nm, por lo que se pueden utilizar para obtener espectros en el infrarrojo cercano.

Hay varios solventes que se pueden utilizar para efectuar estudios en el infrarrojo cercano. Algunos de ellos se enumeran en la figura 17.16. Observe que sólo el tetracloruro de carbono y el disulfuro de carbono son transparentes en toda la región del infrarrojo cercano.

17D.2 Procesamiento de los datos en la espectrometría en el infrarrojo cercano

Las bandas de los espectros en el infrarrojo cercano son casi siempre anchas y están traslapadas. Rara vez hay bandas espectrales limpias que faciliten la simple correlación con la concentración del analito, por lo que se requiere aplicar técnicas de calibración de varias va-

riables.¹⁸ Por lo general se usan los mínimos cuadrados parciales, regresión de los componentes principales y redes neurales artificiales. Para efectuar esta calibración se requiere crear un modelo de calibración por medio de la obtención de resultados en un “grupo de entrenamiento” que incluye tantas condiciones encontradas en las muestras como sea posible. Se han analizado los problemas y errores al desarrollar los modelos.¹⁹

Los fabricantes de instrumentos para el infrarrojo cercano proporcionan programas de computación para crear modelos de calibración. Además, ya se cuenta con programas que han elaborado otras compañías para la calibración de varias variables.

17D.3 Aplicaciones de la espectrometría de absorción en el infrarrojo cercano

A diferencia de la espectroscopía en el infrarrojo medio, los espectros de absorción en el infrarrojo cercano son menos útiles para la identificación y más útiles para el análisis cuantitativo de compuestos que contengan grupos funcionales formados por la unión de hidrógeno con carbono, nitrógeno y oxígeno. A menudo, dichos compuestos se pueden determinar con exactitud y precisión más parecidas a las obtenidas con la espectroscopía ultravioleta/visible, que a las de la espectroscopía en el infrarrojo medio. Entre algunas de las aplicaciones están la determinación de agua en una variedad de muestras, como glicerol, hidracina, películas orgánicas y ácido nítrico fumante, la determinación cuantitativa de fenoles, alcoholes, ácidos orgánicos e hidroperóxidos con base en el primer sobretono de la vibración de tensión O—H que absorbe radiación a alrededor de 7100 cm^{-1} ($1.4\text{ }\mu\text{m}$); y la determinación de ésteres, cetonas y ácidos carboxílicos con base en la absorción de todos éstos en la región de 3300 a 3600 cm^{-1} (2.8 a $3.0\text{ }\mu\text{m}$). En este último caso, la absorción corresponde al primer sobretono de la vibración de tensión del carbonilo.

Asimismo, la espectrofotometría en el infrarrojo cercano es una valiosa herramienta para identificar y determinar aminas primarias y secundarias en mezclas con presencia de aminas terciarias. Por lo regular, los análisis se efectúan en soluciones de tetracloruro de carbono y en celdas de 10 cm. Las aminas primarias se determinan directamente midiendo la absorbancia de una banda de tensión de la combinación N—H a casi 5000 cm^{-1} ($2.0\text{ }\mu\text{m}$); ni las aminas secundarias ni las

¹⁸ Vea un análisis de las técnicas de algunas variables en K. R. Beebe, R. J. Pell y M. B. Seasholtz, *Chemometrics: A Practical Guide*, cap. 5, Nueva York: Wiley, 1998; H. Martens y T. Naes, *Multivariate Calibration*, Nueva York: Wiley, 1989.

¹⁹ Por ejemplo, véase M. A. Arnold, J. J. Burmeister y G. W. Small, *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, p. 1773; L. Zhang, G. W. Small y M. A. Arnold, *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, p. 5905.

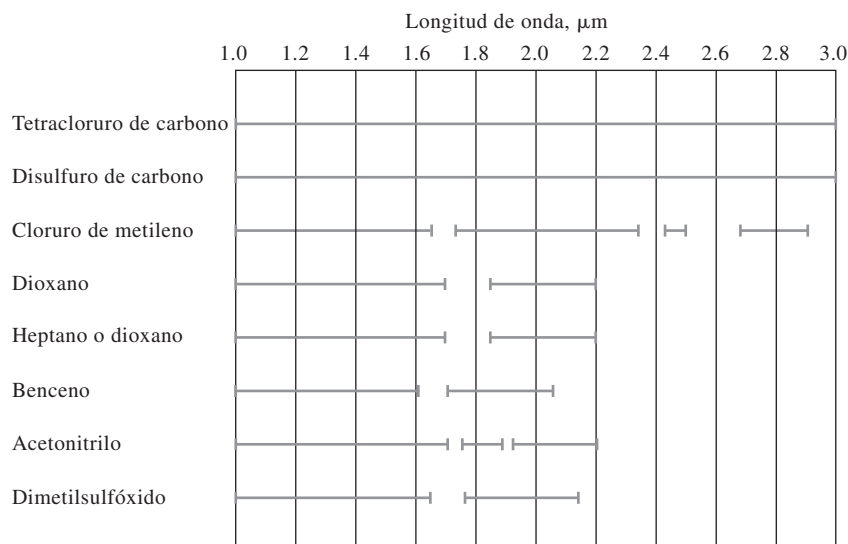


FIGURA 17.16 Algunos solventes útiles en la espectroscopía en el infrarrojo cercano. Las líneas continuas indican una transparencia satisfactoria para emplearlos con celdas de 1 cm.

terciarias absorben radiación en esta región. Las aminas primarias y secundarias tienen varias bandas de absorción traslapadas en la zona de 3300 a $10\,000\text{ cm}^{-1}$ (1 a $3\text{ }\mu\text{m}$) debido a las diversas vibraciones de tensión N—H y sus sobretonos, en tanto que las aminas terciarias no pueden presentar estas bandas. Por consiguiente, una de estas bandas permite hallar la concentración de la amina secundaria después de corregir la absorción por la amina primaria.

17D.4 Aplicaciones de la espectrometría de reflectancia en el infrarrojo cercano

La espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano se ha convertido en la herramienta más importante para la determinación cuantitativa rutinaria de los componentes de sólidos finamente molidos. El uso más extendido de esta técnica ha sido para determinar proteínas, humedad, almidón, aceite, lípidos y celulosa en productos agrícolas, como granos y semillas oleaginosas. Por ejemplo, Canadá vende su trigo y garantiza un contenido de proteína, y debido a esto, en tiempos pasados la Canadian Grain Commission realizó más de $600\,000$ determinaciones de proteínas por el método de Kjeldahl. En 1984 se calculó que de 80 a 90% de todo el grano canadiense se analizó para determinar la proteína mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano, lo que representa un ahorro en costos de análisis de más de $500\,000$ dólares anuales.²⁰

En la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano, la muestra sólida, finamente pulverizada, se irradia con una o más bandas estrechas de radiación de longitudes de onda comprendidas entre 1 y $2.5\text{ }\mu\text{m}$ es

decir $10\,000$ y 4000 cm^{-1} . Se produce una reflectancia difusa en que la radiación penetra la capa superficial de las partículas, excita los modos de vibración de las moléculas del analito y luego se dispersa en todas direcciones. Por consiguiente, se produce un espectro de reflectancia que depende de la composición de la muestra. En la figura 17.17 se muestra un espectro de reflectancia característico de una muestra de trigo. En este caso, la ordenada es el logaritmo del inverso de la reflectancia R , donde R es el cociente de la intensidad de radiación que refleja la muestra y la reflectancia de un patrón reflectante, como sulfato de bario u óxido de magnesio finamente pulverizados. La banda de reflectancia a 1940 nm corresponde a una banda de agua que se utiliza en las determinaciones de humedad. La banda a casi 2100 nm , de hecho, corresponde a dos bandas que se traslapan, una del almidón y otra de la proteína. Al efectuar mediciones a varias longitudes de

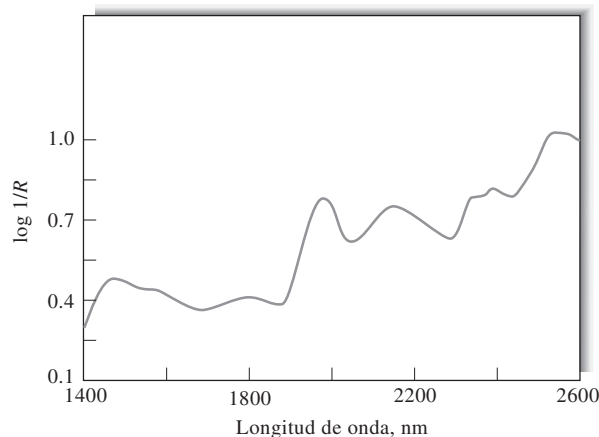


FIGURA 17.17 Espectro de reflectancia difusa en el infrarrojo cercano de una muestra de trigo.

²⁰S. A. Borman, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, p. 933A.

onda en esta región, se puede determinar las concentraciones de cada uno de los componentes.

Los instrumentos para las mediciones de reflectancia difusa ya están en el comercio. Algunos de esos equipos emplean varios filtros de interferencia para proporcionar bandas de radiación estrechas. Otros están equipados con monocromadores de red. Por lo general, las medidas de reflectancia se efectúan en dos o más longitudes de onda por cada analito que se desea determinar.

La gran ventaja de los métodos de reflectancia en el infrarrojo cercano es su rapidez y la sencillez en la preparación de la muestra. Una vez que se completó el método, se puede finiquitar el análisis de muestras sólidas para varias especies en pocos minutos. En general, se dan a conocer exactitudes y precisiones relativas de 1 a 2 por ciento.

17E ESPECTROSCOPÍA EN EL INFRARROJO LEJANO

La región del infrarrojo lejano resulta especialmente útil en el estudio de compuestos inorgánicos, puesto que la absorción debida a las vibraciones de tensión y flexión de los enlaces entre átomos metálicos y ligandos inorgánicos u orgánicos ocurre a frecuencias inferiores a 650 cm^{-1} ($>15\text{ }\mu\text{m}$). Por ejemplo, los yoduros de metales pesados suelen absorber radiación en la región inferior a los 100 cm^{-1} , en tanto que los bromuros y los cloruros presentan bandas a frecuencias superiores. Por lo común, las frecuencias de absorción de los enlaces organometálicos dependen tanto del átomo metálico como de la porción orgánica de la especie.

Los estudios de compuestos inorgánicos en el infrarrojo lejano proporcionan también una información útil acerca de las energías de los cristales en las retículas y de las energías de transición de los materiales semiconductores.

Las moléculas formadas exclusivamente por átomos ligeros absorben radiación en el infrarrojo lejano si poseen modos de flexión en el esqueleto que involucren a más de dos átomos que no sean hidrógeno. Los derivados del benceno sustituido son ejemplos importantes, los cuales, por lo general, presentan varios picos de absorción. A menudo, los espectros son bastante específicos y útiles para identificar un compuesto particular. Asimismo, hay frecuencias de grupo características en la región del infrarrojo lejano.

En la región del infrarrojo lejano se observa absorción rotacional pura de los gases, siempre que las moléculas presenten momentos dipolares permanentes. Entre los ejemplos están H_2O , O_3 , HCl y AsH_3 . Cuando el agua absorbe causa problemas; la eliminación de su interferencia requiere la eliminación o al menos la purga del espectrómetro.

Antes del surgimiento de los espectrómetros de transformada de Fourier, las dificultades experimentales impedían obtener buenos espectros en el infrarrojo lejano. Las fuentes disponibles en esta región son de baja intensidad. Los filtros para escoger órdenes son necesarios en los instrumentos de redes en esta región para reducir al mínimo la radiación difractada a partir de redes de órdenes superiores. Esto redujo los rendimientos ya bajos de los espectrómetros dispersivos. No sorprende que la espectrometría de transformada de Fourier se aplicara primero en esta región del espectro. El alto rendimiento de los interferómetros y las tolerancias mecánicas relativamente bajas que requieren facilitan la obtención de espectros en el infrarrojo mediante transformada de Fourier con buenas relaciones señal-ruido.

17F ESPECTROSCOPÍA DE EMISIÓN EN EL INFRARROJO

Cuando las moléculas que absorben radiación infrarroja se calientan son también capaces de emitir longitudes de onda características en el infrarrojo. El principal obstáculo para la aplicación analítica de este fenómeno es la deficiente relación señal-ruido que caracteriza a la señal de emisión infrarroja, sobre todo cuando la muestra está a una temperatura sólo ligeramente superior a la del ambiente. Sin embargo, con el desarrollo del método interferométrico han aparecido aplicaciones útiles e interesantes en las publicaciones especializadas.

Uno de los primeros ejemplos de la aplicación de la espectroscopía de emisión infrarroja es un trabajo que describe la utilización de un espectrómetro de transformada de Fourier para identificar plaguicidas en una escala de microgramos.²¹ Las muestras se prepararon disolviéndolas en un solvente apropiado y se evaporaron en una placa de NaCl o KBr . Luego se calentó la placa por medio de electricidad cerca de la entrada del espectrómetro. Los plaguicidas como el DDT, malatión y dieldrin se identificaron en cantidades tan pequeñas como 1 a $10\text{ }\mu\text{g}$.

Igualmente interesante ha sido el empleo de la técnica interferométrica para la detección remota de compuestos emitidos por las chimeneas de las industrias. En una de estas aplicaciones se colocó un interferómetro en un telescopio reflector de 8 pulgadas.²² Con el telescopio enfocado hacia el penacho de humo de una planta industrial, se detectaron fácilmente CO_2 y SO_2 a varios cientos de pies.

El *Mars Global Surveyor* se lanzó al espacio desde Cabo Cañaveral en noviembre de 1996. Llegó a la órbita

²¹ J. Coleman y M. J. D. Low, *Spectrochim. Acta*, **1966**, 22, p. 1293.

²² M. J. D. Low y F. K. Clancy, *Env. Sci. Technol.*, **1967**, 1, p. 73.

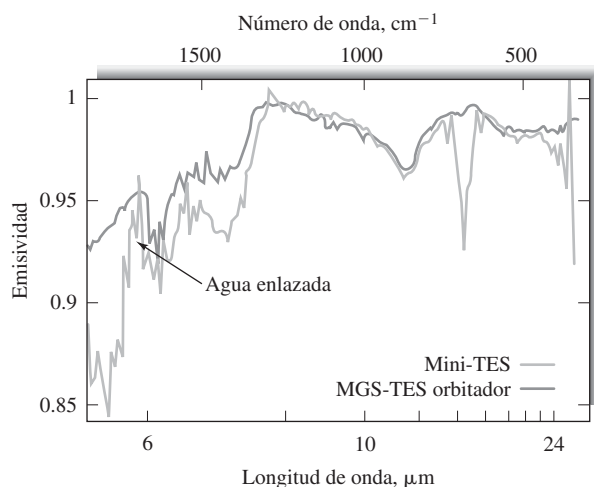


FIGURA 17.18 Espectros del explorador de Marte *Spirit* en los que se ve un mineral no identificado que contiene agua enlazada a su estructura cristalina. Los minerales como las zeolitas y el yeso son candidatos posibles. Mini-TES = miniespectrómetro de emisión térmica. (Cortesía de NASA/JPL/Arizona State University.)

de Marte en 1997. Uno de los instrumentos que iba a bordo era un espectrómetro de emisión en el infrarrojo, denominado espectrómetro de emisión térmica. La nave terminó su misión exploratoria en 2001, y proporcionó información sobre la superficie y la atmósfera marcianas. El explorador de Marte *Spirit* está equipado con un espectrómetro de emisión térmica capaz de indicar la composición de suelos y rocas cercanas. En la figura 17.18 se ilustra un espectro de emisión infrarroja obtenido a principios de 2004 en el que se tiene evidencia de un mineral que contiene agua, pero que no está identificado. Los espectros de emisión térmica también manifiestan indicios de la presencia de carbonatos y otros minerales hidratados. Éstos podrían haberse generado en cuerpos de agua antiguos.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contengan este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

17.1 La ciclohexanona presenta su absorción más intensa en el infrarrojo a $5.86 \mu\text{m}$, y en esta longitud de onda existe una relación lineal entre la absorbancia y la concentración.

- Identifique qué parte de la molécula es la causante de la absorción en esta longitud de onda.
- Recomiende un solvente apropiado para el análisis cuantitativo de ciclohexanona en esta longitud de onda.
- Una solución de ciclohexanona (4.0 mg/mL) en el solvente que se seleccionó en el inciso b) manifiesta una absorbancia de blanco corregido de 0.800 en una celda cuya longitud de la trayectoria es de 0.025 mm . ¿Cuál es el límite de

17G MICROESPECTROMETRÍA EN EL INFRARROJO

Esta técnica se utiliza para obtener los espectros de absorción y reflexión de especies presentes en muestras cuyas dimensiones físicas son del orden de 10 a $500 \mu\text{m}$.²³ Los microscopios de infrarrojo, los primeros de los cuales fueron presentados por varios fabricantes de instrumentos en los años ochenta, constan de dos microscopios, a saber, un microscopio óptico ordinario y el otro es un dispositivo infrarrojo con sistemas ópticos de reflexión que reducen el tamaño del haz infrarrojo hasta casi el mismo tamaño de la muestra. El microscopio óptico se utiliza para localizar visualmente la partícula o mancha que se desea estudiar con el haz infrarrojo. La fuente de infrarrojo es un espectrómetro de transformada de Fourier normal y no un instrumento con red de difracción debido a la gran sensibilidad del primero. Por lo general, el detector es un dispositivo de fotoconductividad de telururo de cadmio/telururo de mercurio enfriado con nitrógeno líquido, que es más sensible que otros tipos de detectores de infrarrojo.

El uso de la microscopía infrarroja está todavía en sus inicios, pero parece ser una técnica que en el futuro encontrará cada vez más aplicaciones. Entre sus actuales aplicaciones están la identificación de contaminantes de polímeros, la detección de imperfecciones en las películas de polímeros y en las capas de las hojas de polímeros laminados; la identificación de muestras diminutas de fibras, pinturas y explosivos en criminología; la caracterización de hebras en la industria textil y la identificación de contaminantes en los componentes electrónicos.

²³Véase *Practical Guide to Infrared Microspectroscopy*, H. J. Humecki, ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1995; J. Katon, *Infrared Microspectroscopy in Modern Techniques in Molecular Spectroscopy*, F. Mirabella, ed., Nueva York: Wiley, 1998.

detección para este compuesto en esas condiciones si el ruido asociado con el espectro del solvente es de 0.001 unidades de absorbancia?

- *17.2 El espectro de la figura 17.19 corresponde a un líquido de fórmula empírica C_3H_6O . Identifique el compuesto.
- 17.3 El espectro de la figura 17.20 es de un líquido de elevado punto de ebullición cuya fórmula empírica es $C_9H_{10}O$. Identifique el compuesto lo más aproximadamente posible.
- *17.4 El espectro de la figura 17.21 es de un líquido de olor acre cuyo punto de ebullición es de $50^\circ C$ y que tiene un peso molecular de alrededor de 56. ¿Cuál es el compuesto? ¿Qué impureza es claramente evidente?
- *17.5 El espectro de la figura 17.22 es de una sustancia que contiene nitrógeno y que hierve a $97^\circ C$. ¿De qué compuesto se trata?
- 17.6 ¿Por qué los métodos analíticos cuantitativos que utilizan radiación del infrarrojo cercano parecen ser más precisos y exactos que los que utilizan radiación del infrarrojo medio?
- 17.7 Analice los orígenes de los espectros fotoacústicos en el infrarrojo. ¿Cuáles son los tipos característicos de muestras para las mediciones fotoacústicas?
- 17.8 ¿Por qué los espectros de infrarrojo rara vez presentan regiones en que la transmitancia sea de 100%?
- *17.9 Una celda vacía presentó 15 franjas de interferencia en el intervalo de longitudes de onda de 6.0 a $12.2 \mu m$. Calcule la longitud de trayectoria de la celda.
- *17.10 Una celda vacía presentó 11.5 franjas de interferencia en la región comprendida entre 1050 y 1580 cm^{-1} . ¿Cuál es la longitud de trayectoria de la celda?
- *17.11 Determine el espesor de la película de poliestireno que originó el espectro que se muestra en la figura 16.1.



Problema de reto

- 17.12 a) Considere un experimento de reflectancia atenuada total efectuado con una muestra cuyo índice de refracción es de 1.03 a 2000 cm^{-1} . El cristal de reflectancia atenuada total era AgCl con un índice de refracción de 2.00 a esta longitud de onda. En el caso de un ángulo de incidencia de 45° , ¿cuál es la profundidad de penetración efectiva de la onda evanescente? ¿Cuál sería el cambio en la profundidad de penetración si el ángulo cambiara a 60° ?
- b) En el caso del mismo experimento del inciso a) y un ángulo de incidencia de 60° , determine las profundidades de penetración para índices de refracción de la muestra que varían de 1.00 a 1.70 en intervalos de 0.10. Grafique la profundidad de penetración en función del índice de refracción. Determine el índice de refracción para el cual la profundidad de penetración es cero. ¿Qué sucede en este punto?
- c) Para una muestra cuyo índice de refracción es de 1.37 a 2000 cm^{-1} y un ángulo de incidencia de 45° , grafique la profundidad de penetración contra el índice de refracción del cristal en la reflectancia atenuada total. Varíe el índice de refracción del cristal desde 2.00 a 4.00 en intervalos de 0.25. Entre AgCl ($n_c = 2.00$) y Ge ($n_c = 4.00$), ¿qué cristal da la profundidad de penetración más pequeña? ¿Por qué?
- d) Una solución acuosa cuyo índice de refracción es de 1.003 se mide con un cristal de reflectancia atenuada total que tiene un índice de refracción de 2.8. El ángulo de incidencia es 45° . ¿Cuál es la profundidad de penetración efectiva a 3000 cm^{-1} , 2000 cm^{-1} y 1000 cm^{-1} ? ¿Es la absorción por parte del solvente acuoso un problema en las mediciones de reflectancia atenuada

total como lo es en las mediciones de absorción en el infrarrojo? ¿Por qué sí o por qué no?

- e) En la investigación de S. Ekgasit y H. Ishida (S. Ekgasit y H. Ishida, *Appl. Spectrosc.*, **1996**, *50*, p. 1187; *Appl. Spectrosc.*, **1997**, *51*, p. 461) los autores explican un nuevo método para obtener un perfil de profundidades de la superficie de una muestra mediante espectroscopía de reflectancia atenuada total. Explique los principios de este nuevo enfoque. ¿Por qué los espectros están tomados con diferentes grados de polarización? ¿Qué es el índice de refracción complejo?

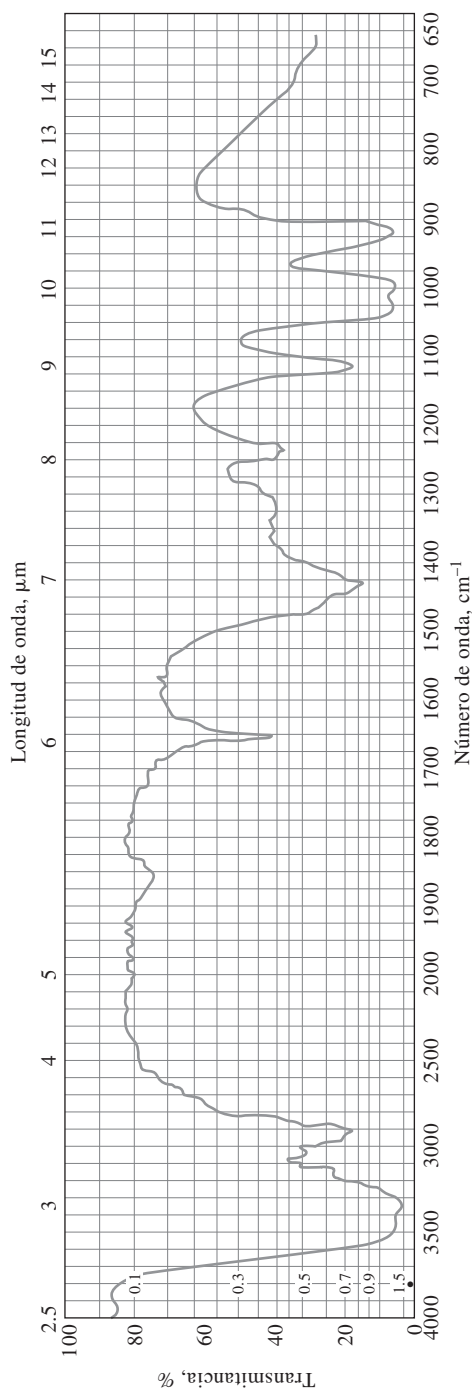


FIGURA 17.19 Véase el problema 17.2. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A&M University, College Station, Texas.)

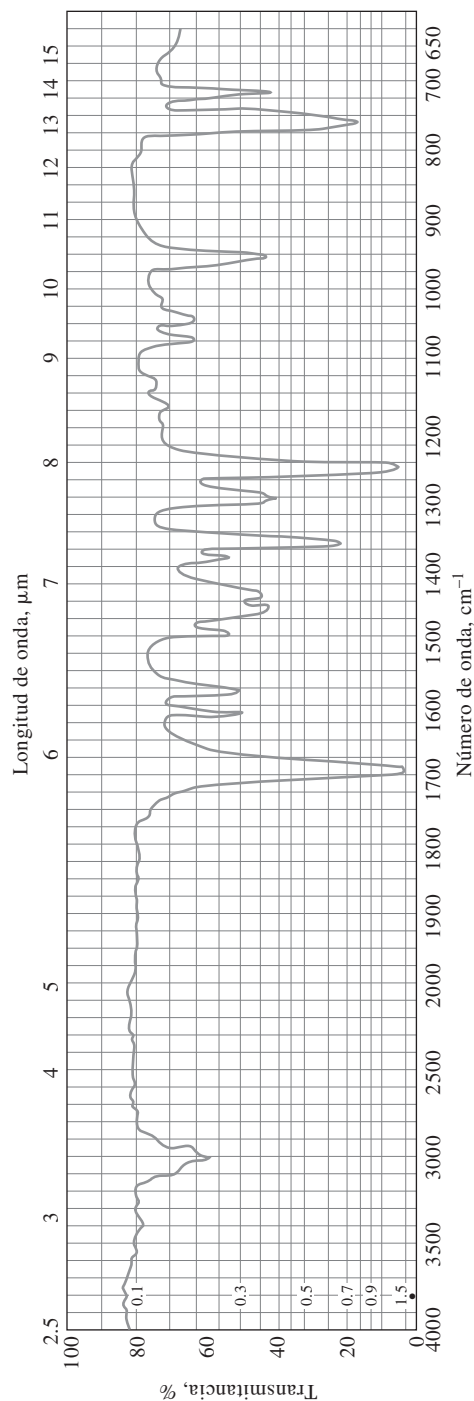


FIGURA 17.20 Véase el problema 17.3. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A&M University, College Station, Texas.)

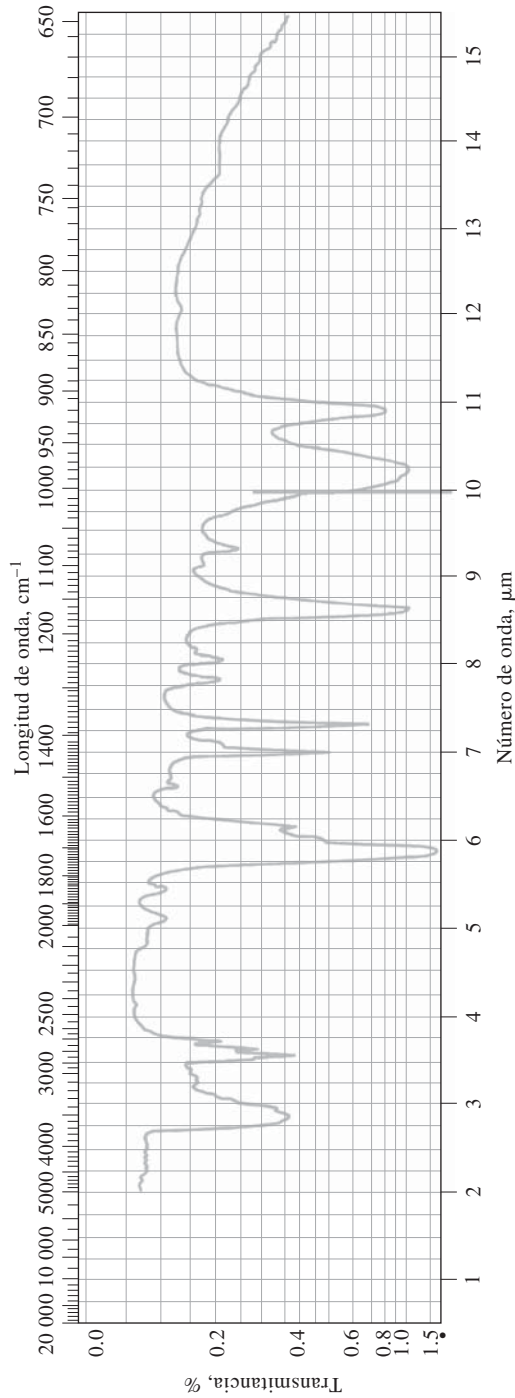


FIGURA 17.21 Véase el problema 17.4. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A&M University, College Station, Texas.)

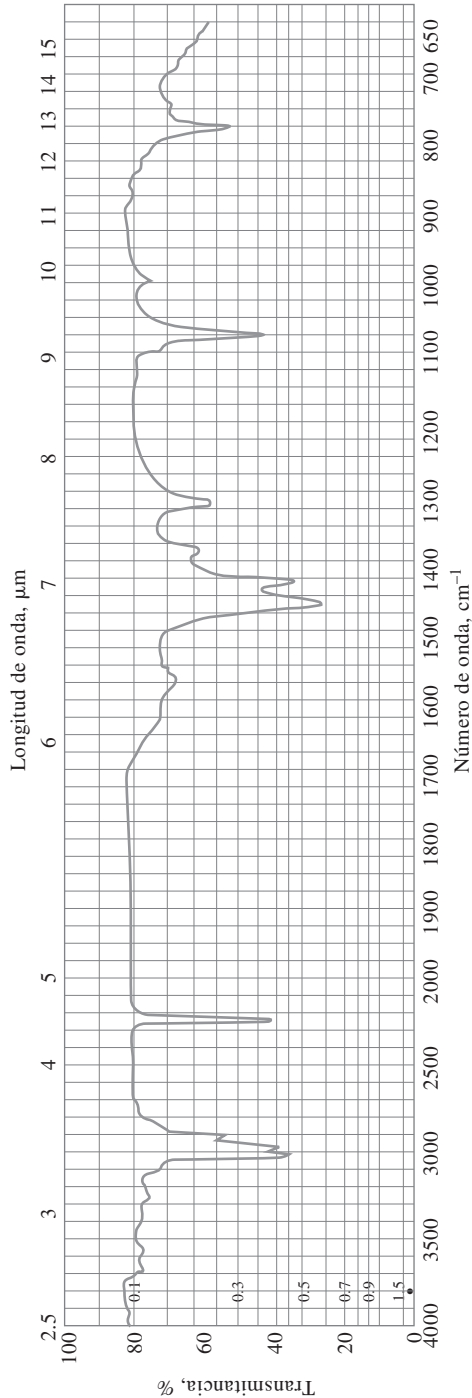


FIGURA 17.22 Véase el problema 17.5. (Espectro cortesía de Thermodynamics Research Center Data Project, Texas A&M University, College Station, Texas.)

Espectroscopía Raman

Cuando la radiación atraviesa un medio transparente, las especies presentes dispersan una fracción del haz en todas direcciones (sección 6B.10). La difusión Raman es resultado del mismo tipo de cambios vibracionales cuantizados que se asocian con la absorción infrarroja. Por tanto, la diferencia de longitud de onda entre la radiación visible incidente y la dispersada corresponde a las longitudes de onda de la región del infrarrojo medio. De hecho, en el caso de una especie determinada, el espectro de difusión de Raman y el espectro de absorción infrarrojo son a menudo muy parecidos entre sí. Como se explica en este capítulo, en el caso de algunos problemas, la espectroscopía en el infrarrojo es la mejor herramienta, pero en el caso de otros, la espectroscopía Raman proporciona información más útil.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

En 1928, el físico hindú C. V. Raman descubrió que la longitud de onda visible de una pequeña fracción de la radiación dispersada por ciertas moléculas difiere de la del haz incidente y, además, que los desplazamientos de la longitud de onda dependen de la estructura química de las moléculas causantes de la dispersión. Raman fue galardonado con el Premio Nobel de Física en 1931 por su descubrimiento y por el estudio sistemático de este fenómeno.¹

Aunque hay similitudes impresionantes entre los espectros Raman y los espectros en el infrarrojo, hay suficientes diferencias entre las clases de grupos que son activos en uno u otro para hacer que las técnicas sean complementarias y no competitivas. Una ventaja importante de la espectroscopía Raman reside en que en esta técnica el agua es un solvente muy útil. Además, puesto que las señales por lo general están en la región visible o en el infrarrojo cercano, se pueden utilizar celdas de vidrio o de cuarzo, lo que evita el inconveniente de tener que trabajar con ventanas de cloruro de sodio o de otros materiales inestables en la atmósfera. A pesar de esas ventajas, la espectroscopía Raman apenas empezó a ser utilizada por los químicos cuando se pudo disponer de los rayos láser en los años sesenta, lo cual facilitó la obtención de espectros. En los años recientes la espectroscopía Raman se ha vuelto una herramienta de rutina gracias a los rayos láser, los detectores en serie y la disponibilidad de instrumentos modernos comerciales de costo moderado.

18A TEORÍA DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN

Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una fuente potente de rayos láser de radiación monocromática visible o infrarroja. Durante el proceso se registra el espectro de la radiación dispersada a un cierto ángulo, casi siempre 90°, con ayuda de un espectrómetro apropiado. Para evitar la fluorescencia, las longitudes de onda de la excitación se eliminan de una banda de absorción del analito. El experimento Raman se ilustró ya en la figura 6.18. Las intensidades de las líneas Raman son, cuando mucho, un 0.001 % de la intensidad de la fuente. Debido a esto podría parecer más difícil detectar y medir las bandas Raman que las bandas vibracionales en el infrarrojo. Sin embargo, la radiación Raman difundida está en las regiones

¹ Un análisis más detallado acerca de la teoría y la práctica de la espectroscopia Raman se encuentra en J. R. Ferraro, K. Nakamoto y C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2a. ed., San Diego: Academic Press, 2003; R. L. McCreery, *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, Nueva York: Wiley, 2000; D. P. Strommen en *Handbook of Instrumental Analysis*, F. A. Settle, ed., cap. 16, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1997; *Analytical Raman Spectroscopy*, J. G. Grasselli y B. J. Bulkin, eds., Nueva York: Wiley, 1991.

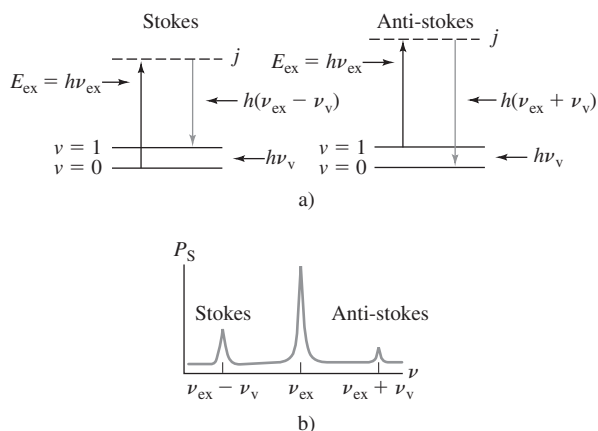


FIGURA 18.1 Origen de los espectros Raman. En a) la radiación que procede de una fuente y que incide en la muestra ocasiona dispersión en todas direcciones. La radiación incidente causa excitación, a), hasta un nivel virtual j y una reemisión posterior de un fotón de energía baja (izquierda) o alta (a la derecha). El espectro Raman b) consiste en emisiones de baja frecuencia llamada difusión de Stokes y emisiones de frecuencia más alta denominadas difusión anti-stokes. Por lo regular, el nivel vibracional fundamental ($v = 0$) está más altamente poblado que los niveles de vibración excitada, de modo que las líneas de Stokes son más intensas que las líneas anti-stokes. La radiación difundida elásticamente tiene la misma frecuencia que el haz de excitación y se denomina difusión de Rayleigh.

visible y del infrarrojo cercano, para las cuales ya hay detectores muy sensibles. En la actualidad, las mediciones de los espectros Raman son casi tan fáciles de hacer como las de los espectros en el infrarrojo.

18A.1 Excitación de los espectros Raman

En la figura 18.1, la muestra es irradiada con un haz monocromático de energía $h\nu_{\text{ex}}$. Como la longitud de onda de la excitación está muy lejos de una banda de absorción, se puede considerar que la excitación afecta un *estado virtual* del nivel energético j , indicado mediante la línea discontinua de la figura 18.1a. Una molécula en el nivel vibracional fundamental ($v = 0$) puede absorber un fotón de energía $h\nu_{\text{ex}}$ y volver a emitir un fotón de energía $h(\nu_{\text{ex}} - \nu_v)$, como se ilustra a la izquierda en la figura 18.1a. Cuando la radiación difundida es de frecuencia más baja que la radiación de excitación se denomina *difusión de Stokes*. Las moléculas en un estado vibracionalmente excitado ($v = 1$) pueden difundir también radiación de manera inelástica y producir una señal Raman de energía $h(\nu_{\text{ex}} + \nu_v)$. La radiación difundida de una frecuencia más alta que la radiación de la fuente se llama *difusión anti-stokes*.

Asimismo, la dispersión elástica también se presenta con emisión de un fotón de la misma energía que el fotón de excitación, $h\nu_{\text{ex}}$. La radiación difundida de la misma frecuencia que la fuente recibe el nombre de *difusión de Rayleigh*. Observe que los desplazamientos de la frecuencia de la radiación difundida en forma inelástica $(\nu_{\text{ex}} + \nu_v) - \nu_{\text{ex}} = \nu_v$ y $(\nu_{\text{ex}} - \nu_v) - \nu_{\text{ex}} = -\nu_v$ corresponden a la frecuencia de vibración, ν_v . El espectro Raman simplificado que corresponde a las transiciones mostradas se proporciona en la figura 18.1b.

En la figura 18.2 se ilustra una parte del espectro Raman del tetracloruro de carbono que se obtuvo usando como fuente un rayo láser de ion argón cuya longitud de onda es de 488.0 nm. Como es usual en los espectros Raman, la abscisa de la figura 18.2 es el desplazamiento del número de onda $\Delta\bar{\nu}$, que se define como la diferencia en números de onda (cm^{-1}) entre la radiación observada y la de la fuente. Observe que hay tres líneas Raman a cada lado de las líneas de Rayleigh, y que el patrón de desplazamiento es idéntico en ambos lados. Es decir, las líneas Stokes se encuentran en números de onda que son 218, 314 y 459 cm^{-1} menores que las líneas Rayleigh, y las líneas anti-stokes aparecen a números de onda 218, 314 y 459 cm^{-1} , superiores al número de onda de la fuente. Se debe subrayar que también se pueden encontrar líneas adicionales a ± 762 y $\pm 790 \text{ cm}^{-1}$. Como las líneas anti-stokes son aprecia-

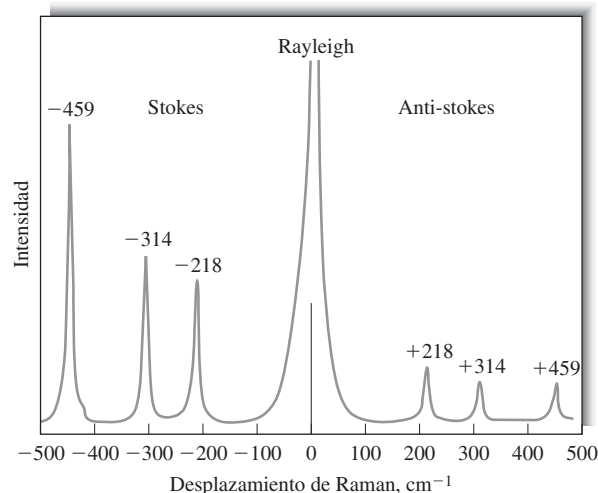


FIGURA 18.2 Espectro Raman del CCl_4 , excitado con una radiación láser de $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$ ($\bar{\nu}_{\text{ex}} = 20\,492 \text{ cm}^{-1}$). El número que aparece sobre las líneas Raman es el desplazamiento Raman, $\Delta\bar{\nu} = \nu_{\text{ex}} \pm \nu_v$, en cm^{-1} . Con frecuencia, las líneas de Stokes desplazadas tienen valores positivos y no negativos como se muestra aquí. (Tomado de J. R. Ferraro, K. Nakamoto, y C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2a. ed, San Diego: Academic Press, 2003. Reimpreso con autorización.)

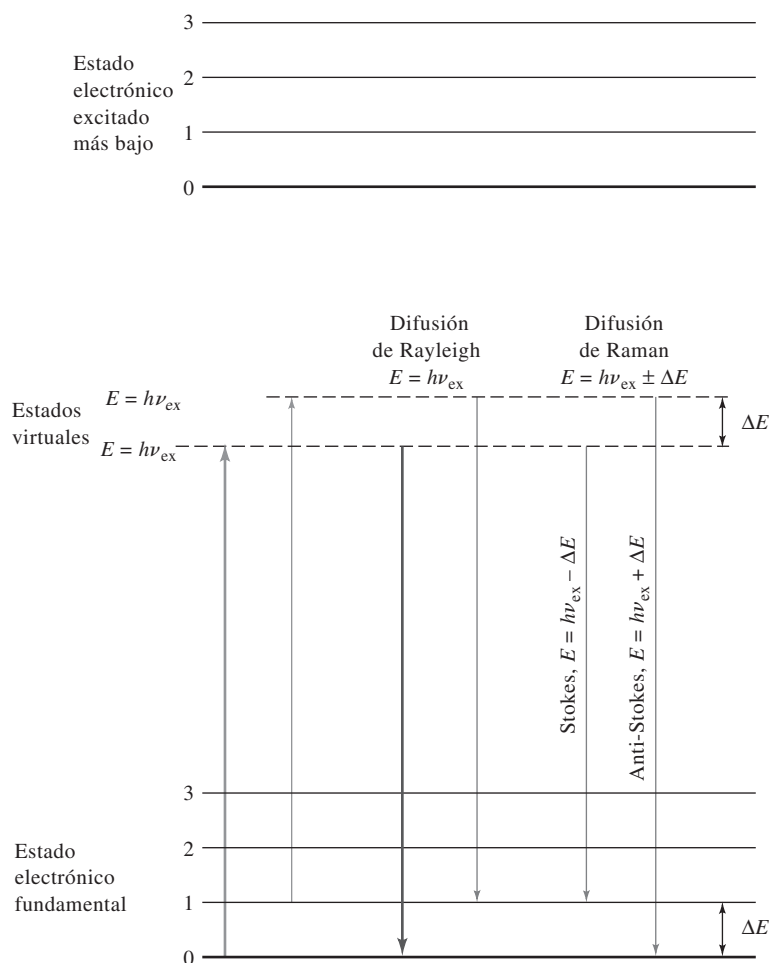


FIGURA 18.3 Origen de la difusión de Rayleigh y de Raman.

blemente menos intensas que las correspondientes líneas Stokes, sólo se usa la parte Stokes de un espectro. Además, la abscisa de la gráfica lleva simplemente el rótulo de “número de onda $\bar{\nu}$, cm^{-1} ” en lugar de “desplazamiento del número de onda $\Delta\bar{\nu}$ ”. Vale la pena hacer notar que la fluorescencia podría interferir de manera importante en la observación del desplazamiento de Stokes pero no en el anti-stokes. Por tanto, en muestras fluorescentes, las señales anti-stokes a veces son más útiles a pesar de su menor intensidad.

Es importante tener en cuenta que la magnitud de los desplazamientos Raman es *independiente de la longitud de onda de excitación*. Por consiguiente, se observan desplazamientos Raman idénticos a los que se muestran en la figura 18.2 para el tetracloruro de carbono sin importar que la excitación se realice con un láser de ion argón (488.0) o con uno de helio-neón (632.8).

Superficialmente, los desplazamientos de Stokes y Raman de energías inferiores (longitudes de onda más largas) son similares a los desplazamientos de Stokes

que se tienen en la fluorescencia molecular (véase sección 6C.6). Sin embargo, como ya se verá, los espectros Raman y los de fluorescencia se producen a partir de procesos esencialmente distintos.

18A.2 Mecanismos de la difusión de Raman y de Rayleigh

En la espectroscopía Raman, la excitación espectral se realiza de ordinario con radiación cuya longitud de onda está muy alejada de la de las bandas de absorción del analito. El diagrama de niveles de energía de la figura 18.1a se amplía en la figura 18.3 y proporciona un panorama de las fuentes de difusión de Raman y de Rayleigh. La flecha gruesa de la izquierda representa el cambio de energía de la molécula cuando interactúa con un fotón procedente de la fuente. El aumento de energía es igual a la energía del fotón $h\nu_{\text{ex}}$. Es importante saber que el proceso que se indica *no está cuantizado* y, por tanto, en función de la frecuencia de la radiación de la fuente, la energía de la molécula

puede tomar cualquiera de los valores infinitos o *estados virtuales* entre el estado fundamental y el primer estado electrónico excitado, es decir, el más bajo, que se muestra en la parte superior del diagrama. La segunda flecha más fina, también a la izquierda, muestra el tipo de cambio que ocurriría si la molécula alcanzada por el fotón estuviera en el primer nivel vibracional del estado electrónico fundamental. A temperatura ambiente, la fracción de moléculas que se encuentran en este estado es pequeña. Por consiguiente, como se indica por la anchura de las flechas, la probabilidad de que ocurra este proceso es muy baja.

Las flechas centrales representan los cambios que originan la difusión de Rayleigh. De nuevo, el cambio más probable lo indica una flecha más gruesa. Observe que no se pierde energía en la difusión de Rayleigh. Como consecuencia, se dice que las colisiones que tienen lugar entre el fotón y la molécula son *elásticas*.

Por último, los cambios de energía que producen la emisión Stokes y la anti-stokes se representan a la derecha. Las dos difieren de la radiación de Rayleigh en frecuencias correspondientes a $\pm\Delta E$, la energía del primer nivel vibracional del estado fundamental $h\nu_v$. Tenga en cuenta que si el enlace fuera activo en el infrarrojo, la energía de su absorción sería también ΔE . Por tanto, el *desplazamiento de la frecuencia* de Raman y la *frecuencia de absorción en el infrarrojo* son idénticos.

Observe también que las poblaciones relativas de los dos estados de energía superiores son tales que la emisión Stokes se ve mucho más favorecida que la anti-stokes. Además, es mucho más probable que ocurra la difusión de Rayleigh que la dispersión Raman porque el fenómeno más probable es la transferencia de energía a moléculas en el estado fundamental y la reemisión al retornar éstas al estado fundamental. Por último, se debe hacer notar que la relación entre las intensidades anti-stokes y Stokes aumenta con la temperatura porque, en estas circunstancias, es mayor la fracción de moléculas que está en el primer estado vibracionalmente excitado.

18A.3 Modelo ondulatorio de la difusión de Raman y de Rayleigh

Suponga que un haz de radiación con una frecuencia ν_{ex} incide sobre una solución de un analito. El campo eléctrico E de esta radiación se puede representar mediante la ecuación

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18.1)$$

donde E_0 es la amplitud de la onda. Cuando el campo eléctrico de la radiación interactúa con la nube elec-

trónica de un enlace del analito, se induce un momento dipolar m en el enlace, que viene dado por

$$m = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18.2)$$

donde α es una constante de proporcionalidad que se denomina *polarizabilidad* del enlace. Esta constante es una medida de la deformabilidad del enlace cuando se encuentra en un campo eléctrico.

La polarizabilidad α varía en función de la distancia entre los núcleos de acuerdo con la ecuación

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_{\text{eq}}) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \quad (18.3)$$

donde α_0 es la polarizabilidad del enlace a una distancia internuclear de equilibrio r_{eq} y r es la separación internuclear en un instante dado. El cambio en la separación internuclear varía con la frecuencia de la vibración ν_v según

$$r - r_{\text{eq}} = r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (18.4)$$

donde r_m es la separación internuclear máxima en relación con la posición de equilibrio.

Al sustituir la ecuación 18.4 en la 18.3 se obtiene

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (18.5)$$

Entonces es posible obtener una expresión para el momento dipolar m sustituyendo la ecuación 18.5 en la 18.2. Por consiguiente,

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) + E_0 r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos(2\pi\nu_v t) \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) \quad (18.6)$$

Si se aplica la identidad trigonométrica para el producto de dos cosenos

$$\cos x \cos y = [\cos(x + y) + \cos(x - y)]/2$$

se obtiene, a partir de la ecuación 18.6

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{\text{ex}}t) + \frac{E_0}{2} r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{\text{ex}} - \nu_v)t] + \frac{E_0}{2} r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{\text{ex}} + \nu_v)t] \quad (18.7)$$

El primer término en esta ecuación representa la difusión de Rayleigh, que tiene lugar en la frecuencia de excitación ν_{ex} . El segundo y el tercer términos de la ecuación 18.7 corresponden, respectivamente, a las frecuencias Stokes y anti-stokes de $\nu_{\text{ex}} - \nu_v$ y de $\nu_{\text{ex}} + \nu_v$. En este caso, la frecuencia de excitación ha sido modulada por la frecuencia vibracional del enlace. Es importante resaltar que las reglas de selección de la

difusión Raman requieren que la polarizabilidad varíe durante la vibración; es decir, $\partial\alpha/\partial r$ en la ecuación 18.7 debe ser mayor que cero para que aparezcan líneas Raman. Las reglas de la selección también pronostican que las líneas Raman que corresponden a los modos fundamentales de vibración se presentan con $\Delta\nu = \pm 1$. Al igual que con la espectroscopía en el infrarrojo, surgen transiciones de sobretonos más débiles en $\Delta\nu = \pm 2$.

Ya se hizo notar que en el caso de un enlace determinado, el *desplazamiento* de energía observado en un experimento Raman debería ser idéntico a la *energía* de sus bandas de absorción en el infrarrojo, siempre que los modos de vibración sean activos tanto en el infrarrojo como en la difusión Raman. En la figura 18.4 se ilustra la semejanza de los dos tipos de espectros; se puede comprobar que existen varias bandas con valores idénticos de $\bar{\nu}$ y $\Delta\bar{\nu}$ en los dos compuestos. No obstante, también hay que destacar que las intensidades de las bandas correspondientes son a menudo muy distintas. Además, ciertos picos que se observan en uno de los espectros están ausentes en el otro.

No es sorprendente encontrar diferencias entre un espectro Raman y uno infrarrojo si se considera que los mecanismos básicos, aunque dependen de los mis-

mos modos vibracionales, surgen de procesos que son diferentes desde el punto de vista mecánico. La absorción en el infrarrojo requiere que haya un cambio en el momento dipolar o en la distribución de carga durante la vibración. Sólo así la radiación de la misma frecuencia puede interactuar con la molécula e impulsarla a un estado vibracional excitado. Por el contrario, la difusión necesita una distorsión momentánea de los electrones distribuidos alrededor de un enlace de la molécula, seguida por la reemisión de la radiación cuando el enlace vuelve a su estado normal. En esta forma distorsionada, la molécula está temporalmente polarizada, es decir, produce de manera momentánea un dipolo inducido que desaparece cuando hay relajación y reemisión. Debido a esta diferencia fundamental en el mecanismo, la actividad Raman de un modo vibracional determinado puede diferir marcadamente de su actividad en el infrarrojo. Por ejemplo, una molécula homonuclear, como el nitrógeno, el cloro o el hidrógeno, no tiene momento dipolar ni en la posición de equilibrio, ni cuando la vibración de tensión hace que cambie la distancia entre los dos núcleos. Por consiguiente, no puede haber absorción de la radiación infrarroja con frecuencia igual a la de vibración. Por otra parte, la polarizabilidad del enlace entre los dos átomos de estas moléculas varía periódicamente en fase con las vibraciones de tensión y llega al máximo cuando la separación es máxima, y al mínimo



Clase interactiva: aprenda más acerca de los **espectros Raman e infrarrojo**.

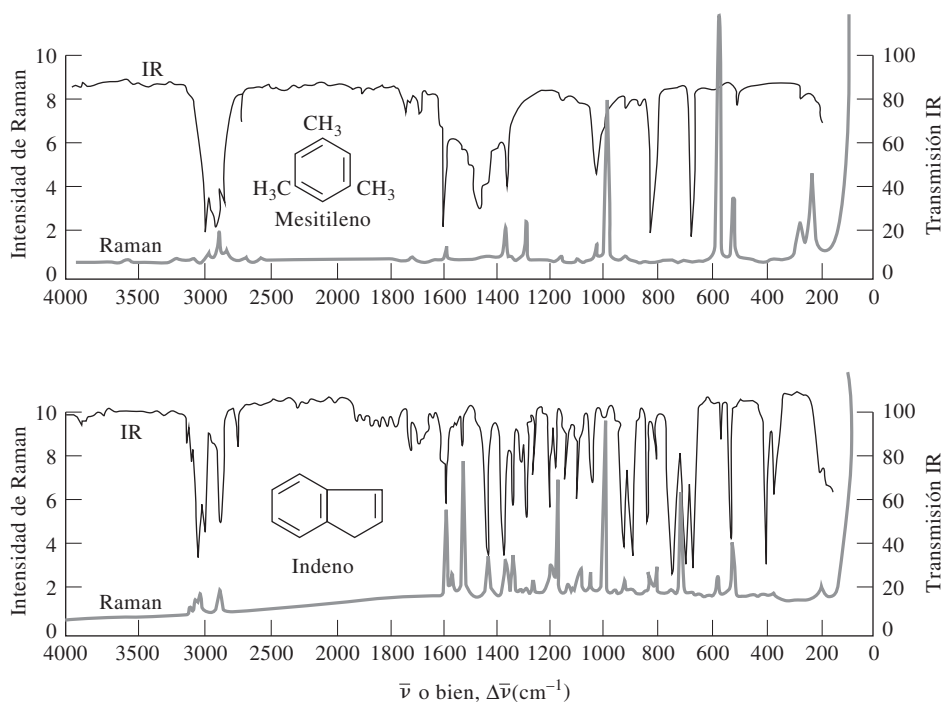


FIGURA 18.4 Comparación de espectros Raman e infrarrojo para mesitileno e indeno. (Cortesía de Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT.)

cuando el acercamiento es el mayor posible. Por ello se obtiene un desplazamiento Raman cuya frecuencia corresponde a la del modo vibracional.

Es interesante comparar las actividades en el infrarrojo y en Raman de modos vibracionales acoplados, como los descritos antes (sección 16A.5) para la molécula de dióxido de carbono. En el modo simétrico no ocurre ningún cambio en el momento dipolar cuando los dos átomos de oxígeno se alejan o se aproximan al átomo de carbono central y, por tanto, este modo de vibración es inactivo en el infrarrojo. Sin embargo, la polarizabilidad oscila en fase con la vibración porque la distorsión de los enlaces es más fácil cuando se alargan y más difícil cuando se acortan. Este modo de vibración se asocia con la actividad Raman.

En cambio, el momento dipolar del dióxido de carbono fluctúa en fase con el modo de vibración asimétrico. Por tanto, se produce una banda de absorción en el infrarrojo en este modo de vibración. Por otra parte, como la polarizabilidad de uno de los enlaces aumenta al alargarse, la polarizabilidad del otro disminuye, lo cual no ocasiona ningún cambio neto en la polarizabilidad molecular. Por consiguiente, la vibración de tensión asimétrica no tiene actividad Raman. En lo que se refiere a moléculas con un centro de simetría, como el CO_2 , ninguna transición activa en el infrarrojo tiene algo en común con las transiciones activas en Raman. A menudo, esto se conoce como *principio de exclusión mutua*.

Con frecuencia, como en los ejemplos anteriores, partes de los espectros Raman e infrarrojo son complementarias, y cada una se asocia con un conjunto distinto de modos de vibración dentro de una molécula. En los casos de moléculas que no son centrosimétricas, muchos de los modos de vibración pueden ser activos tanto en Raman como en el infrarrojo. Tal es el caso de todos los modos de vibración del dióxido de azufre, que produce bandas en ambos. Sin embargo, las intensidades de las bandas son diferentes porque la probabilidad de las transiciones es distinta para los dos mecanismos. Muchas veces, los espectros Raman son más sencillos que los espectros infrarrojos, porque es raro que haya sobretonos y bandas de combinación.

18A.4 Intensidad de las bandas Raman normales

La intensidad o potencia de una banda Raman normal depende de forma compleja de la polarizabilidad de la molécula, la intensidad de la fuente y la concentración del grupo activo, además de otros factores. Cuando no hay absorción, la potencia de la emisión Raman aumenta con la cuarta potencia de la frecuencia de la fuente. No obstante, pocas veces puede aprovecharse esta ventaja debido a la probabilidad de que la radia-

ción ultravioleta origine una fotodescomposición del analito.

Las intensidades Raman suelen ser directamente proporcionales a la concentración de la especie activa. Desde este punto de vista, la espectroscopía Raman se parece más a la fluorescencia que a la absorción, en la cual la relación entre la intensidad y la concentración es logarítmica.

18A.5 Relaciones de despolarización Raman

Además de la información relacionada con la frecuencia y la intensidad, las mediciones Raman proporcionan una variable más que a veces es útil para determinar las estructuras moleculares, a saber, la *relación de despolarización*.² En este caso, es importante distinguir con cuidado entre los términos *polarizabilidad* y *polarización*. El primer término describe una propiedad *molecular* que tiene que ver con la deformabilidad de un enlace. En cambio, la polarización es una propiedad del haz de radiación y describe el plano en el que vibra la radiación.

Cuando se obtienen los espectros Raman mediante una radiación polarizada en un plano, como cuando se utiliza una fuente láser, se observa que la radiación dispersada está polarizada en distintas direcciones, lo cual depende del tipo de vibración responsable de la difusión. La naturaleza de este efecto se ilustra en la figura 18.5, en este caso la radiación procedente de una fuente láser está polarizada en el plano yz . Parte de la radiación dispersada resultante está polarizada paralelamente al haz original, es decir, en el plano xz ; la intensidad de esta radiación se simboliza por el subíndice $\parallel$. El resto del haz dispersado está polarizado en el plano xy que es perpendicular a la polarización del haz original; la intensidad de esta radiación, polarizada perpendicularmente, se indica con el subíndice $\perp$. La relación de despolarización p se define como

$$p = \frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} \quad (18.8)$$

Desde el punto de vista experimental, la relación de despolarización se obtiene insertando una lámina Polaroid u otro polarizador entre la muestra y el monocromador. Los espectros se obtienen cuando el eje de la lámina está orientado paralelamente primero al plano xz y luego al plano xy , tal como se indica en la figura 18.5.

La relación de despolarización depende de la simetría de las vibraciones causantes de la difusión. Por ejemplo, la banda del tetracloruro de carbono a 459 cm^{-1} (figura 18.2) proviene de una vibración “de respiración” totalmente simétrica que involucra el movi-

²D. P. Strommen, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, p. 803.

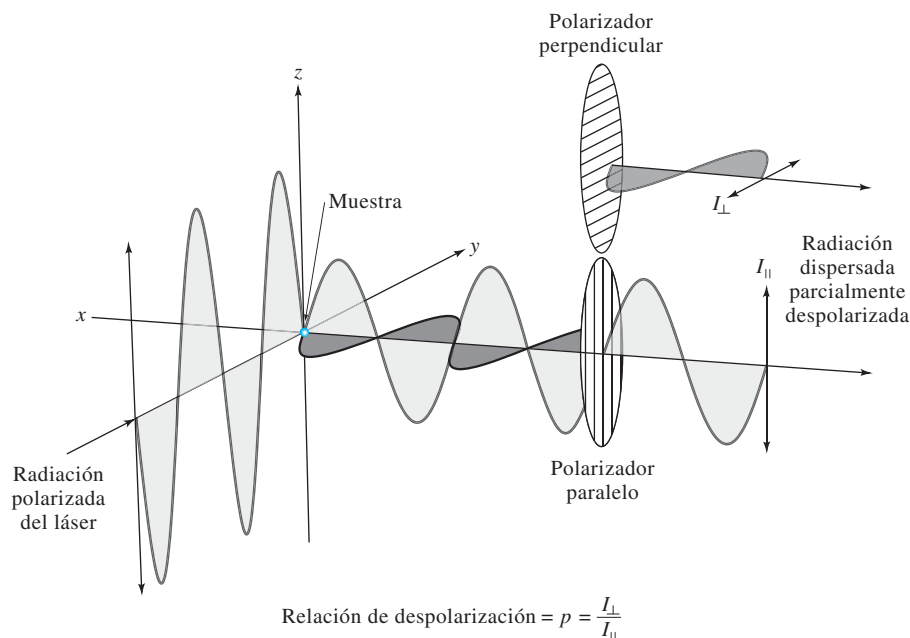


FIGURA 18.5 Despolariación resultante de la difusión Raman.

miento simultáneo de los cuatro átomos de cloro, que forman un tetraedro, hacia el átomo de carbono central o bien alejándose de él. La relación de despolariación es 0.005, lo que indica una despolariación mínima. Por eso se dice que la línea a 459 cm^{-1} está polarizada. En cambio, las bandas del tetracloruro de carbono a 218 y 314 cm^{-1} , que provienen de vibraciones no simétricas, presentan relaciones de despolariación de casi 0.75. De acuerdo con la teoría de la difusión es posible demostrar que la despolariación máxima para las vibraciones no simétricas es de $6/7$, y para las vibraciones simétricas la relación es siempre menor a este valor. Por tanto, la razón de despolariación es útil para correlacionar las líneas Raman con los modos de vibración.

18B INSTRUMENTOS

Los instrumentos para la espectroscopía Raman moderna constan de una fuente láser, un sistema para iluminar la muestra y un espectrómetro apropiado, como se ilustra en la figura 18.6.³ Sin embargo, las características de funcionamiento de estos componentes son más rigurosos que para los espectrómetros moleculares que ya se describieron debido a la inherente debilidad de la señal de difusión de Raman comparada con la señal producida por la difusión de Rayleigh.

³Si desea un panorama de los instrumentos adecuados para Raman, véase C. M. Harris, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 75A y **2002**, 74, p. 433A.

18B.1 Fuentes

Las fuentes utilizadas en la espectrometría Raman moderna son casi siempre rayos láser porque su alta intensidad es necesaria para producir difusión Raman lo suficientemente intensa como para poderse medir con una relación señal-ruido razonable. En la tabla 18.1 se enumeran cinco de los rayos láser más utilizados en la espectroscopía Raman. Como la intensidad de la dispersión Raman varía con la cuarta potencia de la frecuencia, las fuentes de ion argón y criptón, que emiten en la región azul y verde del espectro, tienen esta ven-

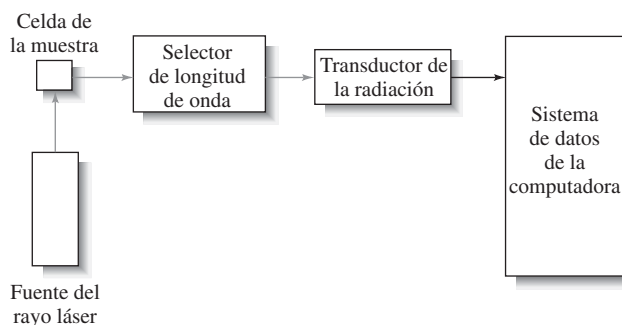


FIGURA 18.6 Diagrama de bloques de un espectrómetro Raman. La radiación de rayo láser se dirige hacia la celda de la muestra. La difusión Raman se mide por lo regular en ángulos rectos para evitar ver la fuente de radiación. Un selector de longitud de onda aísla la región del espectro deseada. El transductor convierte la señal Raman en una señal eléctrica proporcional que es procesada mediante el sistema de datos de la computadora.

TABLA 18.1 Algunas fuentes láser comunes en espectroscopía Raman.

Tipo de láser	Longitud de onda, nm
Ion argón	488.0 o bien 514.5
Ion criptón	530.9 o bien 647.1
Helio-neón	632.8
De diodos	785 o bien 830
Nd-YAG	1064

taja sobre las otras fuentes de la tabla. Por ejemplo, la línea del ion argón a 488 nm proporciona líneas Raman que son casi tres veces más intensas que las que produce la fuente helio/neón, para la misma potencia de entrada. No obstante, estas fuentes de longitud de onda corta tienen la capacidad de ocasionar fluorescencia importante, así como fotodescomposición de la muestra.

Las dos últimas fuentes de la tabla, que emiten radiación del infrarrojo cercano, se usan cada vez más como fuentes de excitación porque presentan dos ventajas importantes sobre los rayos láser de longitud de onda más corta. La primera es que pueden funcionar a potencias muy superiores (hasta 50 W), sin ocasionar fotodescomposición de la muestra. La segunda es que carecen de energía suficiente para poblar una cantidad importante de estados electrónicos energéticos capaces de producir fluorescencia en la mayoría de las moléculas. Por tanto, la fluorescencia es en general mucho menos intensa o inexistente con estos rayos láser. El rayo láser de Nd-YAG (siglas en inglés de granate de aluminio e itrio impurificado con iones de neodimio), que se usa en los espectrómetros Raman de transformada de Fourier es particularmente efectivo para eliminar la fluorescencia. Las dos líneas del láser de diodos en serie a 782 y 830 nm también reducen en gran medida la fluorescencia en la mayoría de los casos.

En la figura 18.7 se ilustra un ejemplo en el que la fuente de Nd-YAG elimina por completo la fluorescencia de fondo. La curva superior se obtuvo con un equipo Raman ordinario que utiliza la línea a 514.5 nm del láser de ion argón para la excitación. Se trata de una muestra de antraceno, y la mayor parte de la señal registrada procede de la fluorescencia del compuesto. La curva inferior gris procede de la misma muestra, pero se registró con un espectrómetro de transformada de Fourier equipado con un láser de Nd-YAG que emite a 1064 nm. Observe la ausencia total de fluorescencia en la señal de fondo.

La longitud de onda de excitación se debe escoger con todo cuidado en la espectrometría Raman. No sólo la fotodescomposición y la fluorescencia representan problemas, sino que las muestras con color y al-

gunos solventes son capaces de absorber la radiación Raman incidente o dispersada. Por consiguiente, se requiere más de una fuente o varias fuentes de longitudes de onda múltiples.

18B.2 Sistema de iluminación de la muestra

La manipulación de las muestras en espectroscopía Raman es más sencilla que en espectroscopía en el infrarrojo porque se puede usar vidrio para las ventanas, las lentes y otros componentes ópticos, en lugar de los haluros cristalinos que resultan más frágiles y menos estables en la atmósfera. Además, la fuente láser se puede enfocar con facilidad sobre una zona pequeña de la muestra y la radiación emitida también se puede enfocar de manera eficaz sobre la rendija de entrada o salida de un espectrómetro. El resultado es que se pueden examinar muestras muy pequeñas. De hecho, un portamuestras común para muestras líquidas no absorbentes es un capilar ordinario como los que se usan para medir el punto de fusión del vidrio.

Muestras gaseosas

Por lo regular, los gases están contenidos en recipientes de vidrio de 1 a 2 cm de diámetro y de casi 1 mm de espesor. También se puede introducir el gas en tubos capilares pequeños y luego sellarlos. En el caso de dispersores débiles se puede utilizar un aparato externo de

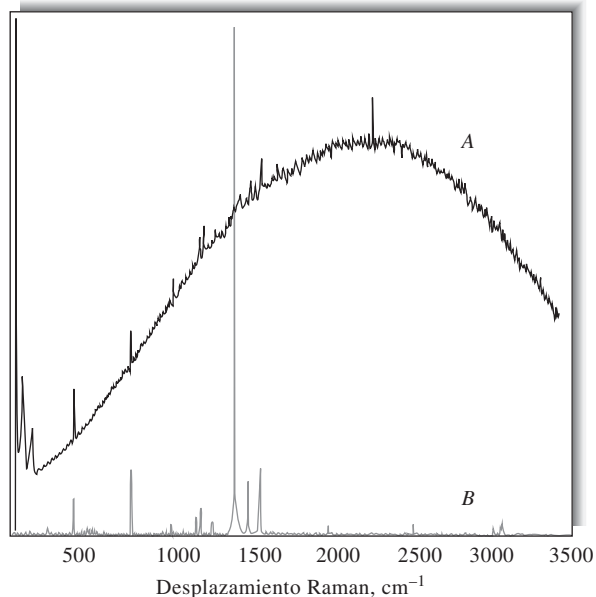


FIGURA 18.7 Espectros del antraceno tomados con un instrumento Raman ordinario con una fuente de rayo láser de ion argón a 514.5 nm en (A) y con un instrumento Raman de transformada de Fourier con una fuente Nd-YAG a 1064 nm en (B). (Tomado con autorización de B. Chase, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 881A. Figura 5, p. 888A. Copyright 1987 American Chemical Society.)

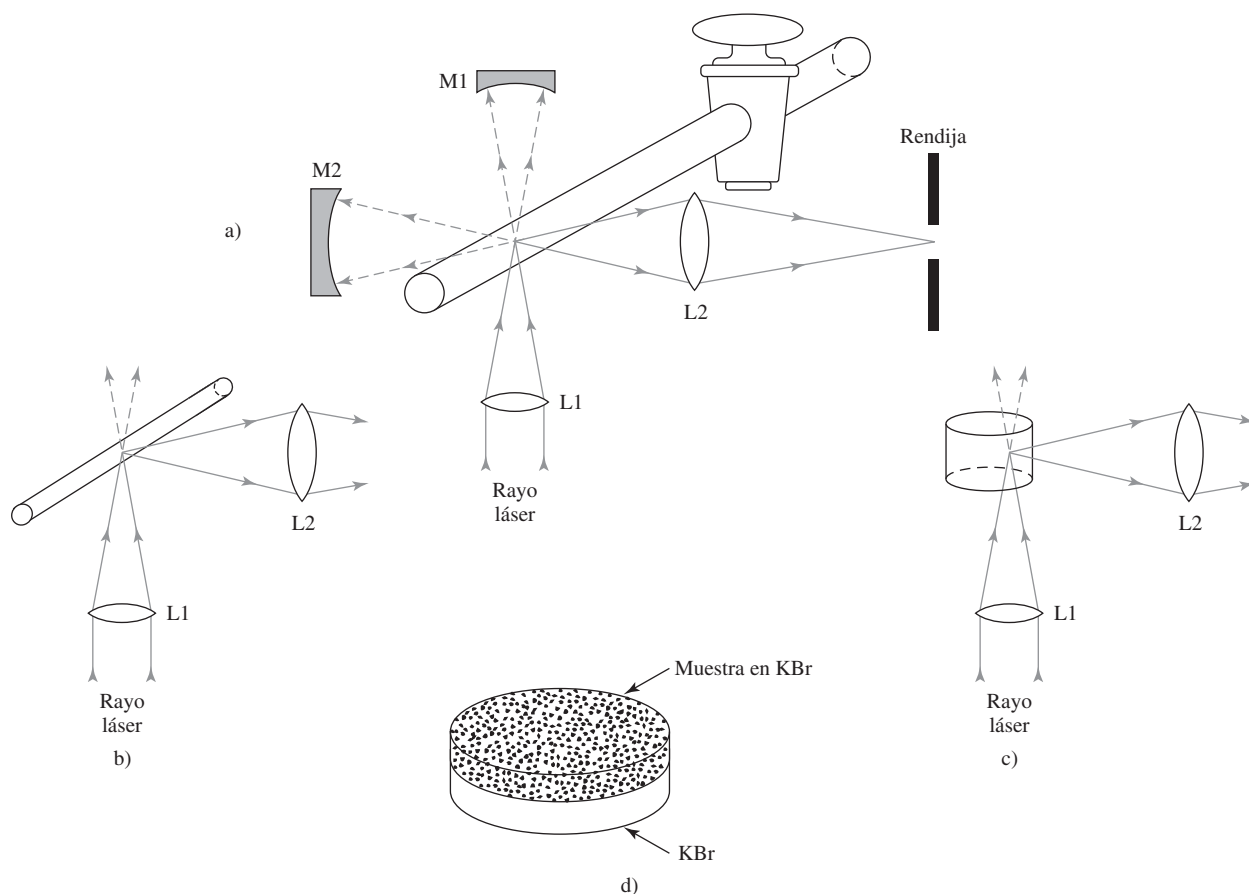


FIGURA 18.8 Sistemas de iluminación para la muestra en la espectrometría Raman. En a) Se ilustra una celda para gas con espejos externos para pasar el rayo láser a través de la muestra varias veces. b) Las celdas para líquidos pueden ser capilares. c) O celdas cilíndricas. d) Los sólidos se pueden estudiar en la forma de polvos comprimidos en capilares o como pastillas de KBr.

pasos múltiples con espejos que se muestra en la figura 18.8a. La difusión Raman resultante perpendicular al tubo de la muestra y al haz láser de excitación se enfoca luego en la rendija de entrada del espectrómetro mediante una lente potente (L2 en la figura).

Muestras líquidas

Los líquidos pueden estar contenidos en ampollas, tubos de vidrio o capilares sellados. En la figura 18.8b y c se muestran dos de los diversos sistemas para iluminar líquidos. En la figura 18.8b se ilustra una celda capilar. Los capilares pueden medir de 0.5 a 0.1 mm de diámetro y 1 mm de largo. Los espectros de volúmenes de muestra en nanolitros se pueden obtener mediante celdas capilares. Una celda capilar grande, como la que se ilustra en la figura 18.8c se utiliza si se desea reducir el calentamiento local, sobre todo en las muestras absorbentes. El rayo láser se enfoca en una zona cercana a la pared para reducir al mínimo la absorción del rayo incidente. Con frecuencia se consigue una re-

ducción mayor del calentamiento local si se hace girar la muestra.

La ventaja principal en cuanto a la manipulación de la muestra en espectroscopía Raman comparada con la espectroscopía en el infrarrojo es que el agua es un dispersor Raman débil que absorbe fuertemente la radiación infrarroja. Por ello, las soluciones acuosas se pueden estudiar por espectroscopía Raman, pero con muchas dificultades en el infrarrojo. Esta ventaja es particularmente importante para los sistemas biológicos e inorgánicos y para los estudios relacionados con la contaminación del agua.

Muestras sólidas

A menudo, los espectros Raman de muestras sólidas se obtienen al llenar una pequeña cavidad o un capilar con la muestra finamente pulverizada. Por lo general, los polímeros se pueden examinar directamente sin tratamiento previo de la muestra. En algunos casos se utilizan pastillas de KBr similares a las que se usan en

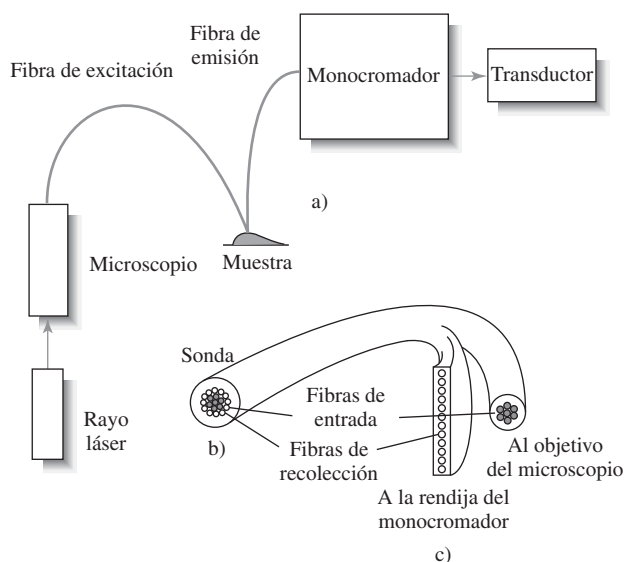


FIGURA 18.9 Espectrómetro Raman con sonda de fibra óptica. En a) el objetivo de un microscopio enfoca la radiación láser en las fibras de excitación que transportan el rayo hasta la muestra. La difusión Raman es recolectada por las fibras de emisión y transportada hasta la rendija de entrada de un monocromador o hasta la entrada de un interferómetro. Un transductor de radiación, como un tubo fotomultiplicador, transforma la intensidad de la luz difundida en una corriente proporcional o en una relación de pulsos; b) vista del extremo de la sonda; c) vista del extremo de las fibras de recolección en la rendija de entrada del monocromador. Los círculos sombreados representan la fibra de entrada y los círculos sin sombrear, las fibras de recolección. (Adaptación de R. L. McCreery, M. Fleischmann y P. Hendra, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, p. 146. Figura 1, p. 147. Copyright 1983 American Chemical Society.)

la espectroscopía en el infrarrojo, como se muestra en la figura 18.8d. La mezcla con KBr tiene la aptitud de reducir la descomposición de la muestra producida por el calentamiento local.

Muestreo con fibra óptica

Una de las ventajas importantes de la espectrometría Raman es que utiliza radiación visible o infrarroja cercana que puede transmitirse a través de una distancia considerable (tanto como 100 m o más) por medio de fibra óptica. En la figura 18.9 se muestra el esquema de un instrumento Raman característico para el muestreo que usa una sonda de fibra óptica. En este caso, se usa la lente del objetivo de un microscopio para enfocar el haz de excitación láser sobre un extremo de una fibra de excitación de un conjunto de ellas. Estas fibras llevan la radiación de excitación a la muestra y pueden estar sumergidas en muestras líquidas o ser usadas para iluminar sólidos. Una segunda fibra o haz de fi-

bras recolecta la dispersión Raman y la transporta a la rendija de entrada del espectrómetro. En la actualidad se dispone de diversos instrumentos comerciales equipados con dichas sondas.

El espectro Raman que se presenta en la figura 18.10 ilustra de qué manera se puede utilizar una sonda de fibra óptica para supervisar procesos químicos. En este caso, la sonda de fibra óptica se usó para vigilar la cristalización de gota colgante de la aprotinina (un inhibidor de la proteasa llamada serina) y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en solución acuosa. Las bandas Raman fueron atribuidas tanto a la proteína como a la sal. Mediante técnicas quimiométricas se correlacionaron los cambios en el espectro durante la cristalización con el agotamiento tanto de la proteína como de la sal. Los autores fueron capaces de determinar con exactitud la supersaturación de la aprotinina aplicando esta técnica.

Las sondas de fibra óptica están demostrando ser muy útiles para obtener espectros Raman en lugares alejados del sitio donde se halla la muestra. Entre los ejemplos están los ambientes hostiles, como reactores peligrosos o sales fundidas, muestras biológicas, como tejidos o paredes de las arterias, y muestras ambientales, como agua subterránea o de mar.

Microsondas Raman

Un accesorio de gran aceptación para los espectrómetros Raman es la microsonda Raman. Los primeros intentos en la microscopía Raman se realizaron en los años sesenta. En la actualidad, varias compañías fabrican accesorios para microsondas. En éstos, la muestra se coloca en el portaobjetos de un microscopio donde se le ilumina con luz visible. Después de seleccionar la zona que se desea ver y de ajustar el foco, la lámpara de iluminación se desactiva y el rayo láser de ex-

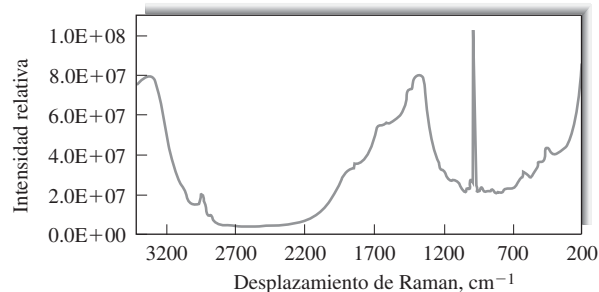


FIGURA 18.10 Espectro Raman de una solución acuosa que contiene aprotinina (100 mg/mL) y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1.0 M) en una solución amortiguadora de acetato de sodio 50 mM a un pH de 4.5 y 24°C. Se usó una fuente de rayo láser de diodo a 785 nm con un detector con dispositivo de acoplamiento de carga. (Tomado de R. E. Tamagawa, E. A. Miranda y K. A. Berglund, *Cryst. Growth Des.*, **2002**, 2, p. 511. Figura 1, p. 512. Copyright 2002 American Chemical Society.)

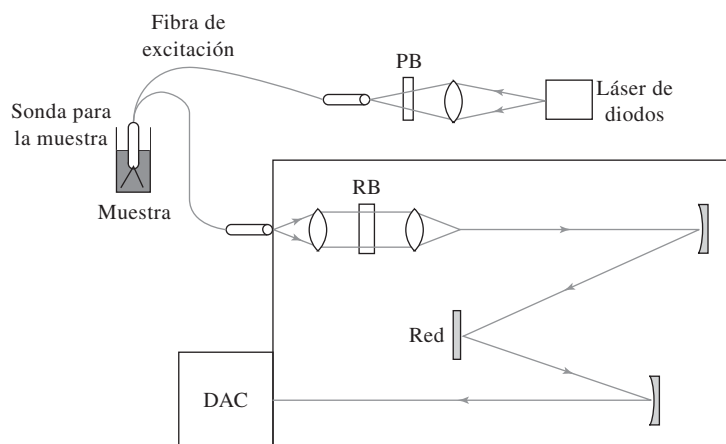


FIGURA 18.11 Espectrómetro Raman de fibra óptica con espectrógrafo y detector con dispositivo de acoplamiento de carga (DAC). El filtro pasabanda (PB) se utiliza para aislar una sola línea del rayo láser. El filtro de rechazo de banda (RB) reduce al mínimo la radiación difundida de Rayleigh.

citación se dirige hacia la muestra. Con los equipos ópticos modernos, la microsonda Raman puede conseguir espectros de alta calidad sin preparación de la muestra, en cantidades de picogramos y con una resolución espacial de 1 μm .

18B.3 Espectrómetros Raman

Hasta comienzos de los años ochenta, los espectrómetros Raman tenían diseños semejantes y utilizaban el mismo tipo de componentes que los instrumentos dispersivos ultravioleta-visible clásicos descritos en la sección 13D.3. Casi todos empleaban sistemas de doble red para minimizar la radiación parásita y la difusión de Rayleigh que llegaba al transductor. Como transductores se utilizaban fotomultiplicadores. En la actualidad, la mayoría de los espectrómetros Raman que se comercializan son instrumentos de transformada de Fourier con transductores de germanio enfriados o instrumentos multicanal con dispositivos de acoplamiento de carga.

Dispositivos y transductores para seleccionar la longitud de onda

En la espectroscopía Raman se requiere un dispositivo de alta calidad para seleccionar la longitud de onda con el fin de separar las líneas Raman, relativamente débiles, de la intensa radiación difundida de Rayleigh. Los espectrómetros Raman dispersivos tradicionales estaban equipados con monocromadores de doble y hasta triple red con este objetivo. En los años recientes, los filtros de interferencia holográficos, llamados *filtros de ranura* o *de muesca*, y las redes holográficas han mejorado a tal grado que han eliminado en la práctica la necesidad de monocromadores de redes múltiples. En efecto, en la mayoría de los instrumentos

dispersivos comerciales se puede encontrar la combinación de un filtro de muesca y un monocromador de red de alta calidad.

Los instrumentos con monocromadores invariablemente contienen tubos fotomultiplicadores como transductores debido a las señales tan débiles que miden. La mayoría de los espectrómetros también están equipados con sistemas que cuentan los fotones para medir la intensidad Raman. Puesto que el conteo de fotones es inherentemente una técnica digital, dichos sistemas se instalan con facilidad en los sistemas de datos de las computadoras modernas.

Muchos de los instrumentos Raman más recientes han reemplazado los monocromadores de salida de una sola longitud de onda con un espectrógrafo y un detector en red. Los fotodiodos en serie fueron el primer detector que se utilizó; facilitan la recolección simultánea de espectros de Raman completos. Los fotodiodos en serie se usan junto con un intensificador de imágenes para amplificar la débil señal Raman.

En tiempo reciente, los dispositivos de transferencia de carga, como los dispositivos de acoplamiento de carga y de inyección de carga, se han utilizado en los espectrómetros Raman. La figura 18.11 ilustra un espectrómetro Raman de fibra óptica que usa un dispositivo de acoplamiento de carga como detector multicanal. En este caso, filtros pasabanda y de rechazo de banda (o de muesca) de alta calidad proporcionan un buen rechazo de la luz parásita. El dispositivo de acoplamiento de carga puede ser bidimensional o, en algunos casos, lineal.

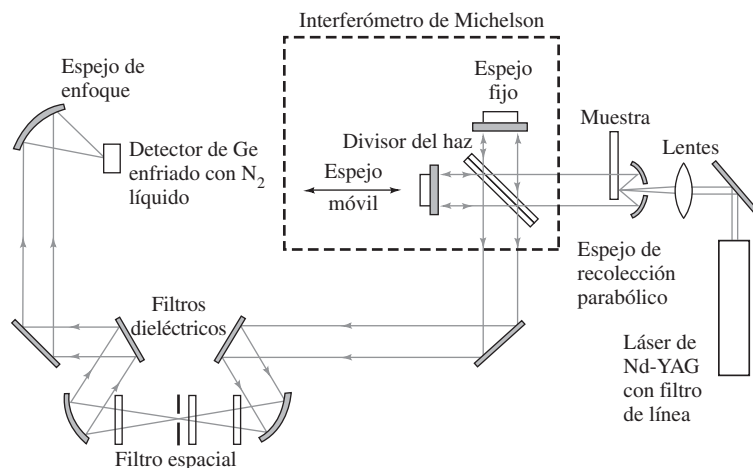
Espectrómetros Raman de transformada de Fourier

El instrumento Raman de transformada de Fourier está equipado con un interferómetro de Michelson, similar al que se usa en los espectrómetros IR de transformada de Fourier, y con un rayo láser Nd-YAG de



Clase interactiva: aprenda más acerca de los **instrumentos Raman**.

FIGURA 18.12 Esquema óptico de un instrumento Raman de transformada de Fourier. La radiación del rayo láser atraviesa la muestra y luego el interferómetro, que consta de un divisor de haces y los espejos fijo y móvil. La señal de salida del interferómetro se filtra rigurosamente para eliminar la radiación láser parásita y la difusión de Rayleigh. Después de atravesar los filtros, la radiación se enfoca sobre un detector de Ge enfriado con N_2 líquido.



onda continua, como se muestra en la figura 18.12. El uso de una fuente de 1064 nm ($1.064 \mu\text{m}$) elimina virtualmente la fluorescencia o la fotodescomposición de las muestras. Por tanto, los colorantes y otros compuestos fluorescentes pueden ser estudiados con los instrumentos Raman de transformada de Fourier. Éstos también proporcionan una precisión mucho mejor de la frecuencia comparados con los instrumentos ordinarios, lo cual facilita las sustracciones de espectros y las mediciones de alta resolución.

Una desventaja del espectrómetro Raman de transformada de Fourier es que el agua absorbe en la región de 1000 nm, lo cual puede anular la ventaja del instrumento de ser capaz de usar soluciones acuosas. Asimismo, los filtros ópticos, como se muestra en la figura 18.12, son una necesidad. La luz parásita procedente del rayo láser se tiene que eliminar porque tiene la capacidad de saturar a muchos transductores. La línea de difusión de Rayleigh es a menudo seis órdenes de magnitud mayor que las líneas Raman del desplazamiento de Stokes, y la intensidad de dicha línea se tiene que reducir al mínimo antes de que choque con el transductor. Para este objetivo se usan filtros de muesca holográficos y de otros tipos. Puesto que la difusión de Raman procedente de un rayo láser Nd-YAG puede ocurrir a longitudes de onda tan largas como 1700 nm, no se usan fotomultiplicadores ni muchos de los detectores en serie. En cambio, la mayoría de los instrumentos Raman de transformada de Fourier están equipados con dispositivos fotoconductores de In-GaAs y Ge como transductores. Dichos dispositivos funcionan casi siempre a temperaturas criogénicas.

El espectrómetro Raman de transformada de Fourier tienen muchas ventajas únicas. No obstante, las limitaciones mencionadas antes significan que los instrumentos Raman dispersivos se utilizarán ampliamente durante un tiempo.

18C APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPÍA RAMAN

La espectroscopía Raman se aplica en el análisis cualitativo y cuantitativo de sistemas inorgánicos, orgánicos y biológicos.⁴

18C.1 Espectros Raman de especies inorgánicas

A menudo la técnica Raman es superior a la espectroscopía de infrarrojo para la investigación de sistemas inorgánicos, debido a que se pueden utilizar soluciones acuosas.⁵ Además, las energías de vibración de los enlaces metal-ligando se encuentran por lo general entre 100 y 700 cm^{-1} , una región del infrarrojo que es difícil de estudiar experimentalmente. Estas vibraciones son a menudo activas en Raman, y las líneas con valores $\Delta\bar{\nu}$ en este intervalo se observan con facilidad. Los estudios Raman son fuentes de información potencialmente útiles respecto a la composición, estructura y estabilidad de los compuestos de coordinación. Por ejemplo, numerosos complejos de halógenos y halogenoides presentan espectros Raman y, por consiguiente, son susceptibles de investigarse mediante esta técnica. Los enlaces metal-oxígeno también son activos en Raman. Se han obtenido los espectros Raman de especies como VO_3^{4-} , $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, $\text{Si}(\text{OH})_6^{2-}$, y $\text{Sn}(\text{OH})_6^{2-}$. Los estudios Raman han sido útiles en la determinación de las probables estructuras de éstas y otras especies similares. Por ejemplo, en soluciones de ácido perclórico el vanadio (IV) parece estar presente como $\text{VO}^{2+}(\text{aq})$ y no como $\text{V}(\text{OH})_2^{2+}(\text{aq})$. Los estudios de las soluciones de ácido bórico indican que el anión formado por la disociación del ácido es el ion

⁴ Véase *Analytical Raman Spectroscopy*, J. G. Grasselli y B. J. Bulkin, eds., Nueva York: Wiley, 1991.

⁵ Véase K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 5a. ed., Nueva York: Wiley, 1996.

tetraédrico $\text{B}(\text{OH})_4^-$ y no el H_2BO_3^- . Se han calculado las constantes de disociación de ácidos fuertes como el H_2SO_4 , HNO_3 , H_2SeO_4 y H_5IO_6 a partir de mediciones con espectroscopía Raman. Parece probable que, en el futuro, se verá un uso aún más amplio de la espectroscopía Raman para la comprobación teórica y los estudios estructurales de sistemas inorgánicos.

18C.2 Espectros Raman de especies orgánicas

Los espectros Raman son semejantes a los espectros de infrarrojo en cuanto a que presentan regiones útiles para la detección de grupos funcionales y regiones de “huella dactilar” que permiten identificar compuestos específicos. Daimay y sus colaboradores publicaron un trabajo muy completo sobre las frecuencias Raman de grupos funcionales.⁶

Los espectros Raman proporcionan más información acerca de ciertos tipos de compuestos orgánicos que los correspondientes espectros de infrarrojo. Por ejemplo, la vibración de tensión del doble enlace en las olefinas produce una absorción débil en el infrarrojo y a veces no se puede detectar. Por otra parte, la banda Raman que, como la banda en el infrarrojo, se presenta aproximadamente a 1600 cm^{-1} es intensa y su posición depende de la naturaleza de los sustituyentes y de su forma. Por consiguiente, los estudios de espectroscopía Raman son apropiados para proporcionar información útil acerca de los grupos funcionales olefínicos, los cuales podrían no manifestarse en los espectros de infrarrojo. Lo mismo se puede decir de los derivados cicloparafínicos; estos compuestos tienen una banda Raman característica en la región de 700 a 1200 cm^{-1} que se atribuye a una vibración de respiración en la que los núcleos se mueven de manera simétrica hacia dentro y hacia fuera respecto al centro del anillo. La posición de la banda disminuye en forma continua desde 1190 cm^{-1} para el ciclopropano hasta 700 cm^{-1} para el ciclooctano; por tanto, la espectroscopía Raman constituye una excelente herramienta para estimar el tamaño del anillo en las parafinas cíclicas. La banda en el infrarrojo asociada con esta vibración es débil o inexistente.

18C.3 Aplicaciones biológicas de la espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman se aplica ampliamente en el estudio de sistemas biológicos.⁷ Entre las ventajas de

esta técnica están el tamaño pequeño de muestra que se requiere, la mínima interferencia del agua, los detalles del espectro y la sensibilidad respecto a los factores conformacionales y del entorno.

18C.4 Aplicaciones cuantitativas

Los espectros Raman tienden a mostrar menos amontonamiento de bandas que los espectros infrarrojos. Como consecuencia, es menos probable el traslape de picos en las mezclas, y las medidas cuantitativas son más sencillas. Además, los portamuestras en Raman no están sujetos al ataque de la humedad y las pequeñas cantidades de agua presentes en la muestra no interfieren. A pesar de estas ventajas, la espectroscopía Raman apenas ha sido explotada en el análisis cuantitativo. El uso creciente de la espectroscopía Raman se debe a la disponibilidad de instrumentos Raman rutinarios baratos.

Como los haces láser se pueden enfocar con mucha precisión, es posible efectuar análisis cuantitativos de muestras muy pequeñas. La microsonda Raman se usa en la determinación de analitos en células bacterianas aisladas, componentes en partículas individuales de humo y cenizas en suspensión, y especies en incrustaciones microscópicas en minerales. Las superficies han sido examinadas al sintonizar el instrumento en un modo de vibración dado. Esto resulta en una imagen de las regiones sobre una superficie en las que está presente un enlace particular o un grupo funcional.

La microsonda Raman desempeñó un papel decisivo en la autenticación de unos documentos presumiblemente antiguos como el mapa de Vinland (véase el “Análisis instrumental en acción” que está al final de la sección 3). En el caso del mapa, la microscopía Raman demostró de manera concluyente la presencia de TiO_2 en la tinta.

18D OTROS TIPOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN

Con el desarrollo de los rayos láser sintonizables, a principios de los años setenta surgieron varios métodos nuevos de espectroscopía Raman. A continuación se tratan brevemente las aplicaciones de algunas de estas técnicas.

18D.1 Espectroscopía Raman de resonancia

La dispersión Raman de resonancia hace referencia a un fenómeno en el cual las intensidades de las líneas Raman son realizadas en gran manera al excitarlas con longitudes de onda que se aproximan mucho a la banda de absorción electrónica de un analito.⁸ En es-

⁶L. Daimay, N. B. Colthup, W. G. Fatley y J. G. Grasselli, *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*, Nueva York: Academic Press, 1991.

⁷Véase J. R. Ferraro, K. Nakamoto y C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2a. ed., San Diego: Academic Press, 2003, cap. 6; *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*, H. U. Gremlich y B. Yan, eds., Nueva York: Marcel Dekker, 2001; *Biological Applications of Raman Spectroscopy*, T. G. Spiro, ed., vol. 1-3, Nueva York: Wiley, 1987-1988.

⁸Para una breve revisión véase T. G. Spiro y R. S. Czernuszewicz en *Physical Methods in Bioinorganic Chemistry*, L. Que, ed., Sausalito, CA: University Science Books, 2000; S. A. Asher, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 59A.

tas circunstancias, las magnitudes de las líneas Raman asociadas con las vibraciones más simétricas aumentan en un factor de 10^2 a 10^6 . Por consiguiente, se han podido obtener espectros Raman de resonancia con concentraciones tan bajas de analito como 10^{-8} M. Estos niveles de sensibilidad contrastan con los estudios Raman normales, los cuales se limitan de ordinario a concentraciones mayores que 0.1 M. Además, puesto que el aumento de la resonancia se limita a las bandas Raman asociadas con el cromóforo, por lo regular, los espectros Raman de resonancia son muy selectivos.

La figura 18.13a ilustra los cambios de energía causantes de la dispersión Raman de resonancia. Esta figura difiere del diagrama de energía correspondiente a la dispersión Raman normal (figura 18.3) en que el electrón es impulsado a un estado electrónico excitado seguido por una relajación inmediata al nivel vibracional del estado electrónico fundamental. Como se muestra en la figura, la dispersión Raman de resonancia difiere de la fluorescencia (figura 18.13b) en que la relajación al estado fundamental no está precedida de una relajación hacia el nivel vibracional más bajo del estado electrónico excitado. Las escalas de tiempo para los dos fenómenos son también bastante diferentes, la relajación Raman ocurre en menos de 10^{-14} s; en cambio, la emisión fluorescente tiene lugar entre 10^{-6} a 10^{-10} s.

La intensidad de las líneas en un experimento Raman de resonancia aumenta con rapidez cuando la longitud de onda de excitación se aproxima a la longitud de onda de la banda de absorción electrónica. Por consiguiente, se necesita un láser sintonizable para conseguir el mayor incremento de señal en un intervalo ancho de máximos de absorción. Con una radiación láser intensa, la descomposición de la muestra se puede convertir en un gran problema porque las bandas de absorción electrónica se producen con frecuencia en la región ultravioleta. Para evitar este problema, es una práctica normal desplazar la muestra de forma circular por delante del haz enfocado del láser. Para hacer circular la muestra hay dos maneras: bombear la solución o el líquido a través de un capilar instalado en el compartimiento de la muestra o girar una celda cilíndrica que contiene la muestra a través del rayo láser. De esta manera, sólo una pequeña fracción de la muestra es irradiada en un instante dado, y así se reduce al mínimo su calentamiento y descomposición.

Tal vez la aplicación más importante de la espectroscopia Raman de resonancia es el estudio de moléculas biológicas en condiciones fisiológicamente importantes; es decir, en presencia de agua y a concentraciones de bajas a moderadas. Por ejemplo, la técnica se utiliza para determinar el estado de oxidación y el espín de los átomos de hierro en la hemoglobina y el citocromo c.

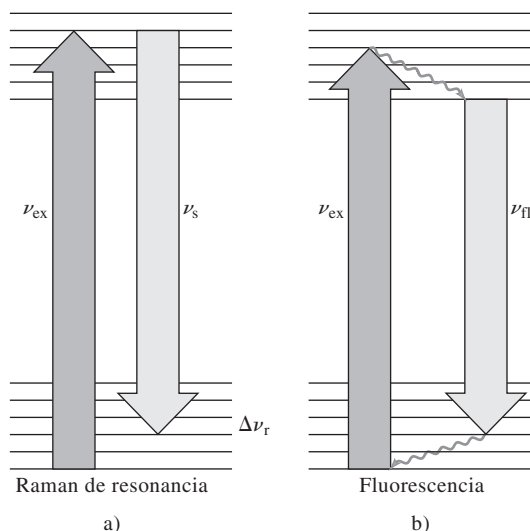


FIGURA 18.13 Diagrama de energía para a) la difusión Raman de resonancia y b) la emisión fluorescente. La relajación no radiante se indica con flechas onduladas. En el caso de la resonancia Raman, el electrón excitado se relaja de inmediato a un nivel de vibración del estado electrónico fundamental al ceder un fotón de Stokes ν_s . En la fluorescencia, la relajación hasta el nivel de vibración más bajo del estado electrónico excitado ocurre antes de la emisión. La difusión Raman de resonancia es casi instantánea, y las bandas espectrales son muy angostas. En general, la emisión de fluorescencia tiene lugar en la escala de tiempo de nanosegundos. Los espectros de fluorescencia son casi siempre anchos debido a los diversos estados vibracionales.

En estas moléculas, las bandas Raman de resonancia se deben únicamente a los modos de vibración del cromóforo tetrapirrol. Ninguna de las otras bandas asociadas con la proteína se acentúa y, por tanto, éstas no interfieren en las concentraciones que se utilizan normalmente.

La espectrometría Raman de resonancia con resolución en el tiempo es una técnica que facilita la recolección de espectros Raman de moléculas en estado excitado. Se utiliza para estudiar los intermediarios en las reacciones enzimáticas, los espectros de los estados excitados de los carotenoides, las etapas ultrarrápidas de transferencia de electrones y una variedad de otros procesos biológicos y bioinorgánicos.⁹ Los métodos de discriminación en el tiempo se aplican para superar una de las principales limitaciones de la espectroscopia Raman de resonancia, a saber, la interferencia causada por la fluorescencia del propio analito o de otras especies presentes en la muestra.

⁹ J. R. Kincaid y K. Czarniecki en *Comprehensive Coordination Chemistry II*, J. A. McCleverty y T. J. Meyer, eds., Oxford: Elsevier, 2004.

18D.2 Espectroscopía Raman de superficie aumentada

La espectroscopía Raman de superficie aumentada¹⁰ supone la obtención de espectros Raman, a la manera usual, de muestras que se adsorben sobre la superficie de partículas metálicas coloidales, casi siempre plata, oro o cobre; o bien, sobre superficies rugosas de trozos de estos metales. Por razones que apenas se empiezan a entender, al menos semicuantitativamente, las líneas Raman de la molécula adsorbida se intensifican a menudo en un factor de 10^3 a 10^6 . Cuando el incremento de superficie se combina con la técnica de resonancia aumentada, que se trató en la sección anterior, el incremento neto de la intensidad de la señal es más o menos el producto de la intensidad producida por cada una de las técnicas. En consecuencia, se han llegado a conseguir límites de detección del orden de 10^{-9} a 10^{-12} M.

Se han utilizado varias técnicas para la manipulación de la muestra en la espectroscopía de superficie aumentada. En una de ellas se suspenden partículas de plata u oro coloidal en una solución diluida, casi siempre acuosa, de la muestra. A continuación, la solución se mantiene en reposo o se hace fluir por un tubo de vidrio estrecho mientras se le excita con un haz láser. En otro de los métodos se deposita una delgada película de partículas metálicas coloidales sobre una placa de vidrio y se añaden una o dos gotas de solución de la muestra sobre la película. Luego se obtiene el espectro Raman en la forma usual. Otra posibilidad es depositar electrolíticamente la muestra sobre un electrodo metálico rugoso que después se retira de la solución y se expone a la fuente de excitación láser.

¹⁰ Véase M. J. Weaver, S. Zou y H. Y. Chan, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, pp. 38A-47A. American Chemical Society.

18D.3 Espectroscopía Raman no lineal

En la sección 7B.3 se señaló que muchos rayos láser son bastante intensos para producir cantidades significativas de radiación no lineal. Durante los años setenta y ochenta se perfeccionaron muchas técnicas Raman que dependen de la polarización inducida por intensidades de campo de segundo orden y de órdenes superiores. Estas técnicas se conocen como *métodos Raman no lineales*.¹¹ Entre estos métodos se pueden mencionar *dispersión Raman estimulada*, *efecto hiper-Raman*, *ganancia Raman estimulada*, *espectroscopía Raman inversa*, *espectroscopía Raman anti-stokes coherente* y *espectroscopía Raman Stokes coherente*. El más utilizado de estos métodos es la espectroscopía Raman anti-stokes coherente.

Las técnicas no lineales se utilizan para superar algunos de los inconvenientes de la espectroscopía Raman ordinaria, entre ellos, su baja eficiencia, su limitación a las regiones visible y del ultravioleta cercano, así como su susceptibilidad a la interferencia de la fluorescencia. La principal desventaja de los métodos no lineales es que tienden a ser específicos para el analito y, a menudo, requieren varios rayos láser sintonizables distintos que se puedan aplicar a distintas especies. Hasta ahora, ninguno de los métodos no lineales ha encontrado muchas aplicaciones entre los no especialistas. No obstante, muchos de estos métodos se muestran promisorios. Como ya hay rayos láser más baratos y útiles, los métodos Raman no lineales, sobre todo la espectroscopía Raman anti-stokes coherente, se tienen que utilizar más.

¹¹ Véase J. R. Ferraro, K. Nakamoto y C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2a. ed., San Diego: Academic Press, 2003, pp. 194-202.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

18.1 ¿Qué es un estado virtual?

18.2 ¿Por qué la relación entre las intensidades anti-stokes y Stokes aumenta con la temperatura de la muestra?

- ***18.3** ¿A qué longitudes de onda, en nanómetros, aparecerían las líneas de Raman Stokes y anti-stokes del tetracloruro de carbono ($\Delta\bar{\nu} = 218, 314, 459, 762$ y 790 cm^{-1}) si la fuente fuera
- un láser de helio/neón (632.8 nm)?
 - un láser de iones argón (488.0 nm)?

***18.4** Suponga que las fuentes empleadas en el problema 18.3 tienen la misma potencia.
a) Compare las intensidades relativas de las líneas Raman del CCl_4 que se obtienen cuando se usa cada una de las fuentes de excitación. *b)* Si las intensidades se registran con un sistema monocromador-fotomultiplicador característico, ¿por qué los cocientes de intensidad medidos difieren de los calculados en el inciso *a)*?

***18.5** Para los estados vibracionales, la ecuación de Boltzmann se puede escribir como

$$\frac{N_1}{N_0} = \exp(-\Delta E/kT)$$

donde N_0 y N_1 son las poblaciones en los estados de menor y mayor energía, respectivamente, ΔE es la diferencia de energía entre dichos estados, k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura en kelvin.

Calcule las relaciones entre las intensidades de las líneas anti-stokes y Stokes para el CCl_4 a las temperaturas de 20°C y 40°C a *a)* 218 cm^{-1} ; *b)* 459 cm^{-1} ; *c)* 790 cm^{-1} .

18.6 Las siguientes preguntas se relacionan con las fuentes de rayo láser en la espectroscopía Raman.

- ¿En qué condiciones sería preferible el rayo láser de helio/neón al rayo láser del ion argón?
- ¿En qué condiciones sería preferible el rayo láser de diodo al rayo láser del ion argón o de helio/neón?
- ¿Por qué se evita utilizar fuentes que emiten radiación ultravioleta?

***18.7** Los siguientes datos Raman se obtuvieron para el CHCl_3 con el polarizador del espectrofotómetro 1) paralelo al plano de polarización del láser y 2) a 90° respecto al plano de la fuente.

Intensidades relativas			
	$\Delta\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$	(1) $I_{\parallel}$	(2) $I_{\perp}$
<i>a)</i>	760	0.60	0.46
<i>b)</i>	660	8.4	0.1
<i>c)</i>	357	7.9	0.6
<i>d)</i>	258	4.2	3.2

Calcule la razón de despolarización e indique qué líneas Raman están polarizadas.

18.8 Analice las ventajas y las desventajas de los espectrómetros Raman de transformada de Fourier respecto a los instrumentos Raman dispersivos ordinarios.

Problema de reto

18.9 Las preguntas siguientes tratan sobre las similitudes y diferencias entre la espectrometría IR y la espectrometría Raman.

- ¿Cuáles son los requisitos para que un modo de vibración en una molécula muestre absorción IR? ¿Cuáles son los requisitos para que un modo vibracional sea activo en la región Raman? ¿Por qué son diferentes estas condiciones? ¿En qué condiciones los modos vibracionales están activos tanto en Raman como en IR? ¿En qué circunstancias los modos vibracionales estarán activos en Raman pero no en IR y viceversa?
- Considere la molécula cloroacetoniitrilo (ClCH_2CN). ¿Cuántos modos de vibración debe tener esta molécula? ¿Por qué se podrían observar menos bandas Raman que las esperadas?

- c) El cloroacetoniitrilo muestra una banda Raman intensa a 2200 cm^{-1} debido al modo de tensión C—N. La absorción IR correspondiente es muy débil o inexistente. Al comparar los espectros en la región de 2200 cm^{-1} , ¿a qué conclusión llega usted respecto al modo de tensión de C—N en el cloroacetoniitrilo?
- d) Compare la espectrometría IR y la Raman respecto al aspecto óptico, materiales de la celda, manejo de la muestra, compatibilidad del solvente y aplicabilidad en diversos tipos de muestras.
- e) Compare las fuentes y los transductores que se utilizan en los espectrómetros Raman con los que se usan en los instrumentos IR de transformada de Fourier. Considere para sus comparaciones tanto los espectrómetros Raman de transformada de Fourier como los Raman dispersivos.
- f) Compare la espectrometría IR y Raman respecto a la utilidad cualitativa, los límites de detección, el análisis cuantitativo y la complejidad instrumental.

Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en medir la absorción de la radiación electromagnética en la región de radiofrecuencias, de alrededor de 4 a 900 MHz. En contraste con la absorción ultravioleta, visible e infrarroja, los núcleos de los átomos son los que participan en el proceso de absorción en vez de los electrones exteriores. Además, para que en los núcleos se formen los estados de energía que hagan posible la absorción, es necesario colocar el analito en un intenso campo magnético. En este capítulo se explica la teoría, se describen los instrumentos y las aplicaciones de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

Se trata de una de las técnicas más potentes con la que los químicos y bioquímicos pueden dilucidar las estructuras de las especies químicas. También es útil para la determinación cuantitativa de las especies absorbentes.

Las bases teóricas de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear¹ fueron formuladas por W. Pauli en 1924, quien sugirió que ciertos núcleos atómicos tienen las propiedades de espín y momento magnético y que, como consecuencia, al exponerlos a un campo magnético se produciría una división de sus niveles de energía. Durante el siguiente decenio se consiguió la comprobación experimental de estos postulados. Pero no fue sino hasta 1946 cuando Felix Bloch, en Stanford, y Edward Purcell, en Harvard, con trabajos independientes, demostraron que los núcleos absorbentes radiación electromagnética en un campo magnético intenso como resultado del desdoblamiento de los niveles de energía inducidos por el campo magnético. En 1952, los dos físicos compartieron el Premio Nobel por su trabajo.

En los primeros cinco años que siguieron al descubrimiento de la resonancia magnética nuclear, los químicos se dieron cuenta de que el entorno molecular influía en la absorción de la radiación de radiofrecuencia (RF) por parte de un núcleo en un campo magnético, y que este efecto se podía correlacionar con la estructura molecular. En 1953, Varian Associates comercializó el primer espectrómetro de resonancia magnética nuclear de alta resolución para estudios estructurales químicos. Desde entonces, el crecimiento de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) ha sido explosivo, y la técnica ha influido notablemente en el avance de la química orgánica, de la química inorgánica y de la bioquímica. Es improbable que haya transcurrido alguna vez un tiempo tan corto entre un descubrimiento científico y su aplicación y aceptación generalizadas.²

En la actualidad, los dos tipos generales de espectrómetros de RMN que se utilizan son el de *onda continua* y el de *impulsos*, o de *transformada de Fourier*. Los primeros estudios se realizaron con los instrumentos de onda continua. Sin embargo, hacia 1970 aparecieron en el comercio los espectrómetros de resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier y, a la fecha, este tipo de instrumentos es el que domina el mercado. En ambos tipos de instrumentos, la muestra se coloca en un potente campo magnético con una in-

¹ Se recomiendan las siguientes referencias si se desea estudiar más este tema: J. B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004; R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., Nueva York: Wiley, 2004; M. H. Levitt, *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, Nueva York: Wiley, 2001; E. D. Becker, *High Resolution NMR*, 3a. ed., Nueva York: Academic Press, 2000; H. Günther, *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry*, 2a. ed., Chichester, UK: Wiley, 1995; L. D. Field y B. Sternhell, eds., *Analytical NMR*, Chichester, UK: Wiley, 1989.

² Un interesante análisis histórico de la resonancia magnética nuclear se puede consultar en D. L. Rabenstein, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 214A; E. D. Becker, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p. 295A; D. C. Lankin, R. R. Ferraro y R. Jarnutowski, *Spectroscopy*, **1992**, 7 (8), p. 18.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

tensidad de varios teslas.³ Los espectrómetros de onda continua se parecen en principio a los instrumentos ópticos de absorción en los que se supervisa la señal de absorción a medida que se barre lentamente la frecuencia de la fuente. En algunos instrumentos se mantiene constante la frecuencia de la fuente mientras se hace variar la intensidad del campo. En los instrumentos de pulsos, la muestra se irradia con pulsos periódicos de energía de radiofrecuencia que son dirigidos a través de la muestra en sentido perpendicular al campo magnético. Esta excitación por pulsos causa una señal en el dominio del tiempo que disminuye en el lapso entre los pulsos. Esta señal se convierte después en una señal en el dominio de la frecuencia mediante una transformación de Fourier, con lo cual se obtiene un espectro análogo al que se obtiene en un instrumento de onda continua.

Casi todos los instrumentos de resonancia magnética nuclear que se fabrican en la actualidad son del tipo de transformada de Fourier, y el uso de los instrumentos de onda continua está muy limitado a aplicaciones especiales de rutina, como la determinación del grado de hidrogenación en las corrientes de proceso del petróleo y la determinación de agua en aceites, productos alimenticios y materiales agrícolas. A pesar del predominio de los instrumentos de pulsos en el mercado, los autores opinan que es conveniente basar el planteamiento inicial de la teoría de la resonancia magnética nuclear en los experimentos de onda continua, y pasar desde ahí al análisis de las mediciones de pulsos en la resonancia magnética nuclear.

19A TEORÍA DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Al igual que con la espectroscopía óptica, tanto la mecánica clásica como la mecánica cuántica resultan útiles para explicar el fenómeno de la resonancia magnética nuclear. Ambos enfoques producen idénticas relaciones. Sin embargo, la mecánica cuántica proporciona una relación útil entre las frecuencias de absorción y los estados de energía de los núcleos, mientras que la mecánica clásica proporciona una descripción física clara del proceso de absorción y de la forma de medirlo.

En esta sección se da primero una descripción cuántica de la resonancia magnética nuclear que es aplicable tanto a las mediciones de resonancia magnética nuclear de onda continua como a las de pulsos. A continuación se aborda un enfoque clásico de la resonancia magnética nuclear y se muestra cómo éste proporciona

una descripción útil de la resonancia magnética nuclear de onda continua. Por último, se completa este apartado con un estudio de las mediciones de transformada de Fourier con base una vez más en una descripción clásica.

19A.1 Descripción cuántica de la resonancia magnética

Para explicar las propiedades de ciertos núcleos, es necesario suponer que giran alrededor de un eje y por consiguiente tienen la propiedad de *espín*. Los núcleos con espín tienen una cantidad de movimiento angular o momento angular p . Además, el componente máximo observable de esta cantidad de movimiento angular está cuantizada y debe ser un múltiplo entero o semientero de $h/2\pi$, donde h es la constante de Planck. El número máximo de componentes de espín o valores de p para un núcleo en particular es su número cuántico de espín I . El núcleo entonces tiene $2I + 1$ estados discretos. El componente de la cantidad de movimiento angular de estos estados en cualquier dirección elegida tendrá los valores de $I, I - 1, I - 2, \dots, -I$. Si no hay un campo externo, la energía de los distintos estados es idéntica.

Los cuatro núcleos que son de más interés para los químicos orgánicos y bioquímicos son ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P , y son los únicos cuatro que se estudian. El número cuántico de espín de esos núcleos es $1/2$. Por tanto, cada núcleo tiene dos estados de espín, que corresponden a $I = +1/2$ e $I = -1/2$. Los núcleos más pesados tienen números de espín que varían desde cero, lo que quiere decir que no tienen componente de espín neto, hasta por lo menos $9/2$.

Un núcleo cargado y que gira crea un campo magnético análogo al que se produce cuando una corriente eléctrica fluye a través de una bobina. El momento magnético resultante μ se orienta a lo largo del eje del espín y es proporcional a la cantidad de movimiento angular p . Entonces

$$\mu = \gamma p \quad (19.1)$$

donde la constante de proporcionalidad γ es la *relación giromagnética* que es diferente para cada núcleo. Como se verá, la relación giromagnética es también un factor en la constante de proporcionalidad en la relación entre la frecuencia de la energía absorbida y la intensidad del campo magnético, tal como se muestra en la ecuación 19.5. Las relaciones giromagnéticas para los cuatro elementos con los que se trata se encuentran en la segunda columna de la tabla 19.1.

La relación entre el espín nuclear y el momento magnético conduce a una serie de estados cuánticos magnéticos observables m dados por

$$m = I, I - 1, I - 2, \dots, -I \quad (19.2)$$

³El símbolo del SI para los campos magnéticos es B ; no obstante, una antigua convención, que todavía es muy usada, usa el símbolo H . La unidad derivada para describir la fuerza del campo es el testa (T), cuya definición es $1 \text{ T} = 1 \text{ kg s}^{-2} \text{ A}^{-1}$. Otra unidad que fue popular en el pasado y que todavía se ve es el gauss (G). La relación entre las dos unidades es $10^4 \text{ G} = 1 \text{ T}$. Asimismo, $1 \text{ T} = 1 \text{ Vs/m}^2$, donde V = volts.

TABLA 19.1 Propiedades magnéticas de cuatro importantes núcleos con número cuántico de espín de 1/2.

Núcleo	Relación giromagnética, radián $T^{-1} s^{-1}$	Abundancia isotópica, %	Sensibilidad relativa ^a	Frecuencia de absorción, MHz ^b
^1H	2.6752×10^8	99.98	1.00	200.00
^{13}C	6.7283×10^7	1.11	0.016	50.30
^{19}F	2.5181×10^8	100.00	0.83	188.25
^{31}P	1.0841×10^8	100.00	0.066	81.05

^aEn un campo constante para igual número de núcleos.^bEn un campo con una intensidad de 4.69 T.

Por consiguiente, los núcleos que se tratan tienen dos números cuánticos magnéticos, $m = +1/2$ y $m = -1/2$. Observe que las reglas para determinar los números cuánticos nucleares son similares a las de los números cuánticos electrónicos.

Niveles de energía en un campo magnético

Como se indica en la figura 19.1, cuando un núcleo con un número cuántico de espín de 1/2 se somete a un campo magnético externo B_0 , su momento magnético se orienta en una de las dos direcciones posibles respecto al campo, en función de su estado cuántico magnético. La energía potencial E de un núcleo en estas dos orientaciones o estados cuánticos viene dada por

$$E = -\frac{\gamma m \hbar}{2\pi} B_0 \quad (19.3)$$

La energía para un estado de energía menor $m = +1/2$ (vea la figura 19.1) viene dada por

$$E_{+1/2} = -\frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0$$

Para el estado $m = -1/2$ la energía es

$$E_{-1/2} = \frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0$$

Por consiguiente, la diferencia de energía ΔE entre los dos viene dada por

$$\Delta E = \frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0 - \left(-\frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0\right) = \frac{\gamma \hbar}{2\pi} B_0 \quad (19.4)$$

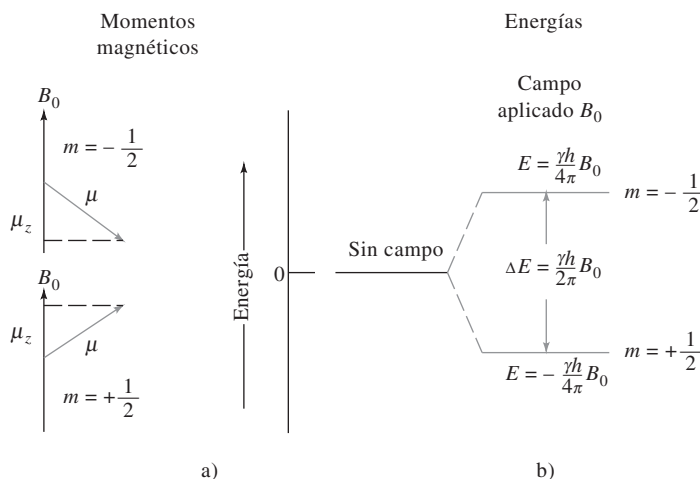
Como en otros tipos de espectroscopía, las transiciones entre estados de energía se pueden lograr por absorción o emisión de radiación electromagnética de una frecuencia ν_0 que corresponde en energía a ΔE . Por tanto, si se sustituye la relación de Planck $\Delta E = h\nu_0$ en la ecuación 19.4, se obtiene la frecuencia de la radiación necesaria para producir la transición

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (19.5)$$

Como se sugirió ya, la frecuencia de una transición magnética es proporcional a la intensidad del campo aplicado B_0 con una constante de proporcionalidad de $\gamma/2\pi$.

En el ejemplo 19.1 se revela que se requiere radiación de radiofrecuencia de alrededor de 200 MHz para conseguir cambiar la alineación del momento magnético del protón desde una dirección que es paralela al campo a otra que es opuesta a éste.

FIGURA 19.1 Momentos magnéticos y niveles de energía para un núcleo con un número cuántico de espín de 1/2.



EJEMPLO 19.1

Muchos instrumentos de resonancia magnética nuclear de protón están equipados con un imán que proporciona una intensidad del campo de 4.69 T. ¿A qué frecuencia absorbería el núcleo de hidrógeno en este campo?

Solución

Al sustituir la relación giromagnética para el protón (tabla 19.1) en la ecuación 19.5 se obtiene

$$\begin{aligned}\nu_0 &= \frac{(2.68 \times 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1})(4.69 \text{ T})}{2\pi} \\ &= 2.00 \times 10^8 \text{ s}^{-1} = 200 \text{ MHz}\end{aligned}$$

Distribución de las partículas entre los estados cuánticos magnéticos

A falta de un campo magnético, las energías de los estados cuánticos magnéticos de un núcleo son idénticas. Por consiguiente, un conjunto grande de protones contiene un número idéntico de núcleos con números cuánticos magnéticos $m = +1/2$ y $m = -1/2$. Pero cuando se colocan en un campo magnético, los núcleos tienden a orientarse de modo que predomine el estado de energía menor ($m = +1/2$). Es muy ilustrativo calcular el grado de esta predominancia en un experimento de resonancia magnética nuclear característico. Con este propósito, la ecuación de Boltzmann (ecuación 8.1) puede escribirse en la forma

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right) \quad (19.6)$$

donde N_j es el número de protones en el estado de mayor energía ($m = -1/2$), N_0 es el número en el estado de menor energía ($m = +1/2$), k es la constante de Boltzmann ($1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), T es la temperatura absoluta y ΔE está definida por la ecuación 19.4.

Al sustituir la ecuación 19.4 en la 19.6 se obtiene

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-\gamma h B_0}{2\pi kT}\right) \quad (19.7)$$

En el ejemplo 19.2 se ilustra que los resultados satisfactorios de las mediciones de resonancia magnética nuclear dependen de un exceso notablemente pequeño, alrededor de 33 ppm, de protones de energía baja. Si las cantidades de núcleos en los dos estados fueran idénticas, no se observaría ninguna absorción neta porque la cantidad de partículas excitadas a causa de la radiación sería exactamente igual a la cantidad que produce emisión *inducida*.

EJEMPLO 19.2

Calcule la cantidad relativa de protones en los estados magnéticos de mayor y de menor energía cuando una muestra se coloca en un campo de 4.69 T a 20°C.

Solución

Si se sustituyen los valores numéricos en la ecuación 19.7 se obtiene

$$\begin{aligned}\frac{N_j}{N_0} &= \exp\left(\frac{-(2.68 \times 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1})(6.63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s})(4.69 \text{ T})}{2\pi(1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1})(293 \text{ K})}\right) \\ &= e^{-3.28 \times 10^{-5}} = 0.999967\end{aligned}$$

o bien,

$$\frac{N_0}{N_j} = 1.000033$$

Entonces, para exactamente 10^6 protones en los estados de energía mayor habrá

$$N_0 = 10^6 / 0.999967 = 1\,000\,033$$

en el estado de energía menor. Este valor corresponde a un exceso de 33 ppm.

Si se desarrolla el segundo miembro de la ecuación 19.7 como una serie de Maclaurin y se trunca la serie después del segundo término, se obtiene un importante resultado:

$$\frac{N_j}{N_0} = 1 - \frac{\gamma h B_0}{2\pi kT} \quad (19.8)$$

Con la ecuación 19.8 se demuestra que el número relativo de núcleos de baja energía en exceso está linealmente relacionado con la intensidad del campo magnético. Por tanto, la intensidad de una señal de resonancia magnética nuclear aumenta linealmente cuando aumenta la intensidad del campo. Esta dependencia de la sensibilidad de la señal de la intensidad del campo magnético ocasionó que los fabricantes produjeran imanes con intensidades de campo de hasta 14 T.

19A.2 Explicación clásica de la resonancia magnética nuclear

Para comprender el proceso de absorción y, en particular, el proceso para medirla, es útil la descripción clásica del comportamiento de una partícula cargada en un campo magnético.

Precesión de los núcleos en un campo

En primer lugar, considere el comportamiento de un cuerpo magnético que no está en rotación, como la aguja de una brújula, en un campo magnético externo. Si se desvía momentáneamente de su alineación con el

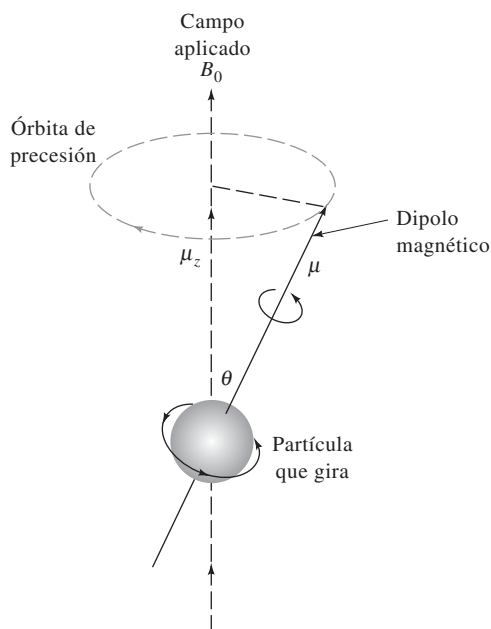


FIGURA 19.2 Precesión de una partícula en rotación en un campo magnético.

campo, la aguja oscilará en un plano alrededor de su pivote como consecuencia de la fuerza que ejerce el campo sobre sus dos extremos; si no existe fricción, los extremos de la aguja oscilarán de manera indefinida de un lado a otro alrededor del eje del campo. Pero si el imán gira con rapidez alrededor de su eje norte-sur se produce un movimiento del todo distinto. Debido al efecto giroscópico, la fuerza aplicada por el campo sobre el eje de rotación causa un movimiento, pero no en el plano de la fuerza, sino perpendicular al mismo; por consiguiente, el eje de la partícula en rotación se mueve en una trayectoria circular. Es decir, el eje de rotación de la partícula que gira tiene un *movimiento de precesión* alrededor del vector que representa al campo magnético aplicado. Este movimiento, que se ilustra en la figura 19.2, es similar al movimiento de un giroscopio cuando se desplaza desde la vertical a causa de la aplicación de una fuerza lateral. La velocidad angular de este movimiento ω_0 , en radianes por segundo, viene dada por

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (19.9)$$

La velocidad angular se puede convertir en la frecuencia de precesión ν_0 , conocida como *frecuencia de Larmor*, al dividirla entre 2π . Entonces,

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (19.10)$$

Una comparación de la ecuación 19.10 con la ecuación 19.5 revela que la frecuencia de Larmor es idéntica a la

frecuencia de la radiación absorbida que se deduce de las consideraciones de la mecánica cuántica.

Absorción en experimentos de onda continua

La energía potencial E de la partícula cargada y con movimiento de precesión que se muestra en la figura 19.2 es

$$E = -\mu_z B_0 = -\mu B_0 \cos \theta \quad (19.11)$$

donde θ es el ángulo entre el vector del campo magnético y el eje del espín o giro de la partícula, μ es el momento magnético de la partícula y μ_z es el componente de μ en la dirección del campo magnético. Por tanto, cuando un núcleo absorbe energía de radiofrecuencia, su ángulo de precesión θ debe cambiar. Por consiguiente, imagine que para un núcleo que tiene un número cuántico de espín de $1/2$ la absorción representa una sacudida del momento magnético que está orientado en la dirección del campo hacia el sentido opuesto. El proceso se representa en la figura 19.3. Para que el dipolo magnético cambie de orientación bruscamente, debe haber una fuerza magnética en ángulo recto con el campo fijo que se mueva en una trayectoria circular en fase con el dipolo que manifiesta precesión. El momento magnético de la *radiación circularmente polarizada* de una frecuencia apropiada tiene estas cualidades necesarias; es decir, el vector magnético de esta radiación tiene un componente circular, como el que se representa mediante el círculo discontinuo en la figura 19.3.⁴ Si la frecuencia de rotación del vector magnético de la radiación es igual que la frecuencia de precesión del núcleo, puede tener lugar la inversión brusca y la absorción. Como se señala en el siguiente párrafo, la radiación circularmente polarizada de la frecuencia apropiada se puede producir mediante la bobina de un oscilador de radiofrecuencia.

La radiación producida por la bobina de un oscilador de RF, que se utiliza como fuente en los instrumentos de resonancia magnética nuclear, está polarizada en un plano. Sin embargo, la radiación polarizada en un plano está constituida por radiación circularmente polarizada *d* y *l*. Como se ilustra en la parte inferior de la figura 19.4b, el vector del componente *d* gira en el sentido de las agujas del reloj a medida que la radiación se acerca al observador; el vector del componente *l* gira en el sentido opuesto. Como se muestra en la figura 19.4a, la suma de los dos vectores resulta en un vector que vibra en un solo plano.

Entonces, la radiación electromagnética que procede de una bobina osciladora perpendicular a la di-

⁴Es importante subrayar aquí que en contraste con la espectroscopia óptica en la que el campo eléctrico de la radiación electromagnética es el que interactúa con la especie absorbente, en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear es el *campo magnético* de la radiación el que excita a la especie absorbente.

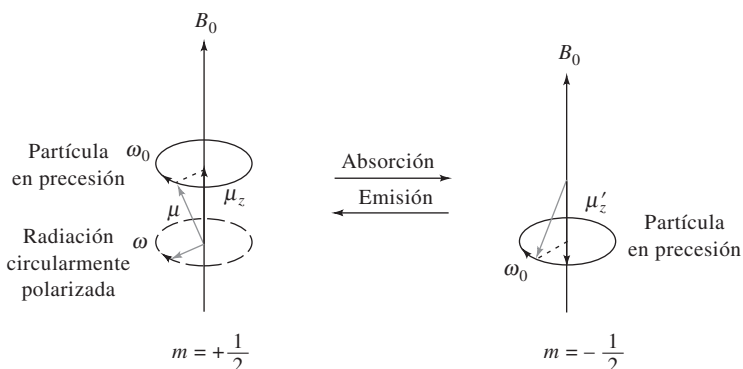


FIGURA 19.3 Modelo para la absorción de radiación por parte de una partícula con movimiento de precesión.

rección del campo magnético fijo, introduce radiación circularmente polarizada en el volumen de la muestra en un plano apropiado para la absorción por parte de los núcleos de la misma. Sólo se absorbe el componente magnético de la radiación de excitación que gira en la dirección de la precesión.

Proceso de relajación en resonancia magnética nuclear

Cuando un núcleo se expone a una radiación de frecuencia apropiada, tiene lugar la absorción debido al ligero exceso de núcleos en el estado de menor energía presente en un campo magnético intenso. Este exceso es pequeño, como lo señala el resultado del ejemplo 19.2, por lo que siempre existe el riesgo de que el proceso de absorción iguale el número de núcleos en los dos estados y ocasione que la señal de absorción disminuya y se aproxime a cero. Cuando esto ocurre, se dice que el sistema de espín está *saturado*. Con el fin de evitar la saturación, es necesario que la velocidad de relajación de los núcleos excitados a sus estados de menor

energía sea igual o mayor que la velocidad a la cual absorben la energía de radiofrecuencia. Una trayectoria de relajación evidente consiste en la emisión de radiación de una frecuencia que corresponda a la diferencia de energía entre los dos estados, lo que da lugar a fluorescencia. Sin embargo, la teoría de la radiación plantea que la probabilidad de reemisión espontánea de los fotones varía con el cubo de la frecuencia, y que en las radiofrecuencias este proceso no tiene lugar en grado importante. Por tanto, en los estudios de resonancia magnética nuclear los procesos de relajación no radiante son de gran importancia.

Para reducir la saturación y producir una señal de absorción que se detecte con facilidad, la relajación debe ocurrir con la mayor rapidez posible; es decir, el tiempo de vida del estado excitado debe ser pequeño. Un segundo factor, la relación inversa entre el tiempo de vida de un estado excitado y la anchura de su línea de absorción, contradice la ventaja de los tiempos de vida muy cortos. Por consiguiente, cuando las velocidades de relajación son altas, o los tiempos de vida cortos, el ensanchamiento de la línea impide mediciones de elevada resolución. Estos dos factores opuestos hacen que el tiempo de vida media óptimo para una especie excitada se sitúe entre 0.1 y 10 s.



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **teoría de la resonancia magnética nuclear**.

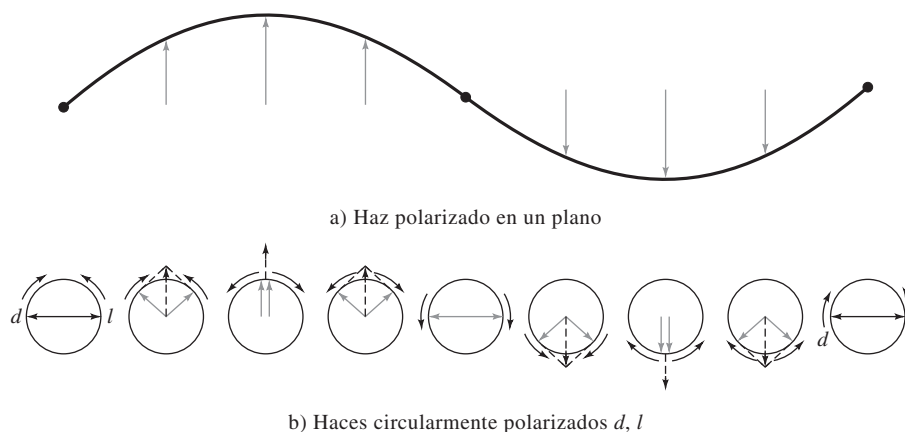


FIGURA 19.4 Equivalencia entre un haz polarizado en el plano y dos (d, l) haces de radiación circularmente polarizados.

En la espectroscopía de resonancia magnética nuclear existen dos tipos importantes de procesos de relajación: 1) *relajación longitudinal* o *espín-red* y 2) *relajación transversal* o *espín-espín*.

Relajación espín-red. Los núcleos que absorben en un experimento de resonancia magnética nuclear forman parte de un conjunto mayor de átomos que constituyen la muestra. La totalidad del conjunto se denomina *red*, independientemente de si la muestra es un sólido, un líquido o un gas. En los dos últimos estados en particular, los distintos núcleos que constituyen la red se encuentran en un violento movimiento vibratorio y rotatorio que origina un campo complejo alrededor de cada núcleo magnético. Como resultado, el campo de red contiene un continuo de componentes magnéticos, algunos de los cuales corresponden en frecuencia y fase a la frecuencia de precesión del núcleo magnético de interés. Estos componentes originados vibracional y rotacionalmente interactúan con los núcleos y hacen que éstos pasen desde el estado de espín más alto al más bajo; luego, la energía absorbida simplemente aumenta la amplitud de las vibraciones o rotaciones térmicas. Este cambio origina un ligero aumento de la temperatura de la muestra.

La relajación espín-red es un proceso de *disminución exponencial de primer orden* caracterizado por un tiempo de relajación T_1 , que es una medida del tiempo de vida promedio de los núcleos en el estado de mayor energía. Además de depender de la relación giromagnética de los núcleos que absorben, T_1 se ve fuertemente afectado por la movilidad de la red. En los sólidos cristalinos y en los líquidos viscosos, donde las movilidades son bajas, T_1 es grande. Al aumentar la movilidad, por ejemplo a temperaturas elevadas, también se incrementan las frecuencias de vibración y de rotación y, por tanto, la probabilidad de que exista una fluctuación magnética de la magnitud apropiada para que se produzca una transición de relajación. Por consiguiente, T_1 disminuye. Por otra parte, con movilidades muy altas, las frecuencias de fluctuación también aumentan y se distribuyen en un intervalo tan amplio que la probabilidad de que haya una frecuencia adecuada para una transición espín-red disminuye de nuevo. El resultado es un mínimo en la relación entre T_1 y la movilidad de la red.

Relajación espín-espín. Algunos otros efectos tienden a disminuir los tiempos de relajación y, por tanto, a ensanchar las líneas de resonancia magnética nuclear. En general, estos efectos se agrupan y se describen mediante el tiempo de relajación transversal o espín-espín T_2 . Los valores de T_2 suelen ser tan pequeños para sólidos cristalinos o líquidos viscosos (unos 10^{-4} s) que

imposibilitan el uso de muestras de estas clases para espectros de elevada resolución, a no ser que se utilicen técnicas especiales. Estas técnicas se tratan con brevedad en una sección posterior que trata de estudios de sólidos con resonancia magnética nuclear de ^{13}C .

Cuando dos núcleos vecinos del mismo tipo tienen la misma velocidad de precesión pero se hallan en diferentes estados cuánticos magnéticos, sus campos magnéticos tienen la aptitud de interactuar entre sí produciendo un intercambio de estados cuánticos. Es decir, uno de los núcleos en el estado de espín más bajo se excita, y el núcleo en el estado excitado se relaja hasta el estado de menor energía. No se produce un cambio neto en la población relativa de los distintos estados de espín y, por tanto, no disminuye la saturación, pero se acorta el tiempo de vida promedio de un núcleo excitado en particular. El resultado es un ensanchamiento de las líneas.

Se deben considerar otras dos causas más del ensanchamiento de líneas. Ambas aparecen si B_0 en la ecuación 19.10 difiere ligeramente de núcleo a núcleo. En estas circunstancias se absorbe una banda de frecuencias más que una sola frecuencia. Una de las causas de esta variación en el campo estático es que en la muestra están presentes otros núcleos magnéticos cuyos espines originan campos locales que puedan aumentar o disminuir el campo magnético externo que actúa sobre el núcleo de interés. En una red en la que haya movilidad, estos campos locales tienden a anularse debido a que los núcleos que los producen están en movimiento rápido y aleatorio. Sin embargo, en un sólido o en un líquido viscoso, los campos locales pueden persistir el tiempo suficiente para producir una variedad de campos de fuerza y, por tanto, una gama de frecuencias de absorción. Se producen también variaciones en el campo estático debido a pequeñas heterogeneidades en la propia fuente del campo. Este efecto puede contrarrestarse en gran parte haciendo girar con rapidez toda la muestra en el campo magnético.

19A.3 Resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier

En las mediciones,⁵ de resonancia magnética nuclear de pulsos, los núcleos que están en un intenso campo magnético se someten en forma periódica a pulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia, como se muestra en la figura 19.5. La forma de la

⁵ Para un estudio más completo, véase J. B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004; S. Berger y S. Braun, *200 and More NMR Experiments*, Nueva York: Wiley-VCH, 2004; D. L. Rabenstein, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 214A; A. E. Derome, *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*, Nueva York: Pergamon Press, 1987.

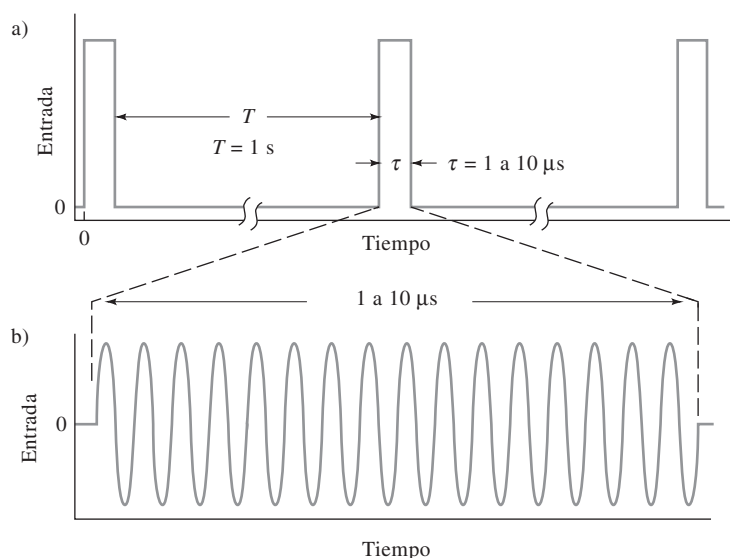


FIGURA 19.5 Señal de entrada característica para la resonancia magnética nuclear de pulsos: a) sucesión de pulsos; b) vista ampliada de pulsos de radiofrecuencia por lo regular a una frecuencia de varios cientos de MHz. El eje del tiempo no está dibujado a escala.

onda en la parte a) de la figura ilustra el tren de pulsos, la anchura del pulso y el intervalo de tiempo entre pulsos. La vista ampliada de un pulso muestra que es en realidad un paquete de radiación de radiofrecuencia. Las formas de las ondas son sólo ilustrativas y no están dibujadas a escala. El paquete de radiación consta de muchos más ciclos que los que se han dibujado. La duración de los pulsos τ es por lo general menor que $10 \mu\text{s}$, y la frecuencia de la radiación está en el orden de 10^2 a 10^3 MHz. El intervalo entre los pulsos T es de ordinario de uno a varios segundos. Durante el tiempo T , los núcleos excitados emiten al relajarse una señal de radiofrecuencia en el dominio del tiempo, que se denomina señal de *decaimiento libre de inducción* (FID, por sus siglas en inglés). Ésta puede detectarse con una bobina radorreceptora que se coloca en posición perpendicular al campo magnético estático. De hecho, a menudo se utiliza una sola bobina para irradiar la muestra con los pulsos de radiofrecuencia y detectar la señal de decaimiento. La señal de decaimiento libre de inducción se digitaliza y se almacena en una computadora para trabajar con los datos. De ordinario, se suman las señales de decaimiento en el dominio del tiempo de numerosos pulsos sucesivos para mejorar la relación señal-ruido, tal como se explica en la sección 5C.2. La resultante de la suma de los datos se convierte entonces en una señal en el dominio de la frecuencia mediante una transformación de Fourier y, por último, los datos obtenidos se filtran por medios digitales para mejorar aún más la relación señal-ruido. La señal de salida del dominio de la frecuencia que se obtiene es similar al espectro que se produce en un experimento de barrido de onda continua.

Con el objetivo de describir los fenómenos que ocurren en un experimento de resonancia magnética

nuclear de pulsos, es útil emplear un sistema cartesiano de coordenadas, con el campo magnético sobre el eje z , como se muestra en la figura 19.6a. Las flechas finas representan los vectores del momento magnético de algunos núcleos en el estado de menor energía ($m = +1/2$). Las orientaciones de esos vectores alrededor del eje z son aleatorias y todos giran con la frecuencia de Larmor ν_0 . Estos núcleos en exceso producen un momento magnético, neto y estacionario M alineado con el eje z como lo indica la flecha azul.

Para la explicación que sigue, es útil imaginar que las coordenadas de la figura 19.6 giran alrededor del eje z exactamente a la frecuencia de Larmor. En tal marco de referencia rotatorio, los vectores del momento magnético individuales de la figura 19.6a quedan fijos en el espacio con la orientación que muestra la figura. A menos que se diga lo contrario, el resto de la figura se estudia en función de este *marco de referencia rotatorio*, en lugar de hacerlo respecto a un *marco de referencia estático o de laboratorio*.

Excitación con pulsos

En la figura 19.6b se ilustra la posición del momento magnético neto en el instante en que el pulso de radiofrecuencia, que viaja a lo largo del eje x , incide sobre la muestra. El campo magnético de la radiación electromagnética incidente se representa mediante el símbolo B_1 . En el marco rotatorio de referencia, B_1 y el vector de magnetización de la muestra M son estáticos, uno a lo largo del eje x y el otro perpendicular a él. De acuerdo con la física elemental, con cada pulso M experimenta un momento de torsión que tiende a separarlo del eje z . Como se muestra en las figuras 19.6c y 19.6d, este momento de torsión hace girar el momento magnético de la muestra M alrededor del eje x en el

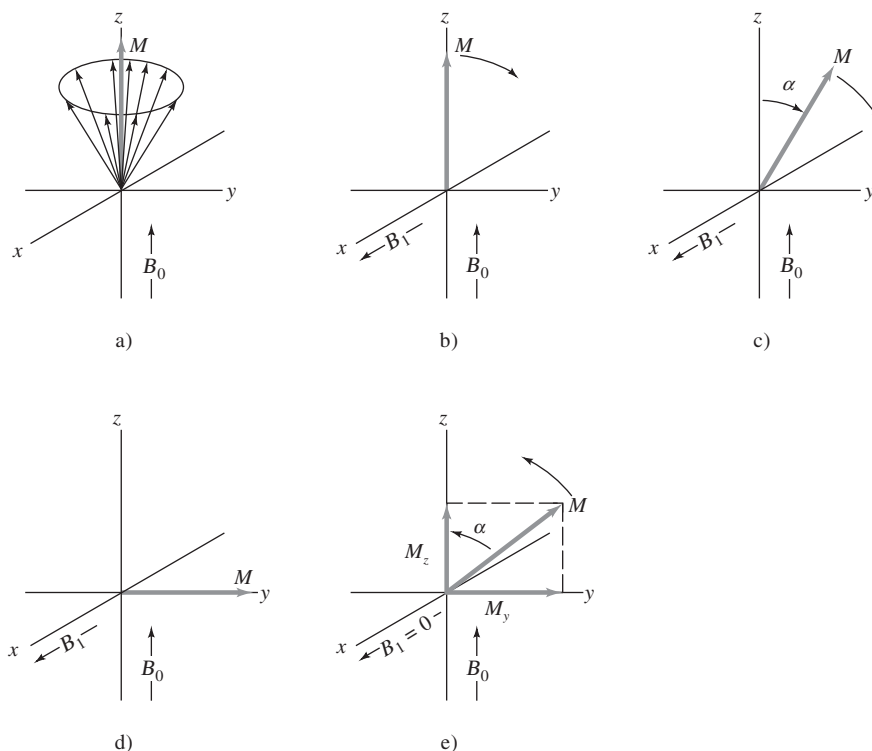


FIGURA 19.6 Comportamiento de los momentos magnéticos del núcleo en un campo de referencia en rotación, en un experimento con pulsos a 90° a) Vectores magnéticos de los núcleos de baja energía en exceso antes del pulso; b), c), d) rotación del vector de magnetización M de la muestra durante el tiempo de vida del pulso; e) relajación tras la finalización del pulso.

plano yz .⁶ El grado de rotación depende de la duración del impulso τ de acuerdo con la ecuación

$$\alpha = \gamma B_1 \tau \quad (19.12)$$

donde α es el ángulo de rotación en radianes. En muchos experimentos de transformada de Fourier se elige una duración de pulso para que α sea 90° o $\pi/2$ radianes, como se muestra en la figura 19.6d. Por lo regular, el tiempo necesario para conseguir este ángulo es de 1 a $10 \mu s$. Cuando el pulso ha terminado, los núcleos empiezan a relajarse y vuelven a sus posiciones de equilibrio, como se indica en la figura 19.6e. Como ya se explicó en la sección anterior, la relajación tiene lugar por dos mecanismos independientes: interacciones espín-red y espín-espín. Después de algunos segundos, estas interacciones hacen que los núcleos vuel-

van a los estados originales que se ilustran en la figura 19.6a.

Cuando un núcleo retorna a su estado de equilibrio después de haber sido excitado por un pulso de radiación de RF, como se muestra en la figura 19.6e, el momento magnético M_y a lo largo del eje y disminuye y aumenta el componente M_z del momento magnético a lo largo del eje z . La figura 19.7 proporciona una descripción más detallada de los mecanismos de los dos procesos de relajación tal como se perciben ahora en un marco estático de referencia. En la relajación espín-red la magnetización a lo largo del eje z aumenta hasta que alcanza de nuevo su valor original como se muestra en la figura 19.6a. En la relajación espín-espín los núcleos intercambian entre sí la energía de espín, de tal forma que unos alcanzan un movimiento de precesión mayor que la frecuencia de Larmor y otros uno menor. El resultado es que los espines empiezan a distribuirse en el plano xy , tal como se indica en la parte derecha de la figura 19.7. Por último, esto causa una disminución hasta cero del momento magnético a lo largo del eje y . Cuando se completa el tiempo de relajación en el eje z , no puede existir ningún componente magnético residual en el plano xy , lo que significa que $T_2 \leq T_1$.

⁶Con la figura 19.6 se obtiene una idea intuitiva de por qué la resonancia magnética nuclear es una técnica de “resonancia”. La resonancia es una condición en la que la energía se transfiere de tal manera que una pequeña perturbación periódica genera un gran cambio en alguno de los parámetros del sistema que se perturba. La resonancia magnética nuclear es una técnica de resonancia porque la pequeña perturbación periódica B_1 produce un cambio importante en la orientación del vector de magnetización de la muestra M (figura 19.6d). En la mayoría de los experimentos, B_1 es dos o más órdenes de magnitud menor que B_0 .

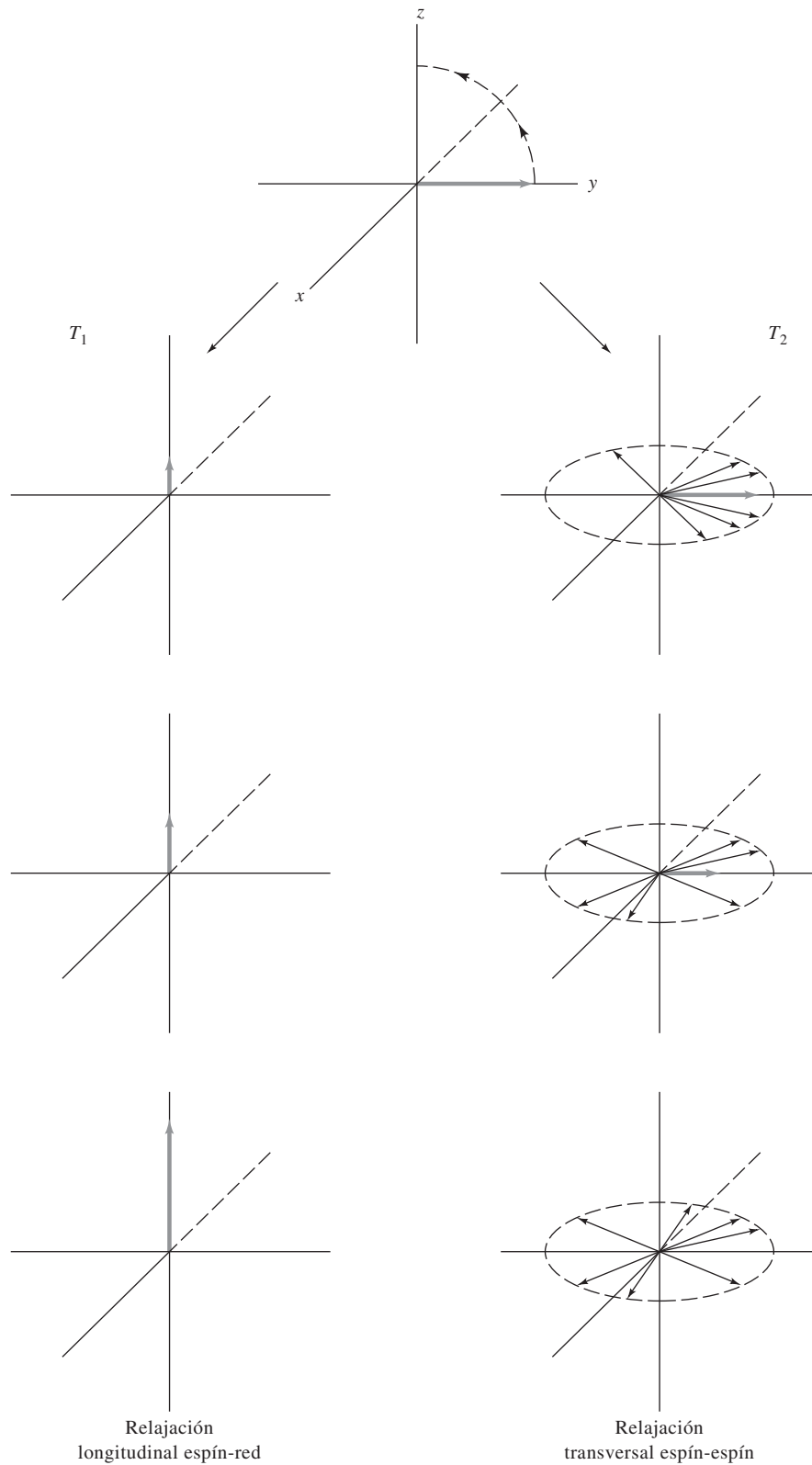


FIGURA 19.7 Dos procesos de relajación nuclear. La relajación longitudinal tiene lugar en el plano xy ; la relajación transversal en el plano xy . (Cortesía del profesor Stanford L. Smith, University of Kentucky, Lexington, KY.)

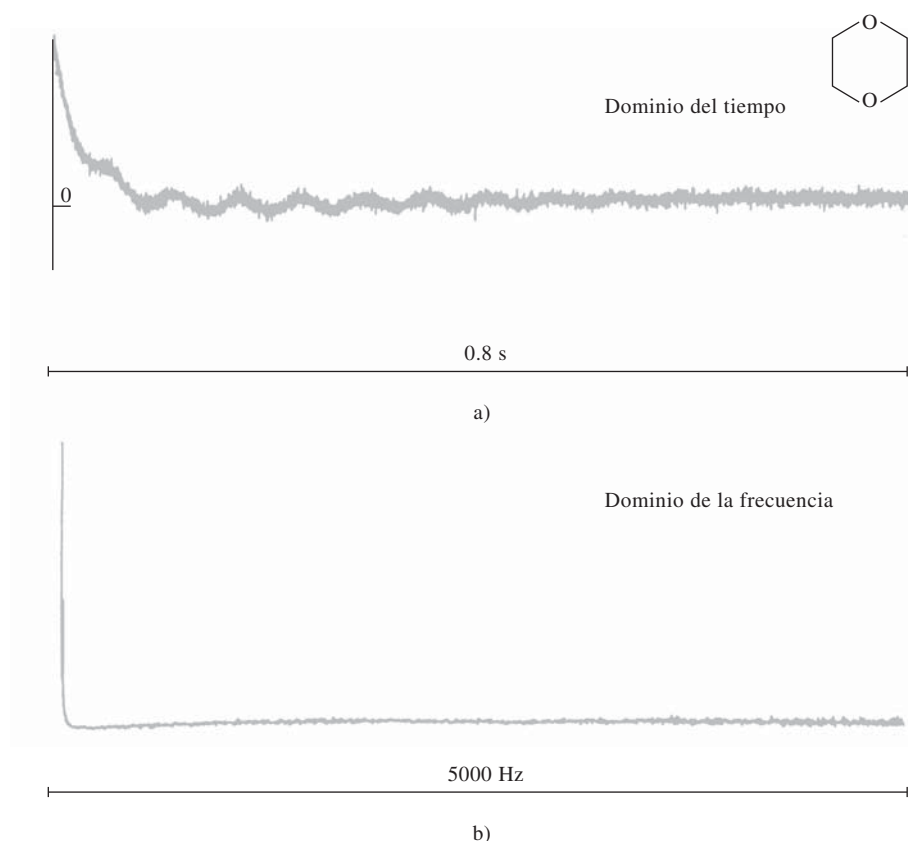


FIGURA 19.8 a) Señal del decaimiento libre de inducción para el ^{13}C del dioxano cuando la frecuencia del pulso coincide con la frecuencia de Larmor; b) Transformada de Fourier de a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, p. 89, Nueva York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

Decaimiento libre de inducción

En relación de nuevo con la figura 19.6d, considere lo que ocurrirá cuando la señal B_1 disminuya a cero al final del pulso. Ahora, sin embargo, resulta conveniente describir qué es lo que ocurre en el marco de referencia estático en lugar del rotatorio. Si las coordenadas están fijas, el momento magnético M debe girar en el sentido de las agujas del reloj alrededor del eje z con la frecuencia de Larmor. Este movimiento origina una señal de radiofrecuencia que se puede detectar con una bobina a lo largo del eje x . Como ya se mencionó, se puede detectar con la misma bobina que se utiliza para producir el pulso original. Al producirse la relajación, esta señal disminuye exponencialmente y se aproxima a cero a medida que el vector magnético se aproxima al eje z . Esta señal en el dominio del tiempo constituye el decaimiento libre de inducción que se mencionó antes; por último, mediante una transformación de Fourier se convierte en una señal en el dominio de la frecuencia.

La figura 19.8 ilustra el decaimiento libre de inducción que se observa para los núcleos de ^{13}C cuando se

excitan con un pulso de radiofrecuencia cuya frecuencia coincide *exactamente* con la frecuencia de Larmor de los núcleos. Los que producen la señal son los cuatro núcleos de ^{13}C del dioxano, que se comportan de manera idéntica en el campo magnético. El decaimiento libre de inducción en la figura 19.8a es una curva exponencial que se aproxima a cero después de unas pocas décimas de segundo. El ruido aparente superpuesto al patrón de decaimiento es un artefacto experimental causado por las bandas laterales giratorias que para los fines de este análisis se puede ignorar. La figura 19.8b es la transformada de Fourier de la curva de la figura 19.8a, que muestra a la izquierda el único pico de absorción del ^{13}C que presenta el dioxano. Cuando la frecuencia de irradiación ν difiere de la frecuencia de Larmor $\omega_0/2\pi$ en una pequeña cantidad, como ocurre normalmente, el decaimiento exponencial se modula mediante una onda seno de frecuencia $|\nu - (\omega_0/2\pi)|$. Este efecto se muestra en la figura 19.9, en la cual la diferencia de frecuencias es de 50 Hz.

Cuando están presentes núcleos magnéticamente distintos, el decaimiento libre de inducción desarrolla

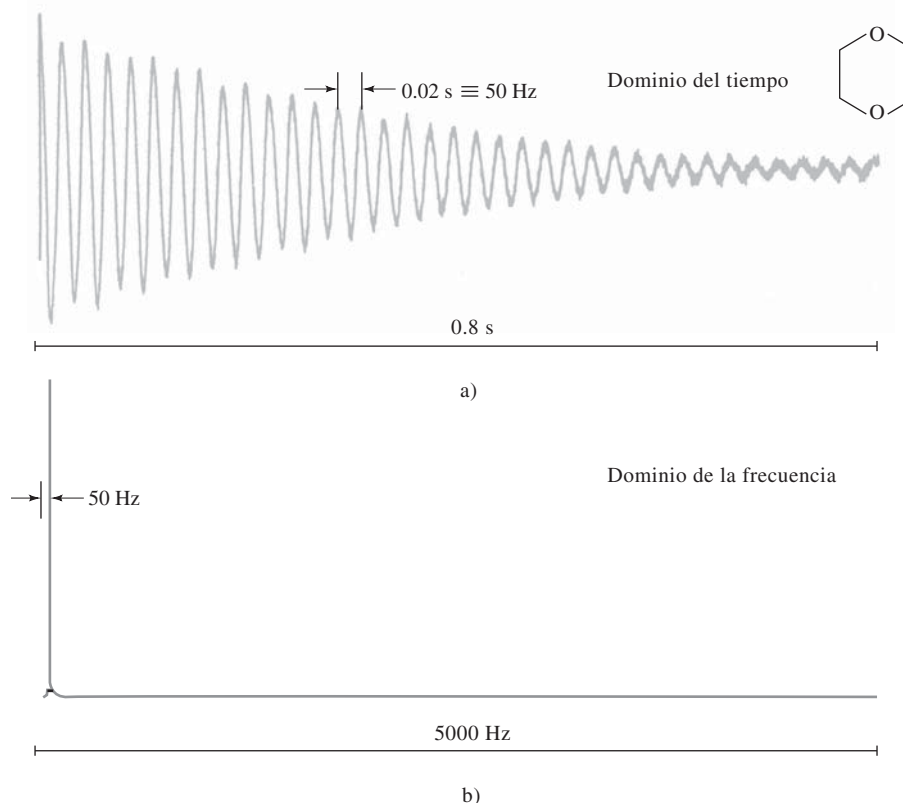


FIGURA 19.9 a) Señal del decaimiento libre de inducción para el ^{13}C del dioxano cuando la frecuencia del pulso difiere de la frecuencia de Larmor en 50 Hz; b) transformada de Fourier de a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, p. 90, Nueva York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

un patrón de ritmo distinto, como el de la figura 19.10a, que es el espectro de los núcleos de ^{13}C del ciclohexeno. Este compuesto contiene tres pares de átomos de carbono magnéticamente distintos: el par de carbonos olefínicos, el par de carbonos alifáticos adyacentes al par olefínico y los dos que están directamente opuestos al grupo olefínico. Las líneas de la figura 19.10b que se diferencian en 62 Hz provienen de los dos pares de átomos de carbono alifáticos. El par de carbonos olefínicos causa el pico aislado a la izquierda. Con compuestos que tienen varias líneas de absorción, el decaimiento libre de inducción se complica mucho. Sin embargo, en cada caso la señal de caída en el dominio del tiempo contiene toda la información que se requiere para producir un espectro de absorción en el dominio de la frecuencia mediante la transformación de Fourier.

19A.4 Tipos de espectros de resonancia magnética nuclear

Existen varios tipos de espectros de resonancia magnética nuclear, lo cual depende de la clase de instru-

mento utilizado, del tipo de núcleo, del estado físico de la muestra, del entorno del núcleo del analito y del uso que se vaya a hacer de los datos. Sin embargo, la mayoría de los espectros de resonancia magnética nuclear se clasifican como de *línea ancha* o de *alta resolución*.

Espectros de líneas anchas

Los espectros de líneas anchas son aquellos en los que la anchura de banda de la fuente de líneas es tan grande que oscurece la estructura fina debida al entorno químico. En la figura 19.11 se muestra un espectro de líneas anchas que corresponde a una mezcla de varios isótopos. Cada especie se asocia con una sola resonancia. Los espectros de líneas anchas son útiles para la determinación cuantitativa de isótopos y para estudiar el entorno físico de las especies absorbentes. Por lo general, dichos espectros se obtienen con campos magnéticos relativamente poco intensos.

Espectros de alta resolución

Los espectros de resonancia magnética nuclear más utilizados son los de *alta resolución* y se obtienen mediante instrumentos capaces de distinguir diferencias

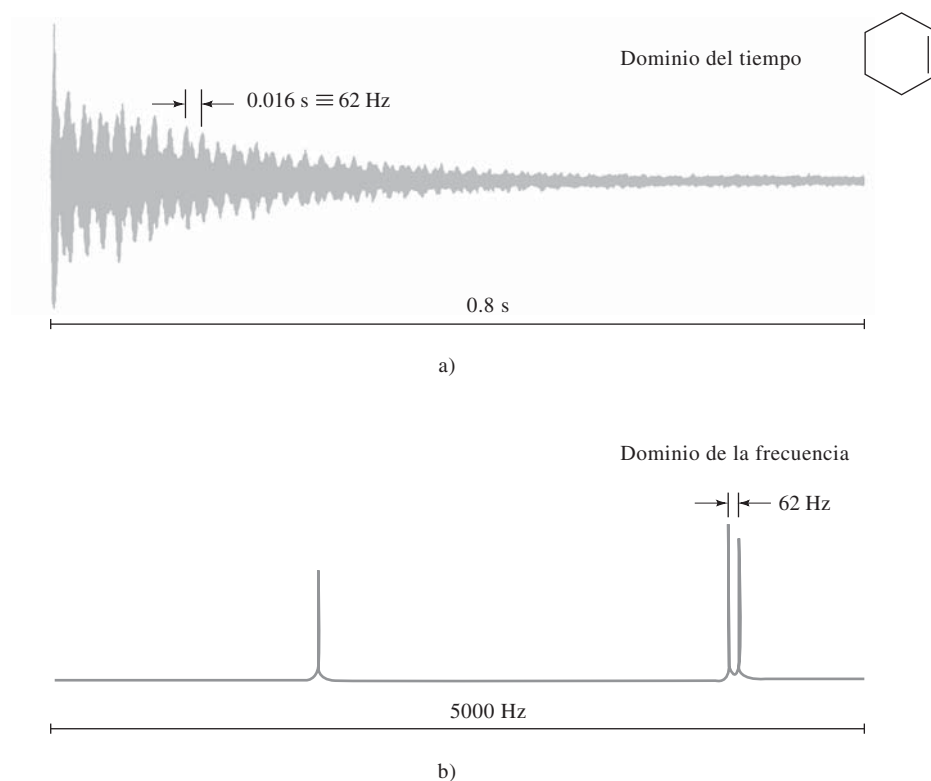


FIGURA 19.10 a) Señal del decaimiento libre de inducción para el ^{13}C del ciclohexeno; b) Transformada de Fourier de a). (Tomado de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, p. 91, Nueva York: Wiley, 1988. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

de frecuencia muy pequeñas, del orden de 0.01 ppm o menores. Para un isótopo determinado, tales espectros exhiben por lo común varias resonancias, que son resultado de diferencias en su entorno químico. La figura 19.12 muestra dos espectros de alta resolución para los protones del etanol. En el espectro superior se observan tres picos que provienen de la absorción de los

protones del CH_3 , CH_2 y OH . Como se muestra en el espectro de alta resolución de la figura 19.12b, dos de los tres picos se pueden resolver en resonancias adicionales. Los tópicos que se tratan a continuación se refieren exclusivamente a los espectros de alta resolución.

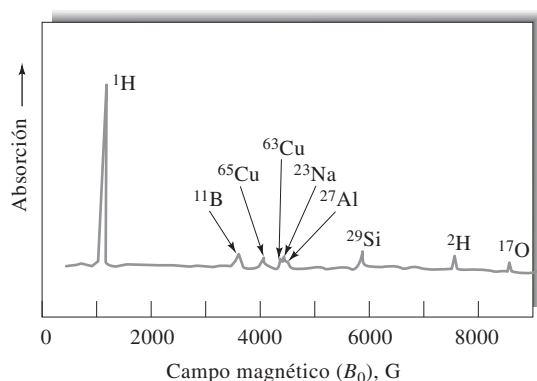


FIGURA 19.11 Un espectro de resonancia magnética nuclear de baja resolución para el agua en un recipiente de vidrio. Frecuencia = 5 MHz.

19B EFECTOS DEL ENTORNO EN LOS ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

La frecuencia de la radiación de radiofrecuencia que absorbe un núcleo determinado se ve fuertemente afectada por el entorno químico, es decir, por los núcleos y electrones vecinos. Por consiguiente, incluso las moléculas más simples proporcionan una abundante información espectral que puede servir para conocer su estructura química. El análisis que sigue se centra en los espectros de protón porque el ^1H es el isótopo que más se ha estudiado. Sin embargo, la mayor parte de los conceptos se aplica también a los espectros de otros isótopos.

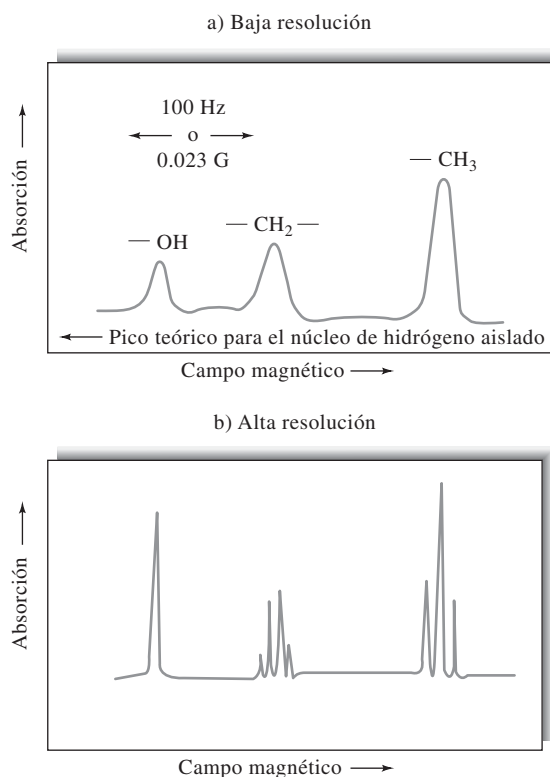


FIGURA 19.12 Espectros de resonancia magnética nuclear del etanol a una frecuencia de 60 MHz. Resolución: a) $\sim 1/10^6$; b) $\sim 1/10^7$.

19B.1 Tipos de efectos del entorno

Los espectros del etanol, que se muestran en la figura 19.12, ilustran dos tipos de efectos ambientales. El espectro de la figura 19.12a, obtenida con un instrumento de baja resolución, muestra tres picos del protón con áreas en la proporción de 1:2:3 (de izquierda a derecha). Si se toma como base esta proporción, parece lógico atribuir los picos a los protones del hidroxilo, metileno y metilo, respectivamente. Otra evidencia confirma esta conclusión. Por ejemplo, si el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo se sustituye por deuterio, el primer pico desaparece de esta parte del espectro. Por tanto, hay pequeñas diferencias en la frecuencia de absorción del protón que dependen del grupo al que está unido el átomo de hidrógeno. A este efecto se le denomina *desplazamiento químico*.

El espectro de alta resolución del etanol, que se muestra en la figura 19.12b, revela que dos de las tres resonancias del protón se desdoblan en más picos. Este efecto secundario del entorno, que se superpone al desplazamiento químico, tiene un origen diferente y se denomina *desdoblamiento espín-espín*.

Tanto el desplazamiento químico como el desdoblamiento espín-espín son importantes en el análisis

estructural. Desde el punto de vista experimental, los dos se distinguen con facilidad porque las separaciones entre picos que son el resultado de un desplazamiento químico son directamente proporcionales a la intensidad del campo o a la frecuencia del oscilador. Por consiguiente, si el espectro que se ilustra en la figura 19.12a se toma a 100 MHz y no a 60 MHz, la distancia horizontal entre cualquier conjunto de resonancias aumenta en 100/60, según se puede ver en la figura 19.13. En cambio, la distancia entre los picos de estructura fina dentro de un grupo, a causa del acoplamiento espín-espín, no se ve alterada por esta modificación de frecuencia.

Origen del desplazamiento químico

El desplazamiento químico es causado por pequeños campos magnéticos que se generan a causa del movimiento de los electrones alrededor de los núcleos. Por lo general, estos campos se oponen al campo aplicado. Como consecuencia, los núcleos están expuestos a un campo efectivo que es casi siempre un poco menor que el campo externo. La magnitud del campo que se genera internamente es directamente proporcional al campo externo aplicado, por lo que se puede escribir

$$B_0 = B_{\text{apl}} = \sigma B_{\text{apl}} = B_{\text{apl}}(1 - \sigma) \quad (19.13)$$

donde B_{apl} es la intensidad del campo aplicado y B_0 es la magnitud del campo resultante, que determina el comportamiento de resonancia de los núcleos. La cantidad σ es la *constante de selectividad*, la cual está determinada por la densidad de electrones y su distribución espacial alrededor del núcleo. La densidad de electrones depende de la estructura del compuesto que contiene el núcleo. Si se sustituye la ecuación 19.5 en la 19.13 se obtiene la condición de resonancia en términos de la frecuencia. Es decir,

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0(1 - \sigma) = k(1 - \sigma) \quad (19.14)$$

donde $k = \gamma B_0/2\pi$.

La constante de selectividad de los protones en un grupo metilo es mayor que la constante para los protones del metileno, y es incluso menor para el protón en un grupo —OH . En el caso de un núcleo de hidrógeno aislado, la constante de selectividad es cero. Entonces, con objeto de producir resonancia en cualquiera de los protones del etanol a una frecuencia ν determinada del oscilador, es necesario emplear un campo B_{apl} que sea mayor que B_0 (ecuación 19.13), el valor de resonancia para el protón aislado. Otra posibilidad es que si se mantiene constante el campo aplicado, la frecuencia del oscilador debe aumentar con el fin de producir la condición de resonancia. Puesto que σ es diferente para los protones de distintos grupos funcionales, el campo aplicado que se necesita difiere

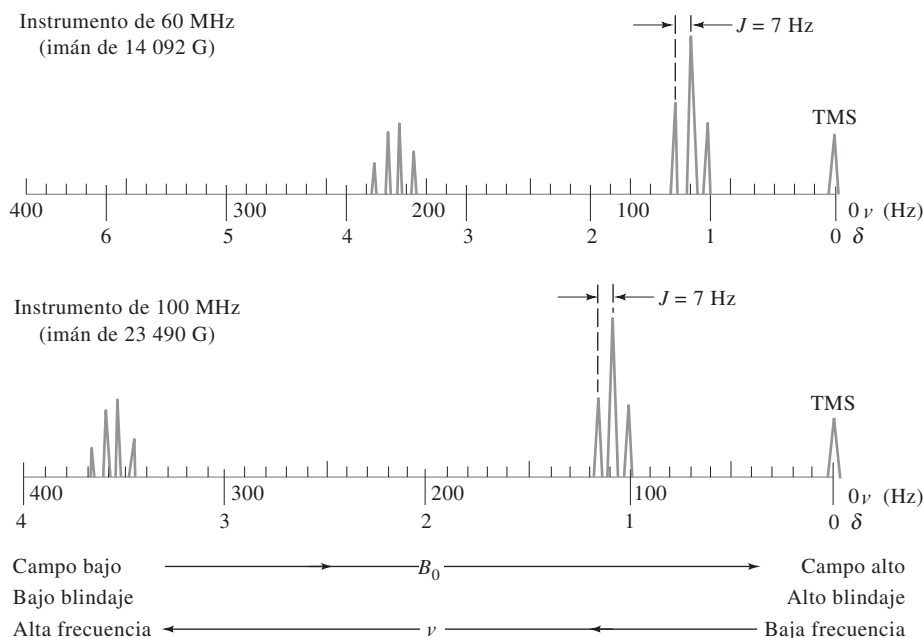


FIGURA 19.13 Escalas de la abscisa para los espectros de resonancia magnética nuclear.

de grupo en grupo. Este efecto se aprecia en el espectro del etanol que se observa en la figura 19.12a, en el cual el protón del grupo hidroxilo aparece en el campo aplicado más bajo, después los protones del metileno y, para finalizar, los protones del metilo. Observe que todas estas resonancias se presentan en un campo aplicado mayor que el teórico para el núcleo de hidrógeno aislado, el cual se encontraría más hacia la izquierda en el espectro de la figura 19.12a. Asimismo, tenga en cuenta que si la intensidad del campo magnético aplicado se mantuviera constante en el nivel necesario para excitar el protón del metilo, sería necesario un aumento de la frecuencia para producir la resonancia en los protones del metileno.

Origen del desdoblamiento espín-espín

El desdoblamiento de las resonancias de desplazamiento químico tiene lugar cuando el momento magnético de un núcleo interactúa con los momentos magnéticos de los núcleos inmediatamente adyacentes. El campo magnético producido por un núcleo que está girando afecta la distribución de los electrones en sus enlaces con otros núcleos. Este cambio en la distribución de los electrones produce entonces cambios en los campos magnéticos de los núcleos adyacentes, desdoblamiento de los niveles de energía y, por tanto, múltiples transiciones. Este acoplamiento magnético de los núcleos que se transmite mediante los electrones de enlace se denomina a menudo *interacción de polarización*. Por tanto, la estructura fina del pico del metileno que se muestra en la figura 19.12b puede atribuirse al efecto de los espines de los protones de metilo adyacentes. Y a la inversa, el desdoblamiento del pico del metilo en tres picos más pequeños se debe a los protones del metileno adyacentes. Estos efectos son independientes del campo aplicado y se superponen a los efectos del desplazamiento químico. El desdoblamiento espín-espín se trata con mucho más detalle en la sección 19B.3.

Escalas para la abscisa en los espectros de resonancia magnética nuclear

La determinación de la intensidad absoluta del campo magnético con la exactitud necesaria para las mediciones de resonancia magnética nuclear de alta resolución es difícil o imposible. Por otra parte, como se mostrará en la sección 19C, es del todo posible determinar la magnitud de un *cambio* en la intensidad del campo con una exactitud de una décima de miligauss o incluso mejor. Por tanto, es conveniente establecer la posición de las resonancias respecto a la resonancia de una sustancia patrón interno que se pueda medir durante el experimento. El uso de un patrón interno tiene también la ventaja de que los desplazamientos químicos se pueden reportar en términos que son independientes de la frecuencia del oscilador.

El patrón interno que se utiliza depende del núcleo que se estudia y del solvente empleado. El compuesto que más se utiliza para el estudio de los protones es el tetrametilsilano (TMS) $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$. En este compuesto todos los protones son idénticos y, por razones que se consideran más adelante, su constante de selectividad

es más grande que para la mayoría de los protones. Por consiguiente, este compuesto proporciona una sola línea nítida cuando se aplica un campo intenso, bien separado de las resonancias de interés en un espectro. Además, el TMS es inerte, muy soluble en la mayor parte de los líquidos orgánicos y se elimina muy bien de las muestras por destilación (p. eb = 27°C). Por desgracia, el TMS es insoluble en agua; en medios acuosos se utiliza en su lugar la sal de sodio del ácido 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfónico (DSS), $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$. Los protones del metilo de este compuesto producen una línea virtualmente en la misma posición en el espectro que la del pico del TMS. Sin embargo, los protones del metileno del DSS dan una serie de pequeñas resonancias que podrían interferir. Por esta razón, la mayor parte del DSS que se comercializa tiene los grupos metileno deuterados, lo que permite eliminar estas absorciones indeseables.

A fin de expresar el desplazamiento químico de un núcleo de una muestra respecto al TMS en términos cuantitativos cuando se hacen las mediciones con una intensidad de campo constante B_0 , se aplica la ecuación 19.14 a las resonancias de la muestra y del TMS para obtener

$$\nu_s = k(1 - \sigma_s) \quad (19.15)$$

$$\nu_r = k(1 - \sigma_r) \quad (19.16)$$

donde los subíndices r y s se refieren al TMS de referencia y a la muestra de analito, respectivamente. Al restar la primera ecuación de la segunda se obtiene

$$\nu_r - \nu_s = k(\sigma_s - \sigma_r) \quad (19.17)$$

Si se divide esta ecuación entre la ecuación 19.15 a fin de eliminar k se tiene

$$\frac{\nu_r - \nu_s}{\nu_r} = \frac{\sigma_r - \sigma_s}{1 - \sigma_r}$$

Por lo general, σ_r es mucho menor que 1, de modo que esta ecuación se simplifica a

$$\frac{\nu_r - \nu_s}{\nu_r} = \sigma_r - \sigma_s \quad (19.18)$$

Entonces, se define el *parámetro del desplazamiento químico* δ como

$$\delta = (\sigma_r - \sigma_s) \times 10^6 \quad (19.19)$$

La cantidad δ es adimensional y expresa el desplazamiento relativo en partes por millón. Una clara ventaja de este enfoque es que para una resonancia determinada, δ tendrá el mismo valor independientemente de que el instrumento utilizado sea de 200 u 800 MHz. La mayor parte de las resonancias de los protones están en el intervalo de δ comprendido entre 1 y 13 ppm. En el caso de otros núcleos, el intervalo de los despla-

mientos químicos es mayor debido a los electrones 2p asociados. Por ejemplo, el desplazamiento químico para el ^{13}C en varios grupos funcionales está por lo común en el intervalo de 0 a 220 ppm, pero podría llegar a 400 ppm o más. Para el ^{19}F , el intervalo de desplazamientos químicos puede llegar hasta 800 ppm, en tanto que para el ^{31}P es de 300 ppm o más.

Por lo general, en las representaciones gráficas de los espectros de resonancia magnética nuclear la abscisa está en una escala lineal δ , y los datos siempre se han representado de forma que el campo aumenta de izquierda a derecha (véase figura 19.13). Por tanto, si se emplea el TMS como referencia, su resonancia aparece en el extremo derecho de la gráfica, porque σ para el TMS es muy grande. Como ya se vio, el valor cero de la escala de δ corresponde al pico de TMS, y el valor de δ aumenta de derecha a izquierda. De nuevo en relación con la figura 19.13, observe que los distintos picos aparecen en el mismo valor de δ a pesar del hecho de que los dos espectros se obtuvieron con instrumentos que tenían campos fijos notablemente diferentes.

Por lo común, el desdoblamiento espín-espín se da en hertz. En la figura 19.13 se observa que el desdoblamiento espín-espín (J) en unidades de frecuencia es el mismo con los instrumentos de 60 MHz que con los de 100 MHz. Sin embargo, note que el desplazamiento químico en *unidades de frecuencia* aumenta cuando el instrumento es de frecuencia superior.

19B.2 Teoría del desplazamiento químico

Como ya se hizo notar, los desplazamientos químicos se deben a los campos magnéticos secundarios producidos por la circulación de los electrones en la molécula. Estas corrientes, denominadas *corrientes diamagnéticas* locales⁷ son inducidas por el campo magnético fijo y originan campos secundarios que pueden reducir o aumentar el campo al cual responde un protón en particular. Los efectos son complejos y sólo se estudian aquí los principales aspectos del fenómeno. Se pueden encontrar análisis más completos en varios trabajos de referencia.⁸

Bajo la influencia del campo magnético, los electrones de enlace con el protón tienden a experimentar una precesión alrededor del núcleo en un plano perpendicular al campo magnético (véase figura 19.14).

⁷La intensidad de la magnetización inducida en una sustancia diamagnética es menor que la producida en el vacío por el mismo campo. El diamagnetismo es resultado del movimiento que induce el campo aplicado en los electrones enlazantes; dicho movimiento, denominado corriente diamagnética, crea un campo secundario que se opone al campo aplicado. El paramagnetismo y las *corrientes paramagnéticas* resultantes se manifiestan de forma opuesta.

⁸Véase por ejemplo, J. B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004; E. D. Becker, *High Resolution NMR*, 3a. ed., Nueva York: Academic Press, 2000.

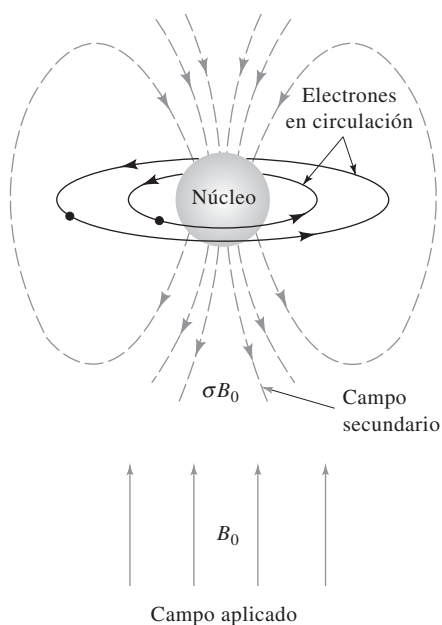


FIGURA 19.14 Blindaje diamagnético de un núcleo.

Un efecto de este movimiento es la formación de un campo secundario que se opone al campo principal, de manera análoga a lo que sucede cuando los electrones atraviesan una espira. Entonces el núcleo experimenta un campo resultante que es menor, por esa razón se dice que el núcleo está *blindado* respecto al efecto total del campo principal. Por consiguiente, se debe aumentar el campo externo para producir la resonancia nuclear.

El blindaje que experimenta un núcleo está directamente relacionado con la densidad de electrones que lo rodean. Por tanto, en ausencia de otras influencias, se esperaría que disminuyera el blindaje al aumentar la electronegatividad de los grupos adyacentes. Este efecto se manifiesta en los valores δ de los protones en los haluros de metilo, CH_3X , que están en el orden I (2.16), Br (2.68), Cl (3.05) y F (4.26). En este ejemplo, el yodo, el halógeno menos electronegativo, es también el menos efectivo atrayendo los electrones de los protones metílicos. Por consiguiente, los electrones del yodo producen el menor efecto de blindaje. Mediante este modelo se explica también la posición de los picos del protón en el TMS debido a que el silicio es relativamente electropositivo.

Efecto de la anisotropía magnética

A partir de un examen de los espectros de los compuestos que contienen dobles o triples enlaces, resulta evidente que los efectos diamagnéticos locales no bastan para explicar la posición de ciertas resonancias de los protones. Considere, por ejemplo, la variación irregular en los valores de δ para los protones de los

siguientes hidrocarburos, dispuestos por orden de acidez creciente o por la electronegatividad creciente de los grupos a los que están unidos los protones: CH_3-CH_3 ($\delta = 0.9$), $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ ($\delta = 5.8$) y $\text{HC}\equiv\text{CH}$ ($\delta = 2.9$). Además, el protón aldehídico RCHO ($\delta \approx 10$) y los protones del benceno ($\delta \approx 7.3$) aparecen mucho más abajo de lo que cabría esperar en relación con la electronegatividad de los grupos a los que están unidos.

Los efectos de los enlaces múltiples sobre el desplazamiento químico pueden explicarse tomando en cuenta las propiedades magnéticas anisotrópicas de estos compuestos. Por ejemplo, se observó que las susceptibilidades magnéticas⁹ de los compuestos aromáticos cristalinos difieren apreciablemente entre sí, según la orientación del anillo respecto al campo aplicado. Esta anisotropía se comprende con facilidad a partir del modelo que se ilustra en la figura 19.15. En este caso, el plano del anillo es perpendicular al campo magnético. En esta posición, el campo puede inducir un flujo de electrones π alrededor del anillo para crear la denominada *corriente anular*. Una corriente anular es semejante a la corriente en una espira; es decir, se induce un campo secundario que actúa oponiéndose al campo aplicado. Sin embargo, este campo inducido ejerce un efecto magnético sobre los protones unidos al anillo que actúa en la dirección del campo, como se muestra en la figura 19.15. Por tanto, los protones aromáticos requieren un campo externo menor para que se produzca la resonancia. Este efecto está ausente o se cancela a sí mismo en el caso de otras orientaciones del anillo.

Un modelo semejante se aplica a los enlaces dobles etilénicos o carbonílicos. En tales casos se podría imaginar electrones π en circulación en un plano a lo largo del eje del enlace cuando la molécula se orienta con el

⁹La susceptibilidad magnética de una sustancia puede considerarse como el grado en que es susceptible a la magnetización inducida por un campo externo.

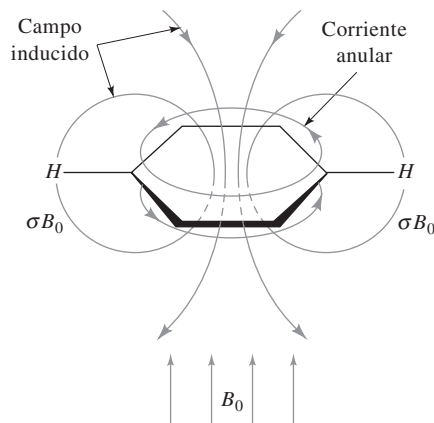


FIGURA 19.15 Anulación del blindaje de los protones aromáticos producido por la corriente anular.

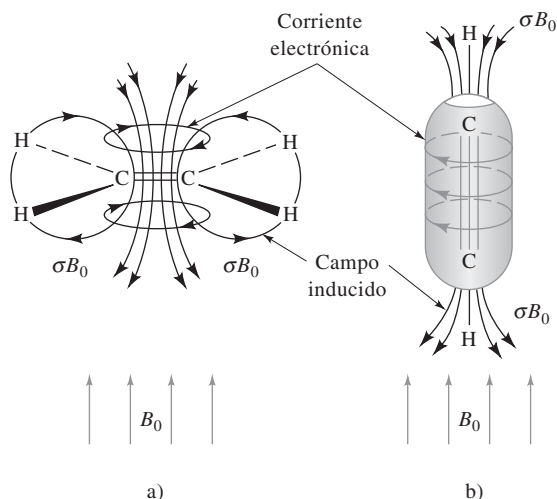


FIGURA 19.16 Anulación del blindaje del etileno y blindaje del acetileno producidos por las corrientes electrónicas.

campo, tal como se indica en la figura 19.16a. De nuevo, el campo secundario producido actúa sobre el protón para reforzar el campo aplicado. Así, la anulación del blindaje desplaza el pico hacia valores más altos de δ . Con un aldehído, este efecto se combina con la anulación del blindaje producido por la electronegatividad del grupo carbonilo, lo que causa un valor de δ muy grande.

En un enlace acetilénico, la distribución simétrica de los electrones π alrededor del eje del enlace, les permite circular alrededor del enlace. En cambio, dicha circulación está prohibida por el plano nodal en la distribución electrónica de un enlace doble. Según la figura 19.16b, en esta orientación los protones están blindados. Este efecto es bastante intenso como para contrarrestar la anulación del blindaje debido a la acidez de los protones y a las corrientes electrónicas en las orientaciones perpendiculares al enlace.

Correlación del desplazamiento químico con la estructura

El desplazamiento químico se utiliza para identificar grupos funcionales y como un auxiliar para determinar la configuración estructural de los grupos. Estas aplicaciones se basan en las correlaciones empíricas entre la estructura y el desplazamiento. Se han publicado diversas gráficas y tablas de correlación¹⁰ dos de las cuales se proporcionan en la figura 19.17 y en la tabla 19.2. Tenga en cuenta que los valores exactos de δ dependen de la naturaleza del solvente, así como de

la concentración del soluto. Estos efectos son sobre todo pronunciados para los protones que participan en un enlace de hidrógeno. Un ejemplo excelente de este efecto es el protón de un grupo funcional alcohólico.

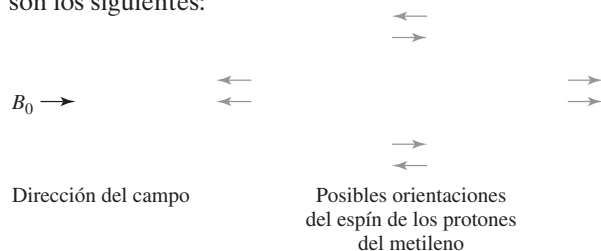
19B.3 Desdoblamiento espín-espín

Como se puede ver en la figura 19.12, las bandas de absorción para los protones del metilo y del metileno en etanol están formadas por varias resonancias estrechas que se pueden separar de manera rutinaria con un instrumento de alta resolución. Un examen cuidadoso de estos picos revela que la separación de los tres componentes de la banda del metileno es la misma que la de los cuatro picos de la banda del metileno. Esta separación en hertz se denomina *constante de acoplamiento* de la interacción y se representa con el símbolo J . Además, la relación entre las áreas de los picos en un múltiple se aproxima a una relación entre números enteros. Así, para el triple del metilo, la relación de áreas es de 1:2:1; para el cuádruple de los picos del metileno es de 1:3:3:1.

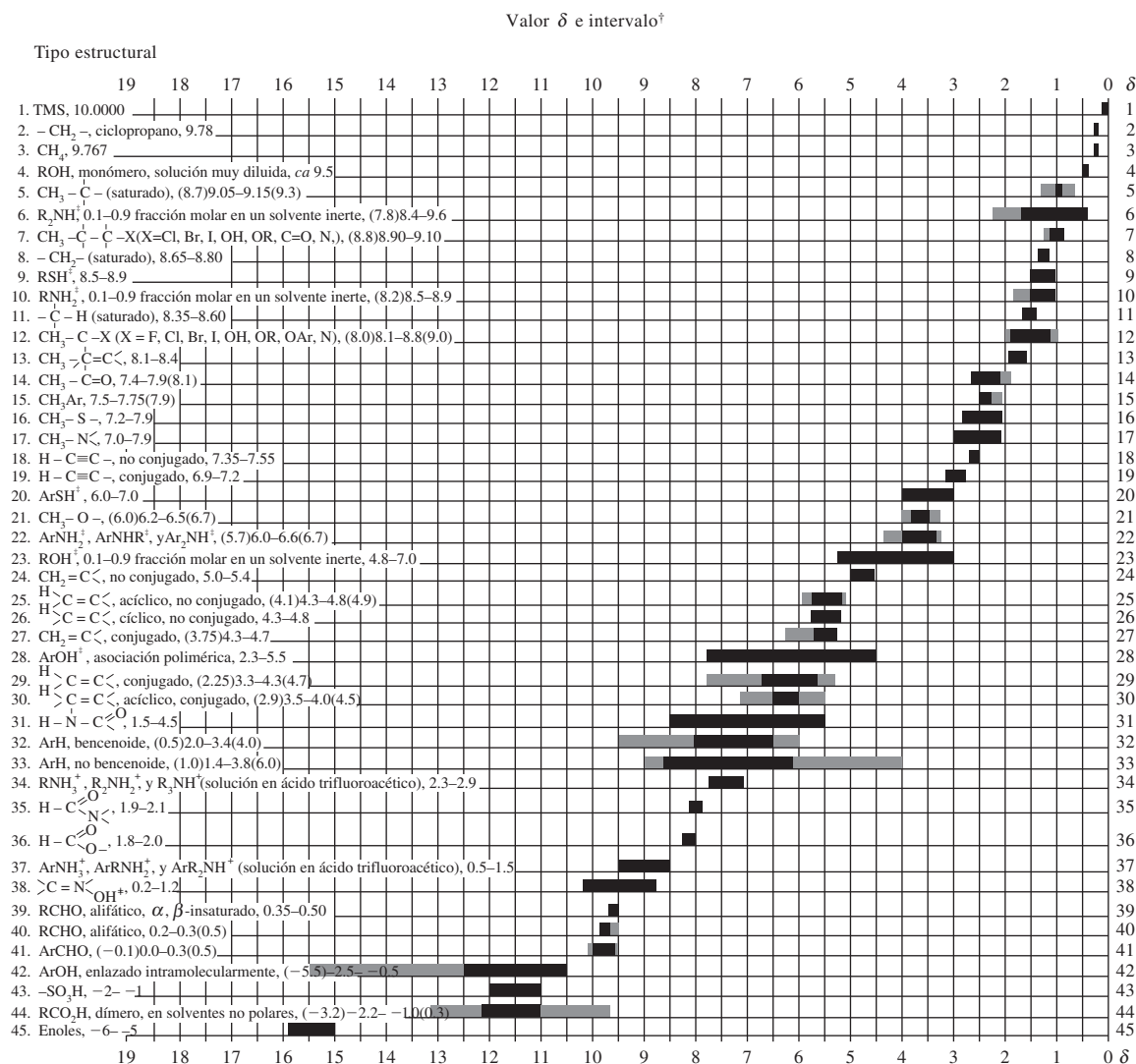
Origen

Las observaciones anteriores se basan en el efecto que los espines de un conjunto de núcleos ejercen sobre el comportamiento de la resonancia de otro. Es decir, hay una débil interacción o acoplamiento entre los dos grupos de protones adyacentes. Los resultados de cálculos teóricos detallados son consistentes con la idea de que el acoplamiento tiene lugar mediante las interacciones entre los núcleos y los electrones de enlace, y no a través del espacio libre. Para los fines que se persiguen en este libro, es innecesario un análisis detallado del mecanismo.

Considere en primer lugar el efecto de los protones del metileno en el etanol sobre la resonancia de los protones del metilo. Recuerde que la relación entre los protones en los dos posibles estados de espín es prácticamente la unidad, incluso en un campo magnético intenso. Entonces, es posible imaginar que los dos protones del metileno de una molécula pueden tener cuatro combinaciones posibles de estados de espín, y que en la muestra completa la cantidad de cada una de estas combinaciones es casi igual. Si se representa la orientación del espín de cada uno de los núcleos mediante una flecha pequeña, los cuatro estados son los siguientes:



¹⁰ R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., cap. 3, Nueva York: Wiley, 2004; B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, cap. 3, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004.



[†]En general, los grupos funcionales indicados absorberán dentro del intervalo señalado. En algunas ocasiones, un grupo funcional podrá absorber fuera de estos valores. Se indican los límites aproximados mediante valores de absorción entre paréntesis y una zona sombreada en la figura.

[‡]Las posiciones de absorción de estos grupos dependen de la concentración y se desplazan a valores de δ más altos en soluciones más diluidas.

FIGURA 19.17 Posiciones de absorción de los protones en varios entornos estructurales. (Tabla tomada con autorización de J. R. Dyer, *Applications of Absorption Spectroscopy by Organic Compounds*, p. 85, Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1965.)

En la primera de las combinaciones a la izquierda, los espines de los protones del metileno están emparejados y alineados contra el campo, en tanto que en la segunda combinación situada a la derecha los espines emparejados están invertidos. En las dos combinaciones del centro los espines son opuestos entre sí. El efecto magnético que se transmite a los protones del metilo en el átomo de carbono adyacente está determinado por las combinaciones instantáneas de espines que existen en el grupo metileno. Si los espines están emparejados y se oponen al campo externo, el campo

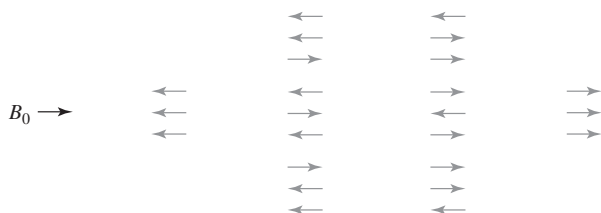
efectivo aplicado sobre los protones del metilo es ligeramente menor. Por consiguiente, se requiere un campo un poco superior para que lleguen a la resonancia y se produzca un desplazamiento hacia arriba del campo. Los espines emparejados y alineados con el campo originan un desplazamiento a un campo más bajo. Ninguna de las combinaciones con espines opuestos tiene efecto alguno en la resonancia de los protones del metilo. Por tanto, resulta el desdoblamiento en tres picos (véase la figura 19.12b). El área bajo el pico central mide el doble que cualquiera de las

TABLA 19.2 Desplazamientos químicos aproximados para protones de grupos metilo, metileno y metino.

Estructura	δ , ppm		
	M = CH ₃	M = CH ₂	M = CH
Sustituyentes alifáticos α			
M—Cl	3.0	3.5	4.0
M—Br	2.7	3.4	4.1
M—NO ₂	4.3	4.4	4.6
M—OH (o OR)	3.2	3.4	3.6
M—O—C ₆ H ₅	3.8	4.0	4.6
M—OC(=O)R	3.6	4.1	5.0
M—C=C	1.6	1.9	—
M—C $\equiv$ C	1.7	2.2	2.8
M—C(=O)H	2.2	2.4	—
M—C(=O)R	2.1	2.4	2.6
M—C(=O)C ₆ H ₅	2.4	2.7	3.4
M—C(=O)OR	2.2	2.2	2.5
M—C ₆ H ₅	2.2	2.6	2.8
Sustituyentes alifáticos β			
M—C—Cl	1.5	1.8	2.0
M—C—Br	1.8	1.8	1.9
M—C—NO ₂	1.6	2.1	2.5
M—C—OH (o OR)	1.2	1.5	1.8
M—C—OC(=O)R	1.3	1.6	1.8
M—C—C(=O)H	1.1	1.7	—
M—C—C(=O)R	1.1	1.6	2.0
M—C—C(=O)OR	1.1	1.7	1.9
M—C—C ₆ H ₅	1.1	1.6	1.8

otros dos, porque intervienen dos combinaciones de espines.

Consideremos ahora el efecto de los tres protones del metilo sobre el pico del metileno (parte intermedia de la figura 19.12a). Las posibles combinaciones de los espines de los protones del metilo son las siguientes:



En este caso, hay ocho combinaciones posibles de espín; sin embargo, entre ellas hay dos grupos que contienen tres combinaciones que producen efectos magnéticos equivalentes. Entonces, el pico del metileno está desdoblado en cuatro picos cuya relación de áreas es 1:3:3:1 (figura 19.12b). Estos dos ejemplos de grupos metilo y metileno adyacentes en el metanol apun-

tan a la regla general de que el número de picos en una banda desdoblada en un espectro de primer orden es igual al número n de protones equivalentes desde el punto de vista magnético¹¹ en los átomos vecinos más uno. La cantidad de tales picos se conoce como *multiplicidad*.

La interpretación de los modelos de desdoblamiento espín-espín es relativamente sencilla y directa en el caso de los espectros de *primer orden*. Los espectros de primer orden son aquellos en los que el desplazamiento químico entre los grupos de núcleos que interactúan es grande respecto a sus constantes de acoplamiento J . Un comportamiento de primer orden riguroso requiere que J/δ sea menor que 0.05. Pero por lo general es posible analizar los espectros con técnicas de primer orden hasta valores de $\Delta\nu/J$ algo superiores a 0.1. El espectro del etanol que se muestra en la figura 19.13 es un ejemplo de un espectro de primer orden puro,

¹¹ Los protones magnéticamente equivalentes son aquellos cuyos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento son idénticos.

TABLA 19.3 Intensidades relativas de los múltiplos de primer orden ($I = 1/2$).

Número de protones equivalentes, n	Multiplicidad, $(n + 1)$	Áreas de pico relativas									
0	1	1									
1	2	1 1									
2	3	1 2 1									
3	4	1 3 3 1									
4	5	1 4 6 4 1									
5	6	1 5 10 10 5 1									
6	7	1 6 15 20 15 6 1									
7	8	1 7 21 35 35 21 7 1									

con valores de 7 Hz para J en los picos del metilo y del metileno, y con separación entre los centros de los dos múltiplos de unos 140 Hz.

La interpretación de los espectros de RMN de segundo orden es relativamente complicada, y no se trata en este texto. Sin embargo, observe que δ aumenta al incrementarse el campo magnético, pero J no lo hace; por ello, los espectros obtenidos con un instrumento de elevado campo magnético se interpretan con mayor facilidad que los producidos con un espectrómetro de imán débil.

Reglas para la interpretación de los espectros de primer orden

Las siguientes reglas rigen la apariencia de los espectros de primer orden:

1. Los núcleos equivalentes no interaccionan entre sí para dar picos de absorción múltiples. Los tres protones del grupo metilo en el etanol sólo originan el desdoblamiento de los protones del metileno adyacente, y no de sí mismos.
2. Las constantes de acoplamiento disminuyen de manera importante al separarse los grupos, y raras veces se observa acoplamiento a distancias mayores que cuatro longitudes de enlace.
3. La multiplicidad de una banda se determina por el número n de protones equivalentes desde el punto de vista magnético en los átomos vecinos, y está dada por $n + 1$. Entonces, la multiplicidad de la banda del metileno en el etanol está determinada por el número de protones en los grupos metilo adyacentes, y es igual a $3 + 1 = 4$.
4. Si los protones del átomo B están afectados por los protones de los átomos A y C que no son equivalentes, la multiplicidad de B es igual a $(n_A + 1)(n_C + 1)$, donde n_A y n_C son el número de protones equivalentes de A y C, respectivamente.

5. Las áreas relativas aproximadas de un múltiple son simétricas alrededor del punto medio de la banda y son proporcionales a los coeficientes de los términos de la serie $(x + 1)^n$. La aplicación de esta regla se demuestra en la tabla 19.3 y en los ejemplos que siguen.
6. La constante de acoplamiento es independiente del campo aplicado; por consiguiente, los múltiplos se distinguen con facilidad de los picos de desplazamiento químico muy juntos, registrando los espectros con dos intensidades de campo diferentes.

EJEMPLO 19.3

Para cada uno de los siguientes compuestos, calcule la cantidad de múltiplos de cada banda y sus áreas relativas: a) $\text{Cl}(\text{CH}_2)_3\text{Cl}$; b) $\text{CH}_3\text{CHBrCH}_3$; c) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_3$.

Solución

- a) La multiplicidad de los cuatro protones equivalentes de los dos extremos de la molécula se determina por el número de protones sobre el átomo central; entonces, la multiplicidad es $2 + 1 = 3$ y las áreas están en la relación 1:2:1. La multiplicidad de los protones del metileno centrales está determinada por los cuatro protones equivalentes en los extremos, y es $4 + 1 = 5$. El desarrollo de la serie $(x + 1)^4$ da los coeficientes (tabla 19.3), que son proporcionales a las áreas de los picos 1:4:6:4:1.
- b) La banda correspondiente a los seis protones del metilo está constituida por $1 + 1 = 2$ picos que tienen una relación de áreas de 1:1; el protón del átomo del carbono central tiene una multiplicidad de $6 + 1 = 7$. Estos picos tienen áreas con relación de 1:6:15:20:15:6:1 (tabla 19.3).

- c) Los protones del metilo de la derecha están separados de los otros protones por más de tres enlaces, de modo que originan sólo un pico. Los protones del grupo metileno central tienen una multiplicidad de $3 + 1 = 4$ y una relación de 1:3:3:1. Los protones del metilo de la izquierda tienen una multiplicidad de $2 + 1 = 3$ y una relación de áreas de 1:2:1.

Los ejemplos anteriores son relativamente simples porque todos los protones que influyen en la multiplicidad de cualquiera de los picos son magnéticamente equivalentes. Cuando dos o más protones no equivalentes afectan a un grupo de protones determinado, entonces resulta un modelo de desdoblamiento más complicado. Por ejemplo, considere el espectro del 1-yodopropano, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$. Si designa a los tres átomos de carbono como *a*), *b*) y *c*) de izquierda a derecha, las bandas de desplazamiento químico se encuentran a $\delta_{(a)} = 1.02$, $\delta_{(b)} = 1.86$ y $\delta_{(c)} = 3.17$. La banda en $\delta_{(a)} = 1.02$ se desdoblará por los dos protones del metileno en *b*) en $2 + 1 = 3$ líneas con áreas relativas de 1:2:1. Se observa un desdoblamiento semejante para la banda en $\delta_{(c)} = 3.17$. Las constantes de acoplamiento experimentales para los dos desplazamientos son $J_{(ab)} = 7.3$ y $J_{(bc)} = 6.8$. La banda de los protones del metileno de *b*) está afectada por dos grupos de protones, que no son magnéticamente equivalentes, lo que es evidente a partir de la diferencia entre $J_{(ab)}$ y $J_{(bc)}$. Entonces, de acuerdo con la regla 4, el número de picos es $(3 + 1)(2 + 1) = 12$. En casos como éste, es útil elaborar un modelo de desdoblamiento como el que se muestra en la figura 19.18. En este ejemplo, se muestra primero el efecto del protón *a*) que ocasiona cuatro picos de áreas relativas de 1:3:3:1 y separados por 7.3 Hz. Cada uno de ellos se desdobla luego en tres nuevos picos separados por 6.8 Hz, y con áreas relativas de 1:2:1. Se produce el mismo desdoblamiento final si la banda original se desdobla primero en un triple. Con una resolución muy alta, el espectro del 1-yodopropano presenta una serie de picos muy parecida a la que se muestra en la parte inferior de la figura 19.18. Si la resolución es lo suficientemente baja, de manera que el instrumento no detecta la diferencia entre $J_{(ab)}$ y $J_{(bc)}$, sólo se observan seis picos con áreas relativas de 1:5:10:10:5:1.

Los espectrómetros modernos contienen programas de computación con los que se pueden calcular con gran exactitud los espectros para sistemas con tres o cuatro espines. Por lo regular, se aplica primero un método de ensayo y error para determinar los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento para producir un espectro simulado que corresponda con el espectro experimental. Luego se hacen variar los desplazamientos químicos hasta que concuerden de

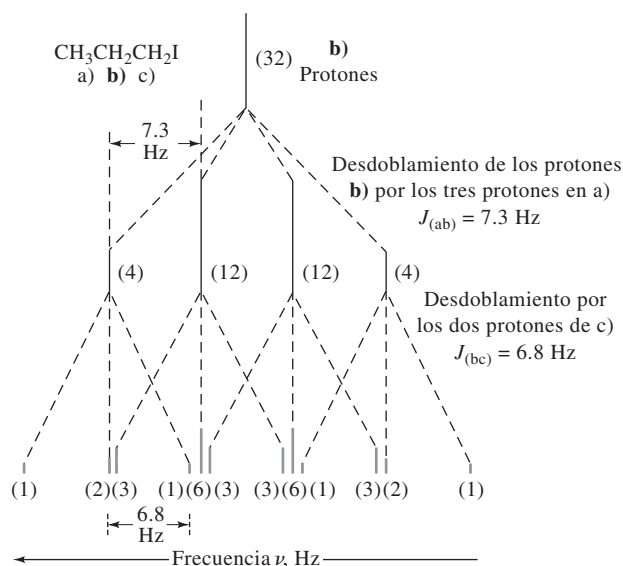


FIGURA 19.18 Patrón de desdoblamiento de los protones *b*) del metileno en $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$. Los valores entre paréntesis son las áreas relativas de los picos.

manera aproximada las anchuras y las ubicaciones de los múltiples. Por último, las constantes de acoplamiento o sus sumas y diferencias se hacen variar hasta que se obtenga una concordancia apropiada entre los espectros observado y simulado.

Espectros de segundo orden

Por lo regular, las constantes de acoplamiento son menores de 20 Hz, y los desplazamientos químicos pueden llegar a ser de miles de Hz. Por tanto, el desdoblamiento que describen las reglas en la sección anterior es común. Sin embargo, cuando J/δ es mayor que alrededor de 0.1 a 0.15, estas reglas ya no rigen. En general, cuando δ se aproxima a J , los picos interiores de dos múltiples tienden a aumentar a expensas de los picos exteriores, y así se pierde la simetría de cada múltiple, tal como se hizo notar ya. Además, aparecen más líneas y, en ocasiones, muchas más, de forma que la separación entre ellas ya no corresponde con la magnitud y las constantes de acoplamiento. En estas circunstancias es difícil el análisis de un espectro.

Efecto del intercambio químico sobre los espectros

Tome ahora en cuenta de nuevo el espectro de resonancia magnética nuclear del etanol (figura 19.12) y reflexione sobre por qué la resonancia del protón del OH aparece como un sencillo y no como un triple. Los protones del metileno y el protón del OH están separados sólo por tres enlaces, de modo que el acoplamiento debería aumentar la multiplicidad tanto de las bandas del OH como del metileno. En realidad, tal como se muestra en la figura 19.19, se observa la multiplicidad que era de esperarse en el espectro de reso-

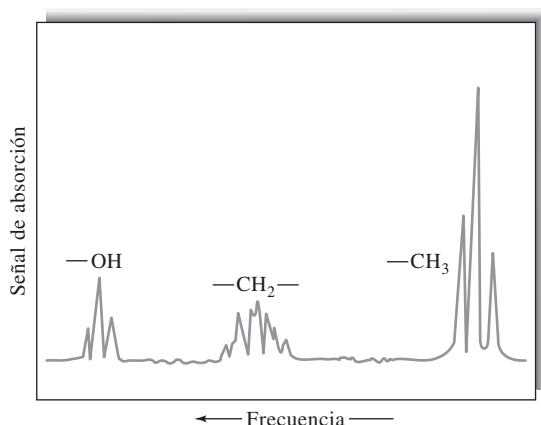


FIGURA 19.19 Espectro de etanol altamente purificado en el que se muestra el desdoblamiento adicional de los picos del OH y del CH₂ (compárela con la figura 19.12).

nancia magnética nuclear de una muestra altamente purificada del alcohol. Examine los picos del triplete del OH y los ocho picos del metileno en este espectro. Si se añaden trazas de ácido o de base a la muestra pura, el espectro se invierte y adquiere el aspecto que se muestra en la figura 19.12.

Se sabe que el intercambio de los protones del OH entre las moléculas de alcohol es catalizado por ácidos y por bases, así como por las impurezas que normalmente contiene el alcohol. Por tanto, es plausible asociar el desacoplamiento observado en presencia de estos catalizadores a un proceso de intercambio. Si éste es rápido, cada grupo OH tendrá varios protones asociados con él durante un breve periodo, y durante este intervalo todos los protones OH experimentan los efectos de las tres disposiciones de espín de los protones del metileno. Entonces, los efectos magnéticos sobre el protón alcohólico se promedian y se observa una sola resonancia aguda. Siempre se produce desacoplamiento de espines cuando la frecuencia de intercambio es mayor que la frecuencia de separación entre los componentes que interactúan.

El intercambio químico puede afectar no sólo al acoplamiento espín-espín, sino también al desplazamiento químico. Las mezclas de agua y alcohol purificado tienen dos picos del protón del OH muy bien definidos y claramente separados. Sin embargo, cuando se añade ácido o base a la mezcla, los dos picos se unen formando una sola línea aguda. En este caso, el catalizador aumenta la velocidad del intercambio de protones entre el alcohol y el agua, y por consiguiente promedia el efecto de blindaje. Se obtiene sólo una línea aguda cuando la velocidad de intercambio es significativamente mayor que la frecuencia de separación de las líneas del alcohol y del agua. Por otra parte, si la frecuencia de intercambio es casi igual a la diferencia de frecuencias, el blindaje es promediado sólo en par-

te, por lo que resulta una línea ancha. La correlación de la anchura de la línea con las velocidades de intercambio ha proporcionado un medio directo para el estudio de la cinética de dichos procesos y constituye una importante aplicación experimental de la RMN. Con frecuencia, dichos estudios se llevan a cabo registrando los espectros a diferentes temperaturas y determinando la temperatura a la que los múltiples se funden en una sola banda. Con esta información se puede calcular la energía de activación y otros parámetros cinéticos del proceso de intercambio e investigar los mecanismos de dicho proceso.¹²

19B.4 Técnicas de doble resonancia

Entre los experimentos de doble resonancia está un grupo de técnicas en las que la muestra se irradia de manera simultánea con dos o más señales de radiofrecuencia. Algunos de los métodos son el *desacoplamiento de espín*, el *efecto nuclear Overhauser*, el *cosquilleo de espín* y la *resonancia internuclear doble*. Estos procedimientos se utilizan como una ayuda para interpretar los espectros de resonancia magnética nuclear complejos y para aumentar la información que se puede obtener de ellos.¹³ En esta sección sólo se trata la primera de esas técnicas, el desacoplamiento de espín. El efecto nuclear Overhauser se explica brevemente en la sección 19E.1.

En la figura 19.20 se ilustra la simplificación espectral que acompaña al desacoplamiento homonuclear de espín, que se produce entre núcleos similares. El espectro *B* muestra la absorción asociada con los cuatro protones del anillo de piridina de la nicotina. El espectro *C* se obtuvo analizando la misma porción del espectro a la vez que se irradiaba la muestra con una segunda señal de radiofrecuencia con una frecuencia de alrededor de 8.6 ppm, lo cual corresponde a un desplazamiento químico centrado en los picos de absorción de los protones *c*) y *d*). La intensidad de la segunda señal es suficiente como para causar la saturación de la señal para esos protones. La consecuencia es un desacoplamiento de la interacción entre los protones *c*) y *d*) y los protones *a*) y *b*). En este caso, el espectro de absorción complejo de *a*) y *b*) se colapsa en dos picos de dobles que provienen del acoplamiento entre estos protones. De manera similar, el espectro para *c*) y *d*) se simplifica por desacoplamiento con una señal cuya frecuencia corresponde a las resonancias del protón *a*) o *b*).

¹²R. S. Drago, *Physical Methods for Chemists*, 2a. ed., cap. 8, p. 290. Filadelfia: Saunders, 1992.

¹³Para un análisis detallado de los métodos de resonancia doble, consulte J. B. Lambert y E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004; M. H. Levitt, *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, Nueva York, Wiley, 2001; E. D. Becker, *High Resolution NMR*, 3a. ed., Nueva York: Academic Press, 2000.

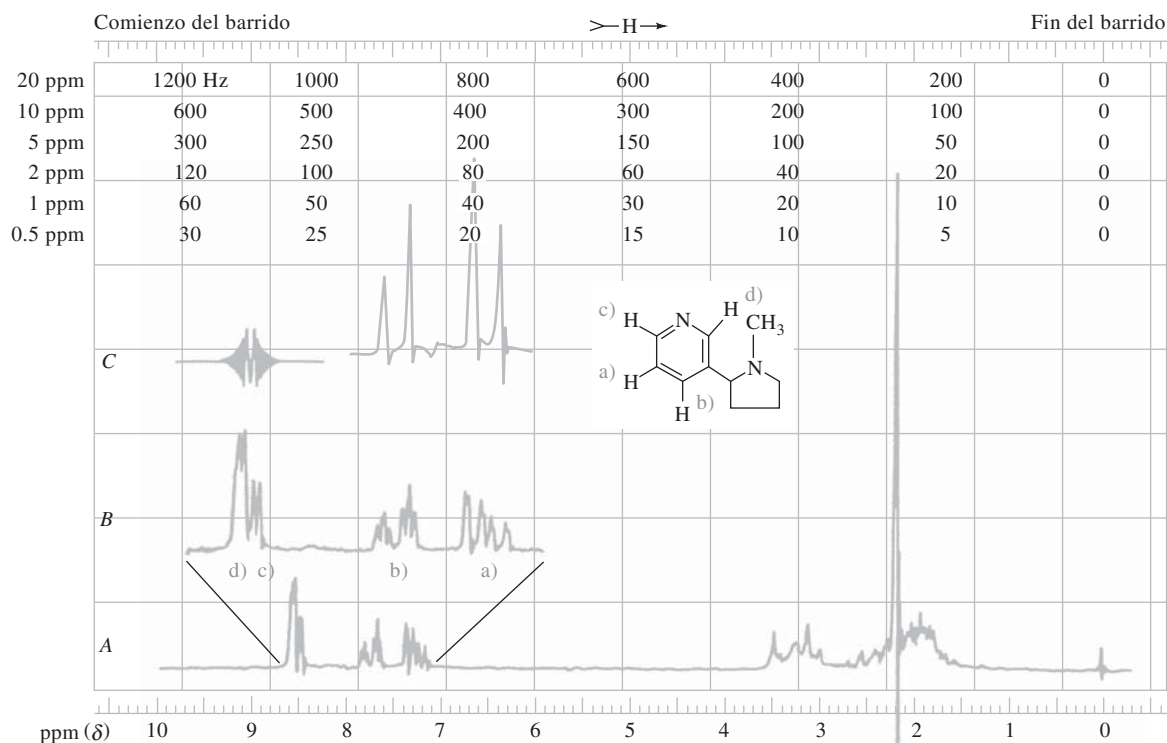


FIGURA 19.20 Efecto del desacoplamiento de espín en el espectro de RMN de la nicotina disuelta en CDCl_3 . El espectro *A* corresponde al espectro completo. La curva *B*, es el espectro expandido para los cuatro protones del anillo de piridina. La curva *C*, es el espectro de los protones *a*) y *b*) cuando se desacoplan de *d*) y *c*) por irradiación con un segundo haz de una frecuencia que corresponde a unas 8.6 ppm. (Cortesía de Varian Inc., Palo Alto, CA.)

El desacoplamiento heteronuclear, que es el desacoplamiento de la interacción entre núcleos no similares, se consigue con facilidad con los modernos instrumentos de resonancia magnética nuclear (RMN). El ejemplo más importante es la RMN de ^{13}C en cuyo caso la técnica se utiliza para simplificar los espectros por desacoplamiento de protones (sección 19E.1).

19C ESPECTRÓMETROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Los fabricantes de instrumentos comercializan dos tipos de espectrómetros de resonancia magnética nuclear: *espectrómetros de línea ancha* y *espectrómetros de alta resolución*. Los primeros están equipados con imanes cuya intensidad es de unas pocas décimas de tesla y son considerablemente más simples y más baratos que los segundos. Éstos contienen imanes de intensidades que oscilan entre 1.4 a 23 T, lo cual corresponde a frecuencias de protón de 60 a 1000 MHz (1 GHz). Antes de los años setenta, todos los espectrómetros de resonancia magnética nuclear de alta resolución eran de onda continua con imanes o electroimanes permanentes para producir el campo mag-

nético. Este tipo de instrumento ha sido ampliamente reemplazado por los espectrómetros de transformada de Fourier en los que el campo magnético lo proporcionan imanes superconductores. Las computadoras son una parte importante de estos instrumentos porque digitalizan y almacenan la señal, realizan la transformación de Fourier del decaimiento libre de la inducción para proporcionar la señal en el dominio de la frecuencia, y proporcionan muchos otros resultados a partir de datos y ejecutan funciones de control del instrumento. Una de las principales razones de por qué los instrumentos de transformada de Fourier se han popularizado tanto es porque permiten promediar la señal de manera eficaz, con lo que se obtiene una mayor sensibilidad (véase las secciones 5C.2 y 16B.1). Debido a esta gran sensibilidad se han generalizado las aplicaciones de rutina de la resonancia magnética nuclear al ^{13}C de origen natural, los protones a escala de microgramos y a otros núcleos como el flúor, el fósforo y el silicio.

Los espectrómetros de resonancia magnética nuclear de alta resolución son caros; su valor está entre 100 000 y un millón de dólares o más. Como casi todos ellos funcionan en la actualidad en el modo de pulsos o de transformada de Fourier, se limitará el estudio a los instrumentos de RMN de transformada de Fourier.



Clase interactiva: aprenda más acerca de los instrumentos para RMN.

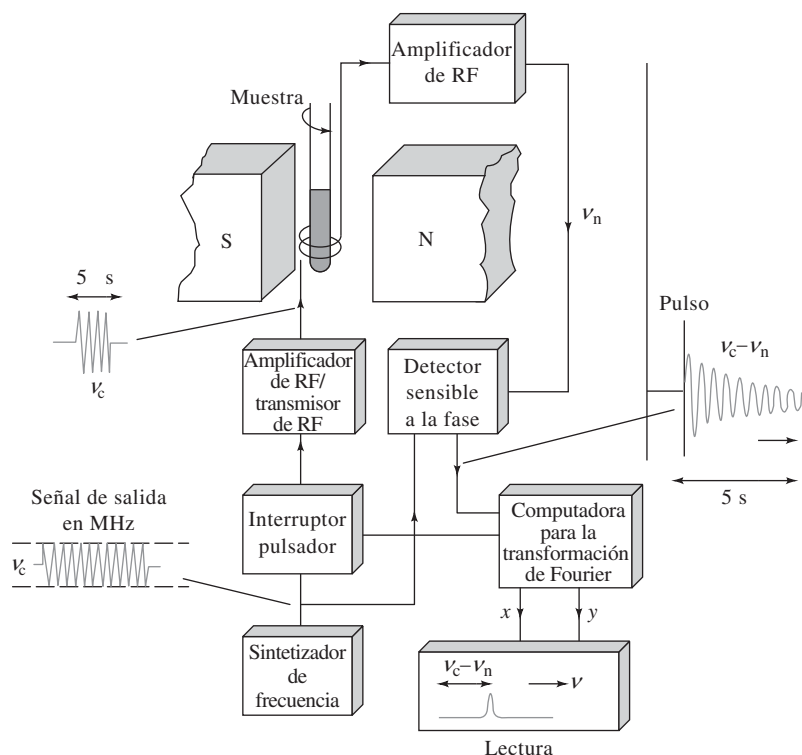


FIGURA 19.21 Diagrama de bloques de un espectrómetro de RMN con transformada de Fourier. (Adaptación de J. W. Akitt, *NMR and Chemistry*, 2a. ed., p. 14, Londres: Chapman & Hall, 1983. Con autorización.)

19C.1 Componentes de los espectrómetros de transformada de Fourier

La figura 19.21 es un diagrama de bloques simplificado que muestra los componentes de un espectrómetro característico de RMN con transformada de Fourier. El componente principal del instrumento es un imán de gran estabilidad en el que se coloca la muestra, la cual se rodea con una bobina transmisora/receptora.

La radiación de radiofrecuencia se produce mediante un sintetizador de frecuencia controlado con un cristal que tiene una frecuencia portadora de salida ν_c . Esta señal pasa por un interruptor pulsador y un amplificador de potencia, lo que origina un pulso de radiación de radiofrecuencia intenso y reproducible en la bobina transmisora. La radiación de RF resultante incide en la muestra, que está contenida en el interior de la bobina. El operador selecciona la duración, amplitud, forma y fase del pulso, y los introduce luego en la consola, donde los controla una computadora. En la figura 19.21 se muestra un impulso de $5 \mu\text{s}$ de duración. La señal de decaimiento libre de inducción que resulta es recogida por la misma bobina, que ahora sirve como receptor. La señal es amplificada y transmitida a un detector sensible a la fase. Los circuitos del detector determinan la diferencia entre las señales nucleares ν_n y la señal de salida del cristal oscilador ν_c , lo que origina la señal en el dominio del tiempo de baja frecuencia que se muestra en la parte derecha de la figura. Esta señal se digitaliza y se almacena en una compu-

tadora para analizarla mediante el programa de transformada de Fourier y otros programas de computadora. La señal de salida que se obtiene con este programa se grafica en un sistema de lectura, y así se obtiene un espectro en el dominio de la frecuencia.

19C.2 Imanes

El componente principal de los instrumentos de resonancia magnética nuclear es el imán. La sensibilidad y la resolución de los espectrómetros dependen en forma crítica de la intensidad y calidad de sus imanes (véase ejemplo 19.2 y figura 19.13). Puesto que tanto la sensibilidad como la resolución aumentan al incrementarse la intensidad del campo, resulta ventajoso operar a la mayor intensidad de campo posible. Además, el campo debe ser muy homogéneo y reproducible. Estos requisitos hacen del imán el componente más caro de un espectrómetro de resonancia magnética nuclear.

En los espectrómetros de resonancia magnética nuclear se utilizan tres tipos de imanes: imanes permanentes, electroimanes ordinarios y solenoides superconductores. En la actualidad, los electroimanes ordinarios rara vez se instalan a los instrumentos de resonancia magnética nuclear. Se usan imanes permanentes con intensidades de campo de 0.7, 1.4 y 2.1 T en instrumentos comerciales de onda continua; las frecuencias del oscilador correspondientes para estudios de protones son 30, 60 y 90 MHz. Los imanes permanentes son muy sensibles a la temperatura y, por

consiguiente, requieren un buen aislamiento y un termostato eficaz. Debido a los problemas de deriva del campo, los imanes permanentes no son los ideales para usarse durante periodos prolongados de obtención de datos, como los que a menudo se requieren en los experimentos con transformada de Fourier.

Los imanes superconductores se utilizan en los instrumentos de alta resolución más modernos. Dichos imanes producen campos de hasta 23 T, que corresponden a una frecuencia de protón de 1 GHz. Para que sea un superconductor, el solenoide —un arrollamiento de alambre de niobio y estaño o niobio y titanio superconductores—, se sumerge en helio líquido a la temperatura de 4 K. El matraz Dewar de helio líquido se mantiene dentro de otro vaso Dewar externo con nitrógeno líquido. La mayoría de los sistemas de imán superconductor se tiene que rellenar con nitrógeno líquido una vez a la semana y con helio líquido cada pocos meses. Las ventajas de los solenoides superconductores, además de sus elevadas intensidades de campo, son su gran estabilidad, su bajo costo de operación, su sencillez y su pequeño tamaño en comparación con un electroimán.

Las especificaciones de funcionamiento del imán de un espectrómetro son muy rigurosas. El campo generado tiene que ser homogéneo con variaciones de unas pocas partes por mil millones dentro de la zona de la muestra y estable en un grado similar durante el tiempo necesario para recoger los datos de la muestra. Por desgracia, la estabilidad inherente a la mayoría de los imanes es considerablemente menor que la que se precisa, y se observan variaciones que pueden llegar a ser de una parte en 10^7 en una hora. Para compensar tanto la deriva como la falta de homogeneidad del campo en los modernos instrumentos de resonancia magnética nuclear se efectúan varias mediciones.

Estabilización del campo magnético

A fin de compensar el efecto de las fluctuaciones del campo, se emplea un *sistema de estabilización de la frecuencia de campo* en los instrumentos comerciales de resonancia magnética nuclear. En estos sistemas se irradia continuamente un núcleo de referencia y se vigila su respuesta a una frecuencia que corresponde a su máximo de resonancia a la intensidad de campo nominal del imán. Los cambios en la intensidad de la señal de referencia controlan un circuito de retroalimentación cuya salida se alimenta hacia unas bobinas en la brecha magnética para corregir la deriva. Tenga en cuenta que para cierto tipo de núcleo, la relación entre la intensidad del campo y las frecuencias de resonancia es una constante *independientemente del núcleo involucrado* (ecuación 19.5). Por consiguiente, la corrección de la deriva para la señal de referencia es aplicable a las señales de todos los núcleos presentes en la

zona de la muestra. En los espectrómetros modernos, la señal de referencia la proporciona el deuterio del solvente y una segunda bobina transmisora sintonizada a la frecuencia del deuterio supervisa la referencia. La estabilidad de la mayoría de los imanes superconductores modernos es tan buena que se pueden obtener espectros sin necesidad de aplicar el sistema de estabilización durante periodos de 1 a 20 min.

Compensación

Las bobinas de compensación o ajuste son pares de lazos de alambre a través de los cuales pasan corrientes cuidadosamente controladas que producen pequeños campos magnéticos para compensar la heterogeneidad del campo magnético principal. En los instrumentos contemporáneos, los controles de compensación o ajuste están gobernados por una computadora, mediante diversos algoritmos que permiten mejorar la homogeneidad del campo. Por lo general, la compensación se tiene que efectuar cada vez que se introduce una nueva muestra en el espectrómetro. Las bobinas de compensación no se muestran en el diagrama simplificado de la figura 19.21.

Rotación de la muestra

Los efectos de la heterogeneidad del campo también se pueden contrarrestar haciendo girar la muestra en torno a su eje longitudinal. La rotación se consigue mediante una pequeña turbina de plástico que se ajusta sobre el tubo de la muestra. Una corriente de aire mueve la turbina a una velocidad de 20 a 50 revoluciones por segundo. Si esta frecuencia es mucho mayor que la dispersión de frecuencias causada por las heterogeneidades magnéticas, los núcleos experimentan un ambiente promediado que hace que las dispersiones aparentes de frecuencia tiendan a cero. Una pequeña desventaja de la rotación es que el campo magnético se modula a la frecuencia de rotación, lo que puede ocasionar *bandas laterales*, o *bandas laterales giratorias*, a cada lado de los picos de absorción.

19C.3 Sonda de la muestra

Un componente clave de los espectrómetros de resonancia magnética nuclear es la sonda de la muestra, la cual tiene múltiples funciones. Mantiene la muestra en una posición fija dentro del campo magnético, contiene una turbina de aire para rotar la muestra y aloja la bobina o bobinas que permiten la excitación y la detección de la señal de resonancia magnética nuclear. Además, la sonda contiene de ordinario otras dos bobinas transmisoras, una para estabilización y la otra para los experimentos de desacoplamiento que se tratan en la sección 19E.1. Por último, la mayoría de las sondas puede trabajar a temperatura variable. Las celdas para las muestras típicas en la resonancia magnética nuclear consisten en un tubo de vidrio de 5 mm de

diámetro exterior y de una capacidad de 500 a 650 μL de líquido. También hay microtubos para volúmenes de muestra más pequeños y tubos mayores para aplicaciones especiales.

Bobinas de transmisión y recepción

Las sondas ajustables de los modernos espectrómetros de resonancia magnética nuclear están equipadas con bobinas de transmisión y recepción. Las bobinas de recepción están dispuestas de acuerdo con el objetivo del experimento. Por lo que se refiere a la observación de protones, la sonda cuenta casi siempre con una bobina interna para detectar ^1H y una bobina exterior, llamada bobina de núcleo X, para detectar núcleos, como ^{13}C y ^{15}N . Por lo regular, la bobina interna es la más cercana a la muestra para maximizar la sensibilidad. Por lo que toca a experimentos para detectar sólo núcleos, se instala una bobina de núcleo X en el interior y una bobina ^1H en el exterior. En general, los espectros de protones tienen buena relación señal-ruido, por lo que no es determinante sintonizar la sonda. Cuando la bobina del núcleo X es la de observación principal, la sintonización es muy importante.

El generador de pulsos. Los generadores de radiofrecuencia y los sintetizadores de frecuencia producen una señal que consta en esencia de una sola frecuencia. Sin embargo, para obtener los espectros de transformada de Fourier, la muestra se tiene que irradiar con un intervalo de frecuencias suficientemente grande para excitar a los núcleos con diferentes frecuencias de resonancia. Por fortuna, un impulso de radiación suficientemente corto, tal como el que se muestra en la figura 19.5, proporciona una banda relativamente ancha de frecuencias centradas alrededor de la frecuencia del oscilador. El intervalo de frecuencias de esta banda es de alrededor de $1/(4\tau)$ Hz, donde τ es la duración en segundos de cada pulso. Entonces, un pulso de 1 μs procedente de un oscilador de 100 MHz produce un intervalo de frecuencia de $100\text{ MHz} \pm 125\text{ kHz}$. Esta producción de una banda de frecuencias a partir de un pulso estrecho puede entenderse si se observa la figura 6.6, en la que se muestra que una onda de forma rectangular se sintetiza a partir de ondas seno y coseno que difieren entre sí por pequeños incrementos de frecuencia. En cambio, el análisis de Fourier de una onda de forma cuadrada revela que ésta consta de un amplio intervalo de componentes de frecuencia. Cuanto más estrecha es la onda cuadrada, tanto más amplio es el intervalo de sus componentes de frecuencia. Por tanto, un impulso estrecho generado por conectar y desconectar con rapidez un oscilador de radiofrecuencia consta de una banda de frecuencias capaz de excitar todos los núcleos de interés cuya resonancia se produce en las cercanías de la frecuencia del oscilador.

Como se indica en la figura 19.21, un generador de pulsos característico está formado por tres partes: un sintetizador de frecuencia, una compuerta cuya función es iniciar y finalizar el pulso en un tiempo adecuado y un amplificador de potencia que amplifica el pulso hasta unos 50 o 100 W.

El sistema receptor. Los voltajes que genera la corriente en la bobina del detector están en la escala de nanovolts a microvolts y, por tanto, se tienen que amplificar a valores de casi 0 a 10 V antes de que la señal pueda procesarse y digitalizarse. Por lo general, la primera etapa de amplificación tiene lugar en un preamplificador, el cual se instala en la sonda de tal modo que esté tan próximo a la bobina receptora como sea posible para minimizar el efecto del ruido procedente de otras partes del instrumento. Luego se amplifica de nuevo en un amplificador de RF externo como se indica en la figura 19.21.

19C.4 El detector y el sistema de proceso de los datos

En el sistema detector que se muestra en la figura 19.21, la señal de radio de alta frecuencia se convierte primero en una señal de audiofrecuencia, que es mucho más fácil de digitalizar. Es posible imaginar que la señal proveniente del amplificador de radiofrecuencia está constituida por dos componentes: *una señal portadora*, que tiene la frecuencia del oscilador utilizado para producirla, y una señal sobrepuesta de resonancia magnética nuclear proveniente del analito. La señal del analito difiere en frecuencia respecto a la portadora por unas pocas partes por millón. Por ejemplo, los desplazamientos químicos en un espectro de protones abarcan casi siempre unas 10 ppm. Entonces, los datos de resonancia magnética nuclear de protón generados por un espectrómetro de 500 MHz estarían en el intervalo de frecuencias de 500 000 000 a 500 005 000 Hz. Resulta impráctico digitalizar tales señales de frecuencia tan elevada y extraer de las señales digitalizadas las pequeñas diferencias atribuibles a la muestra; por tanto, la frecuencia portadora ν_c se resta electrónicamente de la señal de frecuencia del analito ν_n en el dominio analógico. En el ejemplo, este proceso produce una señal de diferencia ($\nu_n - \nu_c$) que se encuentra dentro del intervalo de audiofrecuencias de 0 a 5000 Hz. Este proceso es idéntico a la separación de las señales de audio de la señal del portador de radiofrecuencia en las radios domésticas.

Muestreo de la señal de audio

La señal de audio sinusoidal, que se obtiene después de restar la frecuencia de la portadora, se digitaliza mediante el muestreo de la señal de voltaje y convirtiendo periódicamente este voltaje en una forma digital con un convertidor analógico digital. Para poder representar digitalmente y con exactitud una onda seno o cose-

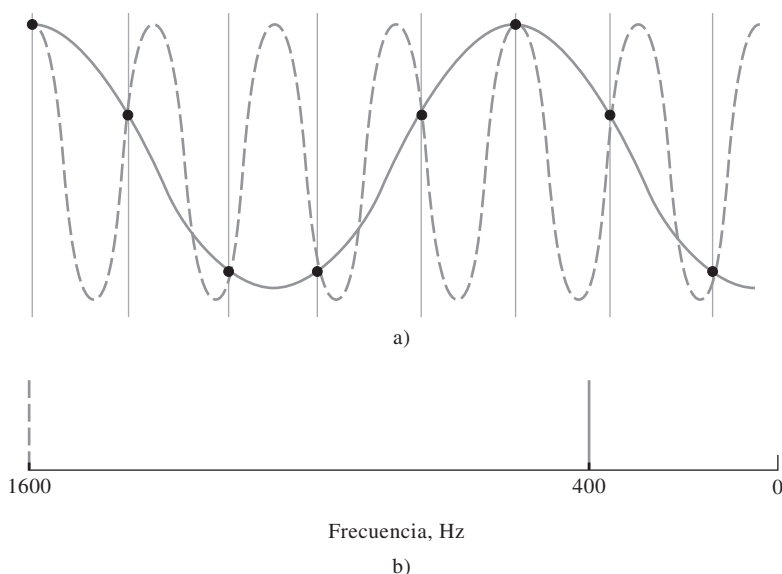


FIGURA 19.22 Plegamiento de una línea espectral producido por el muestreo a una frecuencia menor que la frecuencia de Nyquist de 1600 Hz. Las muestras se toman con una frecuencia de 2000 por segundo, tal como lo indican los puntos; la línea continua es la onda coseno que tiene una frecuencia de 400 Hz. b) Espectro en el dominio de la frecuencia de la señal con guiones en a) que ilustra la línea plegada a 400 Hz. (Adaptación de D. Shaw, *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, 2a. ed., p. 159, Nueva York: Elsevier, 1987. Con autorización de Elsevier Science Publishers.)

no es necesario, de acuerdo con el *teorema de Nyquist del muestreo* (véase sección 5C.2), muestrear la señal al menos dos veces durante cada ciclo. Si el muestreo se hace con una frecuencia menor, tiene lugar el *plegado* o *error por submuestreo* de la señal. El efecto de este error por submuestreo se ilustra en la figura 19.22a, en la que se muestra mediante una curva de color una señal coseno de 1600 Hz, que se muestrea a una tasa de 2000 datos por segundo. Los puntos negros representan los momentos en los que la computadora toma la muestra y digitaliza los datos. Esta velocidad de muestreo es menor que la frecuencia de Nyquist, que es de $2 \times 1600 \text{ Hz} = 3200 \text{ Hz}$. El efecto de esa inadecuada velocidad de muestreo se indica con la línea continua de la figura 19.22a, que es una onda coseno con una frecuencia de 400 Hz. Por consiguiente, tal como se puede ver en la figura 19.22b, no existe la línea a 1600 Hz y aparece una línea plegada a 400 Hz en el espectro del dominio de la frecuencia.

En los espectrómetros de resonancia magnética nuclear modernos se utilizan detectores sensibles a la cuadratura de fase que facilitan la determinación de diferencias positivas y negativas entre la frecuencia de la portadora y las frecuencias de resonancia magnética nuclear. Como estos detectores son capaces de reconocer el signo de la diferencia de frecuencias, se evita el error por submuestreo.

Integración de la señal

Las áreas de las señales de resonancia magnética nuclear del protón son casi siempre directamente proporcionales a la cantidad de protones presentes. Por tanto, los espectrómetros de resonancia magnética nuclear modernos proporcionan aparte de la señal de resonancia magnética nuclear, excepto para los espec-

tros de ^1H la integral de la señal. En el caso de los espectros del ^{13}C , por lo general las señales *no son* proporcionales a la cantidad de núcleos presentes. Por lo regular, los datos integrales aparecen como funciones escalón superpuestas en el espectro de resonancia magnética nuclear, como se puede ver en la figura 19.23. Los datos de las áreas suelen ser reproducibles con un error relativo de unas pocas unidades por ciento.

19C.5 Manipulación de la muestra

Hasta hace poco, los estudios de resonancia magnética nuclear de alta resolución se habían restringido a las muestras que se podían convertir en un estado líquido no viscoso. Se utilizan soluciones de la muestra de 2 a 15%, aunque las muestras de líquidos puros se pueden también examinar si sus viscosidades son suficientemente bajas.

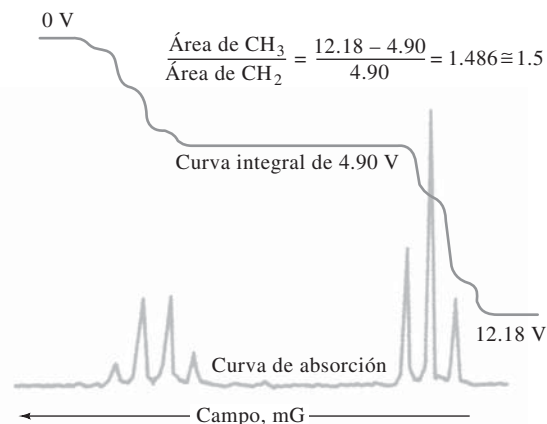


FIGURA 19.23 Curva de absorción y curva integral para una solución diluida de etilbenceno (región alifática). (Cortesía de Varian Inc., Palo Alto, CA.)

Los solventes no deben tener resonancias propias en la región espectral de interés. Por lo regular, los solventes para la resonancia magnética nuclear se deuteran para proporcionar la señal estabilizada de la frecuencia de campo (véase sección 19C.2). El solvente más común para compuestos orgánicos es el cloroformo deuterado (CDCl_3). Con frecuencia, los compuestos polares no se disuelven lo suficiente en CDCl_3 para obtener buenos espectros. A menudo se utilizan para estos tipos de compuestos, CD_3OD , acetona- d_6 , y $\text{DMSO}-d_6$. En el caso de compuestos altamente polares y iónicos, se usa, D_2O junto con un método que elimina el agua para anular la señal intensa del solvente HOD.

Se requieren tubos de alta calidad para resonancia magnética nuclear en los espectrómetros modernos de gran campo. Si los tubos ya han sido utilizados, entonces es necesario limpiarlos con todo cuidado y secarlos por completo antes de usarlos. En el comercio especializado se encuentra limpiadores para los tubos de las muestras. Las soluciones limpiadoras, como el ácido crómico y el ácido sulfúrico, nunca se deben utilizar porque los iones paramagnéticos del cromo tienen la aptitud de adsorberse en las paredes y ensanchar los espectros de resonancia magnética nuclear con protones.

En la actualidad ya es posible registrar de manera rutinaria espectros de alta resolución de muestras sólidas. Se han perfeccionado técnicas y se les aplica cada vez más para obtener espectros de ^{13}C de polímeros, combustibles fósiles y otras sustancias de elevado peso molecular. En la sección 19E hay un breve análisis de las modificaciones que se necesitan para producir espectros de RMN útiles de sólidos.

19D APLICACIONES DE LA RMN DE PROTONES

La aplicación más importante de la espectroscopía de RMN de protones o protónica es la identificación y el esclarecimiento de la estructura de moléculas orgánicas, organometálicas y bioquímicas. No obstante, este método constituye muchas veces un procedimiento útil para la determinación cuantitativa de especies absorbentes.

19D.1 Identificación de compuestos

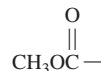
Un espectro de RMN, al igual que un espectro de infrarrojo, pocas veces es suficiente para identificar un compuesto orgánico. Pero si se utiliza junto con los espectros de masa, infrarrojo y ultravioleta, así como el análisis elemental, la resonancia magnética nuclear es una herramienta poderosa e indispensable para la identificación de compuestos puros. Los ejemplos que siguen dan una idea de la clase de información que se puede obtener con los espectros de resonancia magnética nuclear.

EJEMPLO 19.4

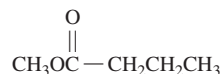
El espectro de resonancia magnética nuclear que se observa en la figura 19.24 es de un compuesto orgánico cuya fórmula empírica es $\text{C}_3\text{H}_{10}\text{O}_2$. Identifique dicho compuesto.

Solución

El espectro sugiere la presencia de cuatro tipos de protones. A partir de la integración de los picos y de la fórmula empírica se deduce que la población de los protones en esos cuatro tipos es de 3, 2, 2 y 3 protones, respectivamente. El pico aislado en $\delta = 3.6$ se debe a un grupo metilo aislado. Al inspeccionar la figura 19.17 y la tabla 19.3 se puede ver que el pico podría proceder del grupo funcional



La fórmula empírica y la distribución 2:2:3 de los protones restantes indican la presencia de un grupo *n*-propilo. La estructura



es consistente con todas estas observaciones. Además, las posiciones y los tipos de desdoblamiento de los tres picos restantes son del todo compatibles con esta hipótesis. El triple en $\delta = 0.9$ es característico de un grupo metilo adyacente a un metileno. De acuerdo con la tabla 19.3, los dos protones del metileno adyacente al pico del carboxilato deben dar el pico triple que se observa alrededor de $\delta = 2.2$. Se esperaría que el otro grupo metileno produjera un patrón de $3 \times 4 = 12$ picos en alrededor de $\delta = 1.7$. Sólo se observan seis, tal vez porque la resolución del instrumento es insuficiente para producir la estructura fina de la banda.

EJEMPLO 19.5

Los espectros de resonancia magnética nuclear de la figura 19.25 corresponden a dos compuestos líquidos isómeros incoloros que contienen sólo carbono e hidrógeno. Identifíquelos.

Solución

El pico único en $\delta = 7.2$ en la figura superior hace pensar en una estructura aromática; el área relativa de este pico corresponde a cinco protones. Esta información apunta a que se puede tener un derivado monosustituido del benceno. Los siete picos del único protón que aparece en $\delta = 2.9$ y el doble de seis protones en $\delta = 1.2$ sólo pueden explicarse mediante la estructura

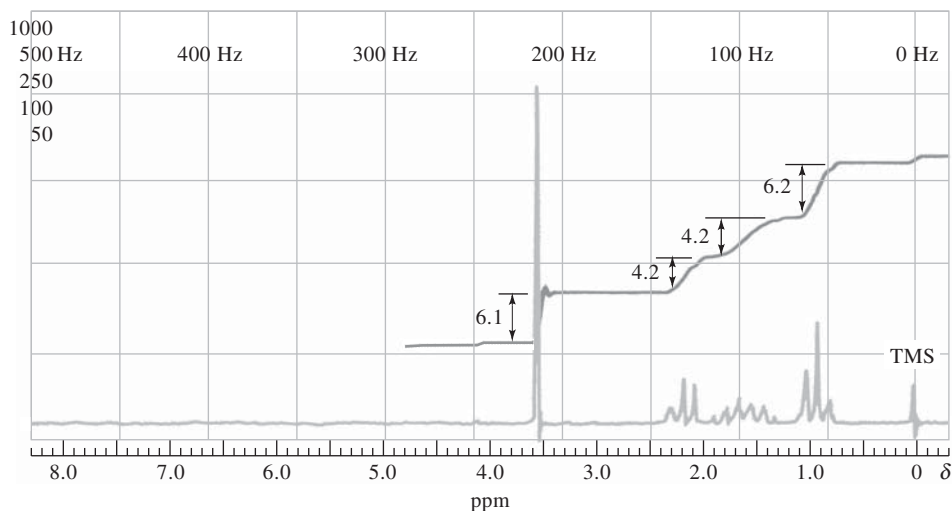


FIGURA 19.24 Espectro de RMN y curva de integración de los picos para el compuesto orgánico $C_5H_{10}O_2$ en CCl_4 . (Tomado de R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 3a. ed., p. 296, Nueva York: Wiley, 1974. Con autorización.)

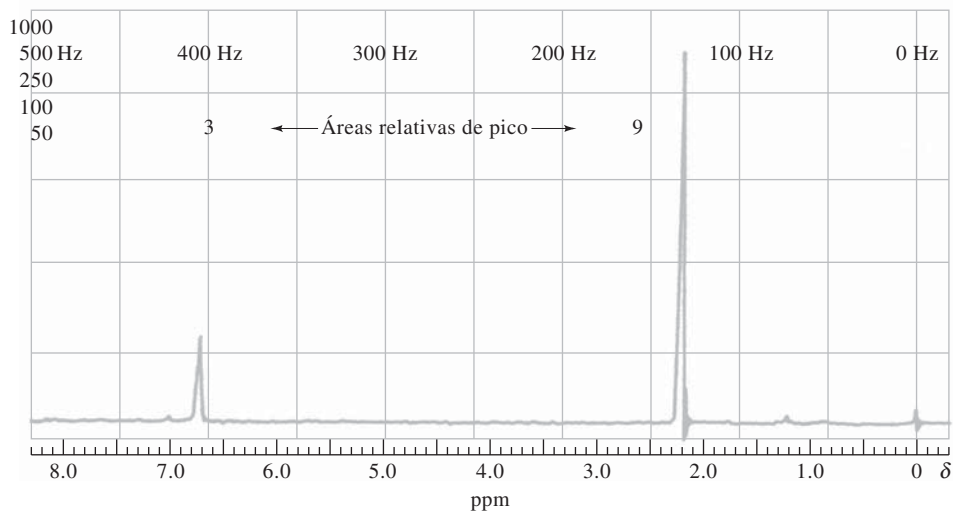
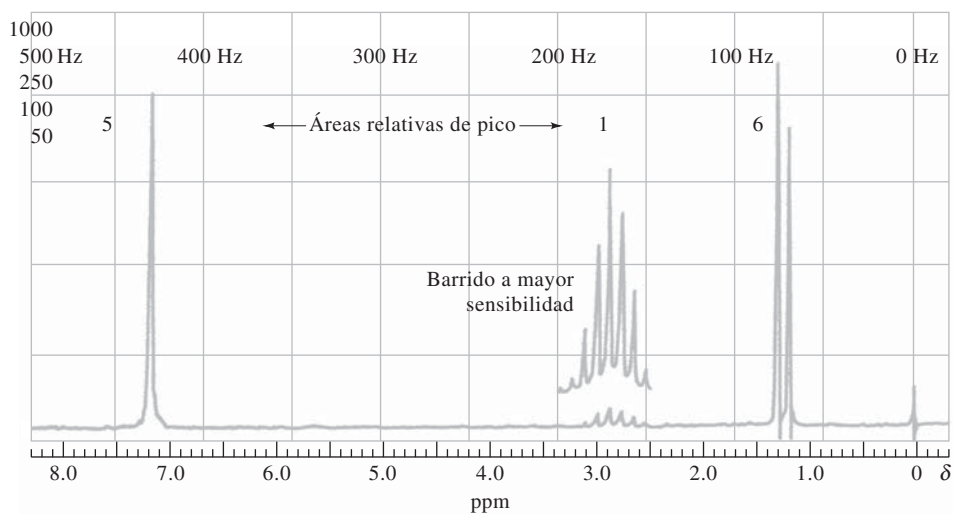
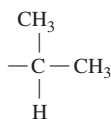
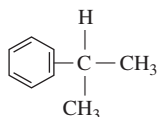


FIGURA 19.25 Espectros de RMN de dos isómeros orgánicos en $CDCl_3$. (Cortesía de Varian Inc., Palo Alto, CA.)



Por tanto se deduce que este compuesto es el cumeno.



El isómero tiene un pico aromático en $\delta = 6.8$; su área relativa hace pensar en un benceno trisustituido, lo cual sólo puede significar que el compuesto es $\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)_3$. Las áreas relativas de los picos confirman esta conclusión.

EJEMPLO 19.6

El espectro de protones que se ilustra en la figura 19.26 es de un compuesto orgánico de masa molecular 72 y que contiene sólo carbono, hidrógeno y oxígeno. Identifíquelo.

El pico triple en $\delta \approx 9.8$ parece ser el de un aldehído alifático, RCHO (véase la figura 19.17). Si esta hipótesis es cierta, R tiene una masa molecular de 43, que corresponde a un fragmento de C_3H_7 . El triple en $\delta \approx 9.8$ quiere decir que hay un grupo metileno adyacente al carbonilo. Por tanto, el compuesto sería el *n*-butiraldehído, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$.



Simulación: aprenda más acerca de la interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear.

El pico triple en $\delta = 0.97$ parece ser el del metilo terminal. Sería de esperar que los protones del metileno adyacente mostraran un patrón de desdoblamiento complicado de $4 \times 3 = 12$ picos, y la agrupación de picos en torno a $\delta = 1.7$ es compatible con esta predicción.

Por último, el pico de los protones del grupo metileno adyacente al carbonilo debería aparecer como un sexteto en un campo más bajo que las otras resonancias de los protones de metileno. El grupo en $\delta = 2.4$ es consistente con esta predicción.

19D.2 Aplicaciones de la resonancia magnética nuclear en el análisis cuantitativo

Un aspecto único de los espectros de RMN es la proporcionalidad directa entre las áreas de los picos y el número de núcleos causantes del surgimiento del pico. Entonces, la determinación cuantitativa de un compuesto específico no requiere muestras puras del compuesto para la calibración. Por consiguiente, si una resonancia identificable de uno de los constituyentes de una muestra no se traslapa con las resonancias de los otros componentes, se usa el área de este pico para establecer directamente la concentración de la especie, siempre que se conozca sólo el área de la señal por protón. Este último parámetro se obtiene con facilidad a partir de la concentración conocida de un patrón interno. Por ejemplo, si el solvente presente en una cantidad conocida fuera benceno, ciclohexano o agua, las áreas de pico de los protones aislados de estos compuestos se podrían usar para obtener la información deseada. Por supuesto, la resonancia del patrón interno no debe traslaparse con ninguna de las resonancias de la muestra. Los derivados orgánicos de

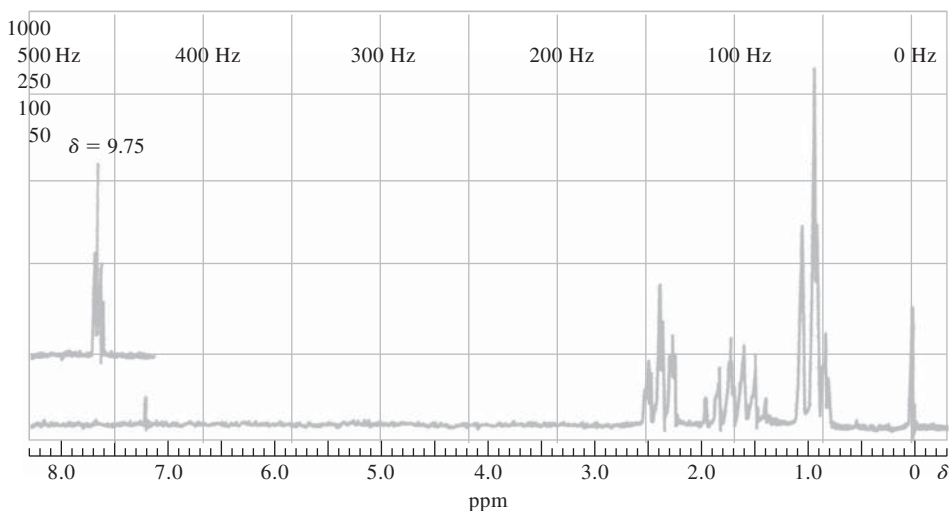


FIGURA 19.26 El espectro de resonancia magnética nuclear de un compuesto orgánico puro que contiene sólo C, H y O.

silicio resultan especialmente adecuados para la calibración, debido a que sus resonancias de protones se localizan en campos muy altos.

Se han perfeccionado métodos para el análisis de muchas mezclas de varios componentes. Por ejemplo, se han detectado aspirina, fenacetina y cafeína en preparaciones analgésicas comerciales. Benceno, heptano, etileno, glicol y agua se han detectado en una gran diversidad de mezclas.

Una de las aplicaciones más útiles de la resonancia magnética nuclear ha sido la determinación de grupos funcionales, como los grupos hidroxilo en alcoholes y fenoles, aldehídos, ácidos carboxílicos, olefinas, hidrógenos acetilénicos, aminas y amidas.¹⁴ Los errores relativos determinados fueron del orden de 1 a 5%.

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear también se usa para el análisis de elementos. Por ejemplo, es posible efectuar determinaciones cuantitativas exactas del hidrógeno total en mezclas orgánicas. De igual manera, la resonancia del flúor 19 se puede usar para el análisis cuantitativo de dicho elemento en compuestos orgánicos; este análisis es difícil de efectuar mediante los métodos clásicos. En el caso del trabajo cuantitativo se podría usar un espectrómetro de baja resolución o de línea ancha.

A pesar de los ejemplos precedentes, el costo de los instrumentos detiene la expansión del uso de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear para el análisis cuantitativo. Además, la probabilidad de que las resonancias se traslapen se incrementa al aumentar la complejidad de la muestra. Además, la resonancia magnética nuclear no es a menudo tan sensible ni tan conveniente como otras técnicas.

19E RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DEL CARBONO 13

La resonancia magnética nuclear de carbono 13 se estudió por primera vez en 1957, pero apenas se empezó a utilizar ampliamente a principios de los años setenta. La razón de este retraso fue el tiempo que se necesitó para crear instrumentos sensibles que permitieran la detección de las débiles señales de resonancia magnética nuclear del núcleo del ^{13}C . La baja intensidad de la señal se relaciona directamente con la poca abundancia natural del isótopo (1.1%) y su pequeña relación giromagnética, que es alrededor de la cuarta parte de la del protón. Estos factores se combinan para hacer de la resonancia magnética nuclear del ^{13}C unas 6000 veces menos sensible que la resonancia magnética nuclear protónica.

Entre los adelantos más importantes en la intensificación de la señal de resonancia magnética nuclear que produjeron un enorme crecimiento de la espectroscopia de resonancia magnética del ^{13}C están los imanes de alta intensidad de campo y los instrumentos de transformada de Fourier. Sin estos logros la RMN de ^{13}C se restringiría al estudio de sólidos muy solubles de baja masa molecular, líquidos puros y compuestos enriquecidos isotópicamente.¹⁵

Respecto a la aptitud para revelar estructuras orgánicas y bioquímicas, la RMN de ^{13}C tiene varias ventajas sobre la RMN protónica. En primer lugar, proporciona información acerca del esqueleto de las moléculas y no de su periferia. Además, el intervalo de desplazamiento químico para el ^{13}C en la mayor parte de los compuestos orgánicos es de alrededor de 200 ppm, comparado con las 10 a 15 ppm para la RMN protónica. Por consiguiente, hay menos traslape de picos en los espectros de ^{13}C que en los espectros de protones. Por ejemplo, con frecuencia es posible observar los picos de resonancia individuales de cada átomo de carbono en compuestos cuyos pesos moleculares oscilan entre 200 y 400. Además, no se observa el acoplamiento *homonuclear* espín-espín entre átomos de carbono porque es pequeña la probabilidad de que dos átomos de ^{13}C estén adyacentes en muestras con abundancia natural. Asimismo, no ocurre el acoplamiento *heteronuclear* de espín entre ^{13}C y ^{12}C , debido a que el número cuántico de espín de este último es cero. Por último, se pueden aplicar excelentes métodos para desacoplar la interacción entre los átomos de ^{13}C y los protones; así, el espectro para un tipo particular de carbono presenta una sola línea.

19E.1 Desacoplamiento del protón

Se utilizan tres tipos principales de experimentos para el desacoplamiento del protón en RMN de ^{13}C a saber, el *desacoplamiento de banda ancha*; el *desacoplamiento sin resonancia* y el *desacoplamiento de pulsos o de compuerta*.

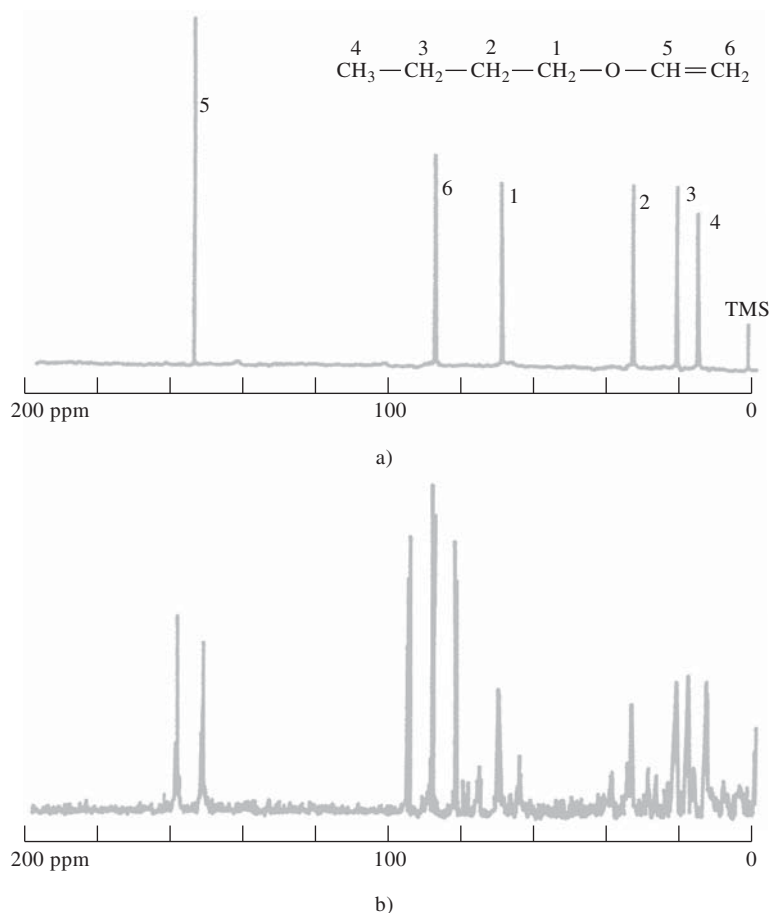
Desacoplamiento de banda ancha

Es un tipo de desacoplamiento heteronuclear en el que se evita que los núcleos de ^1H causen el desdoblamiento espín-espín de las líneas de ^{13}C al irradiar la muestra con una señal de radiofrecuencia de banda ancha que

¹⁴Véase R. H. Cox y D. E. Leyden en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., P. J. Elving, M. M. Bursey e I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 10, pp. 127-136, Nueva York: Wiley, 1983.

¹⁵Para mayor información véase K. Pihlaja y E. Kleinpeter, *Carbon-13 NMR Chemical Shifts in Structural and Stereochemical Analysis*, Nueva York: Wiley-VCH, 1994; N. Beckmann, *Carbon-13 NMR Spectroscopy of Biological Systems*, Nueva York: Academic Press, 1995; E. Breitmaier y W. Voelter, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 3a. ed., Nueva York: VCH, 1987.

FIGURA 19.27 Espectros de RMN de ^{13}C para el *n*-butilvinileter obtenidos a 25.2 MHz: a) espectro desacoplado del protón; b) espectro en el que se ilustra el acoplamiento entre el átomo de ^{13}C y los protones unidos al mismo. (Tomado con autorización de R. J. Abraham y P. Loftus, *Proton and Carbon-13 NMR Spectroscopy*, p. 103, Filadelfia: Heyden, 1978).



abarca la región espectral completa del protón, en tanto que el espectro de ^{13}C se obtiene de la forma usual. Por lo general, la señal del protón es producida por una segunda bobina instalada en la sonda de la muestra. En la figura 19.27 se observa el efecto del desacoplamiento de banda ancha.

Desacoplamiento sin resonancia

Aunque la mayoría de los espectros de ^{13}C se simplifican considerablemente mediante el desacoplamiento de banda ancha, este procedimiento elimina también la información del desdoblamiento espín-espín que podría tener importancia en las asignaciones estructurales. En el pasado esta limitación se corregía con el desacoplamiento sin resonancia.

En esta técnica, la frecuencia de desacoplamiento se ajusta a unos 1000 o 2000 Hz por arriba de la región espectral del protón, lo que origina un espectro parcialmente desacoplado en el que están ausentes todos los desplazamientos espín-espín, excepto los más

grandes. En estas circunstancias, los núcleos de los carbonos principales (con tres protones) originan un cuádruple de picos, los carbonos secundarios dan triples, los núcleos de carbono terciarios se presentan como dobles y los carbonos cuaternarios muestran una sola línea. En la figura 19.28 se ilustra la utilidad de esta técnica para identificar el origen de las resonancias en un espectro de ^{13}C .

Desacoplamiento de pulsos

Los espectrómetros modernos de RMN proporcionan información del desacoplamiento mediante la aplicación de complejos esquemas de pulsos que mejoran la relación señal-ruido de forma más rápida que el desacoplamiento sin resonancia. Estas técnicas no se tratan en este capítulo.¹⁶

¹⁶ Véase J. K. M. Sanders y B. K. Hunter, *Modern NMR Spectroscopy: A Guide for Chemists*, 2a. ed., Nueva York: Oxford, 1993.

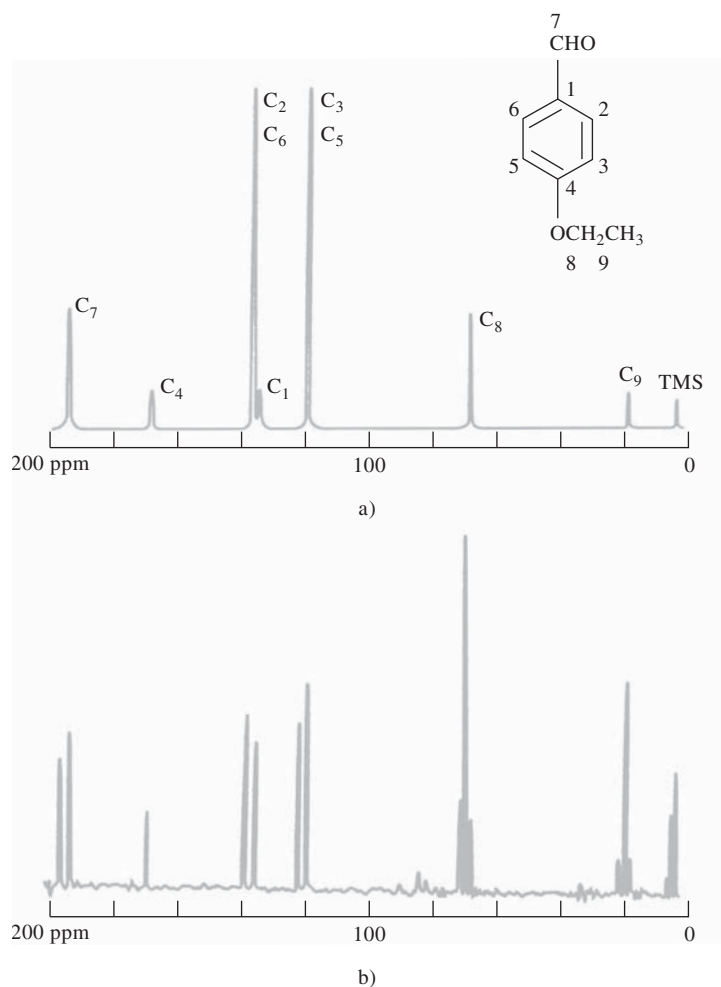


FIGURA 19.28 Comparación del desacoplamiento de a) banda ancha y b) sin resonancia en los espectros de ^{13}C del *p*-etoxibenzaldehído. (Tomado con autorización de R. J. Abraham, J. Fisher y P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, p. 106, Nueva York: Wiley, 1988.)

Efecto nuclear de Overhauser

En las condiciones del desacoplamiento de banda ancha, se encuentra que las áreas de los picos de ^{13}C aumentan en un factor que es bastante mayor que el que cabría esperar debido al colapso de las estructuras múltiples, lo cual origina líneas sencillas. Este fenómeno es una manifestación del *efecto nuclear de Overhauser* (ENO), que es un efecto general que se observa en los procesos de desacoplamiento. Este efecto proviene del acoplamiento magnético directo entre un protón desacoplado y un núcleo de ^{13}C vecino, lo que produce un aumento en la población del estado de menor energía del núcleo de ^{13}C por arriba de lo que predice la ecuación de Boltzmann. Como resultado, la señal del ^{13}C se intensifica hasta tres veces. Aunque el efecto ENO sí aumenta la sensibilidad de las medidas de ^{13}C tiene la desventaja de que se podría perder la proporcionalidad entre las áreas de pico y el número de núcleos. La teoría del efecto nuclear de

Overhauser, que se basa en las interacciones dipolo-dipolo, está fuera del alcance de este texto.¹⁷

19E.2 Aplicación de la RMN de ^{13}C para determinar estructuras

Como en el caso de la RMN de protones, las aplicaciones más importantes y más difundidas de la RMN de ^{13}C son la determinación de la estructura de especies orgánicas y bioquímicas. Estas determinaciones se basan en gran medida en los desplazamientos químicos, en los cuales los datos de espín-espín desempeñan un papel menor que en la RMN de protones. En la figura 19.29 se muestran algunos de los desplazamientos químicos que se observan para el ^{13}C en distintos ambientes químicos. Como sucede en los espectros de protones, estos desplazamientos se relacionan con el

¹⁷ Véase D. Neuhaus y M. P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, 2a. ed., Nueva York: Wiley-VCH, 2000; D. Shaw, *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, 2a. ed., p. 233, Nueva York: Elsevier, 1984.

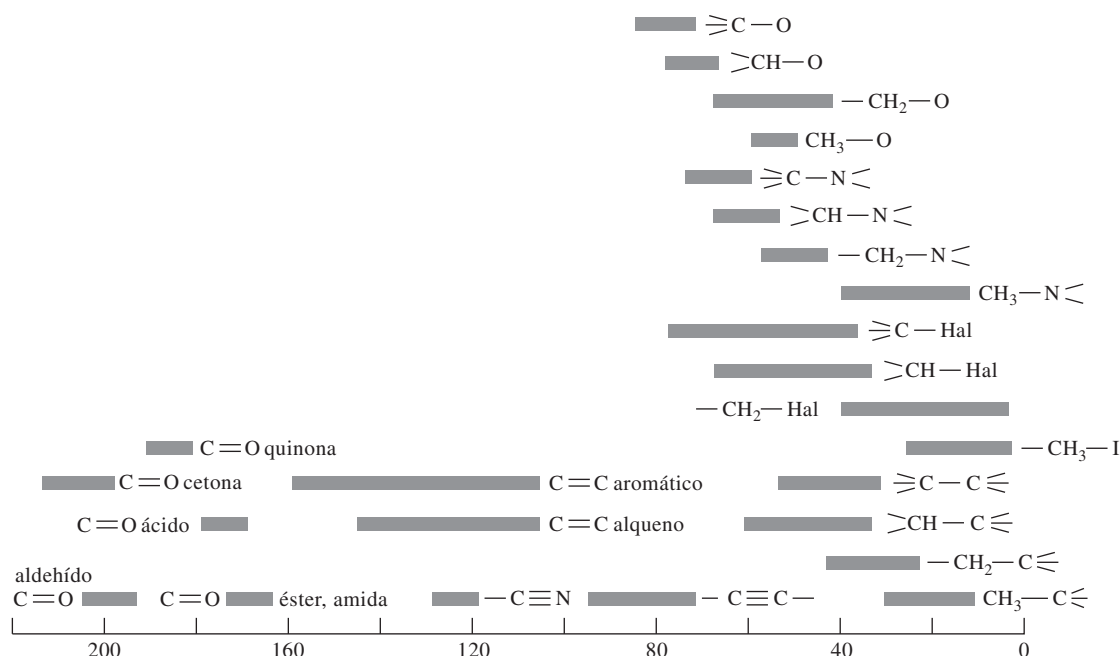


FIGURA 19.29 Desplazamientos químicos para el ^{13}C . (Tomado de D. E. Leyden y R. H. Cox, *Analytical Applications of NMR*, p. 196, Nueva York: Wiley, 1977. Reproducido con autorización.)

tetrametilsilano, con valores de δ comprendidos entre 0 y 200 ppm. En general, los efectos del entorno son análogos a los que se dan con los protones, los cuales se han descrito en la sección 19B.2. Sin embargo, en contraste con los espectros de protones, el efecto de los sustituyentes en los desplazamientos de ^{13}C no se limita a los átomos vecinos. Por ejemplo, la sustitución de un cloro en el carbono C1 del *n*-pentano origina un desplazamiento químico para este carbono de 31 ppm. Cuando la sustitución del cloro es en el carbono C2, el desplazamiento para el C1 es de 10 ppm; de manera análoga, sustituciones en los carbonos C3, C4 y C5 originan desplazamientos de -5.3 , -0.5 y -0.1 ppm, respectivamente.

Aplicaciones de la resonancia magnética nuclear de ^{13}C a muestras sólidas

Como se subrayó antes, los espectros de resonancia magnética nuclear en sólidos¹⁸ no fueron muy útiles en el pasado para estudios estructurales debido al ensanchamiento de la línea, lo cual elimina o enmascara la forma nítida característica de los picos individuales de la resonancia magnética nuclear. La mayor parte de este ensanchamiento es atribuible a dos causas: las interacciones dipolares estáticas entre ^{13}C y ^1H y a la anisotropía en los tensores de blindaje del ^{13}C . En los

líquidos isotrópicos, estos efectos se compensan debido al movimiento rápido y aleatorio de las moléculas. En los sólidos, las interacciones dipolares heteronucleares entre los núcleos magnéticos, como el ^{13}C y los protones, originan un desdoblamiento de línea dipolar característico, que depende del ángulo entre los enlaces $\text{C}-\text{H}$ y el campo externo. En un sólido amorfo, existe un gran número de orientaciones fijas de estos enlaces y, por tanto, puede tener lugar un gran número de desdoblamientos. En este caso, las bandas anchas de absorción están constituidas por numerosas líneas que provienen de estas interacciones dipolares individuales. Es posible eliminar el desdoblamiento dipolar de un espectro de ^{13}C al irradiar la muestra a frecuencias de protón mientras se obtiene el espectro. Este procedimiento se denomina *desacoplamiento dipolar*, y es similar al desacoplamiento de espín, que ya se describió para líquidos, excepto que se requiere un nivel de potencia mucho mayor en este caso.

Un segundo tipo de ensanchamiento de línea en los sólidos se produce a causa de una anisotropía del desplazamiento químico, que se estudió en la sección 19B.2. En este caso, el ensanchamiento se debe a los cambios en el desplazamiento químico con la orientación de la molécula o parte de ella respecto a un campo magnético externo. Desde el punto de vista teórico de la resonancia magnética nuclear, se sabe que el desplazamiento químico $\Delta\delta$ producido por la anisotropía magnética viene dado por la ecuación

¹⁸Véase M. J. Duer, *Solid-State NMR Spectroscopy*, Oxford: Blackwell Science, 2002; J. P. Smith, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 45A.

$$\Delta\delta = \Delta\chi(3\cos^2\theta - 1)/R^3 \quad (19.20)$$

donde θ es el ángulo entre el doble enlace y el campo aplicado, $\Delta\chi$ es la diferencia de susceptibilidades magnéticas entre la orientación paralela y la perpendicular del doble enlace y R es la distancia entre el grupo funcional anisótropo y el núcleo. Cuando θ es exactamente de 54.7° , $\Delta\delta$, tal como lo establece la ecuación 19.20, es cero. Experimentalmente, el ensanchamiento de línea debido a la anisotropía del desplazamiento químico se elimina por la *rotación con ángulo mágico*, que significa hacer girar con rapidez las muestras sólidas a una frecuencia superior a 2 kHz en un recipiente de muestras especial que está a un ángulo de 54.7° respecto al campo aplicado. En efecto, entonces el sólido se comporta como un líquido que gira en el campo.

Una limitación adicional de la resonancia magnética nuclear de ^{13}C con transformada de Fourier para sólidos es el gran tiempo de relajación espín-red para los núcleos de ^{13}C excitados. La velocidad con la que se puede mandar pulsos a la muestra depende de la velocidad de relajación. Es decir, tras cada pulso de excitación, debe transcurrir un tiempo suficiente para que los núcleos vuelvan al estado fundamental de equilibrio. Por desgracia, los tiempos de relajación espín-red para los núcleos de ^{13}C en los sólidos son a veces de varios minutos, lo que significa que se requerirían algunas horas o incluso días para obtener un buen espectro.

El problema originado por la lenta relajación espín-red se supera mediante la *polarización cruzada*, una técnica de pulsos complicada que hace que las frecuencias de Larmor de los núcleos de los protones y de los núcleos del ^{13}C sean idénticas, es decir, $\gamma_{\text{C}}B_{1\text{C}} = \gamma_{\text{H}}B_{1\text{H}}$. En estas condiciones, los campos magnéticos de los núcleos de los protones en precesión interaccionan con los campos de los núcleos del ^{13}C lo cual ocasiona la relajación de estos últimos.

En la actualidad hay instrumentos en el comercio que pueden efectuar el desacoplamiento dipolar, la rotación con ángulo mágico y la polarización cruzada, con lo que se facilita la obtención de espectros de ^{13}C de alta resolución para sólidos. En la figura 19.30, que muestra espectros para el adamantano cristalino obtenidos en diversas condiciones, se ilustran las posibilidades de estos instrumentos.

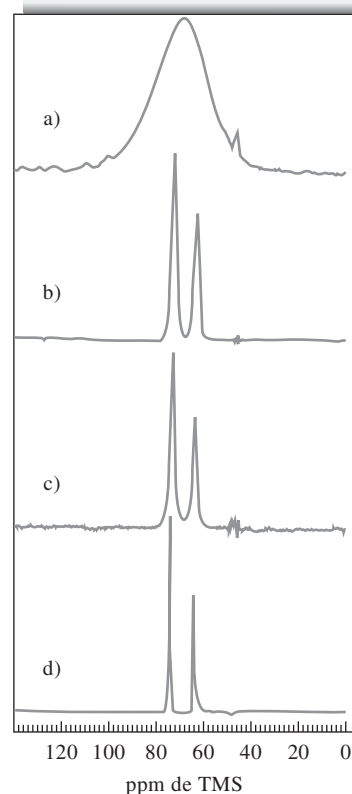
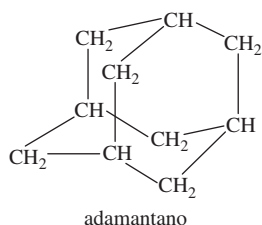


FIGURA 19.30 Espectros de ^{13}C del adamantano cristalino: a) sin rotación ni desacoplamiento de protón; b) sin rotación pero con desacoplamiento dipolar y polarización cruzada; c) con rotación con ángulo mágico pero sin desacoplamiento dipolar ni polarización cruzada; d) con rotación con ángulo mágico, desacoplamiento dipolar y polarización cruzada. (Tomado con autorización de F. A. Bovey, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2a. ed., p. 415, Nueva York: Academic Press, 1988. Con autorización.)

19F APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR A OTROS NÚCLEOS

Más de 200 isótopos poseen momentos magnéticos y, por tanto, en principio, pueden estudiarse por resonancia magnética nuclear. Entre los núcleos más frecuentemente estudiados se encuentran ^{31}P , ^{15}N , ^{19}F , ^2D , ^{11}B , ^{23}Na , ^{14}N , ^{29}Si , ^{109}Ag , ^{199}Hg , ^{113}Cd y ^{207}Pb . Los tres primeros tienen una importancia particular en la química orgánica, la bioquímica y la biología.

19F.1 Fósforo 31

El fósforo 31, con número de espín de $1/2$, presenta picos agudos de resonancia magnética nuclear con desplazamientos químicos que se extienden en un intervalo de 700 ppm. La frecuencia de resonancia del

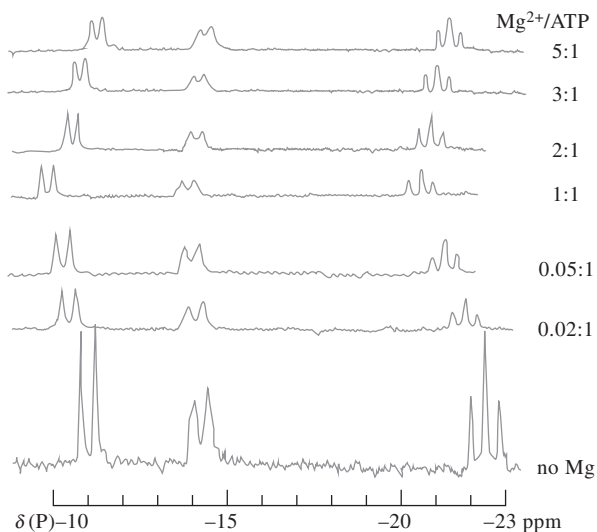
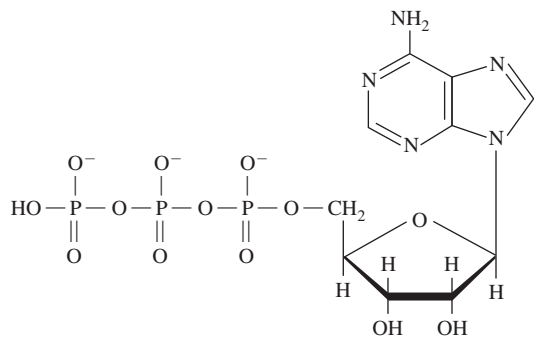


FIGURA 19.31 Espectros de resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier del fósforo 31 para una disolución de TPA que contiene iones de magnesio. Los cocientes de la parte derecha se refieren a moles de Mg^{2+} entre moles de TPA. (Tomado de J. W. Akitt, *NMR and Chemistry*, 2a. ed., p. 245, Londres: Chapman & Hall, 1983. Con autorización.)

núcleo del ^{31}P a 4.7 T es de 81.0 MHz. Numerosas investigaciones, en particular en el campo de la bioquímica, se basan en la resonancia del ^{31}P . En la figura 19.31 se muestra un ejemplo. La especie que se estudia es el trifosfato de adenosina (TPA), un anión triplemente cargado que desempeña un papel vital en el metabolismo de los carbohidratos y en el almacenamiento y liberación de energía en el cuerpo.



trifosfato de adenosina (TPA)

El espectro en la parte inferior, que corresponde al TPA en un entorno acuoso, está constituido por tres series de picos que corresponden a los tres átomos de fósforo. El triple sin duda proviene del átomo del fósforo central, el cual se acopla con los otros dos átomos de fósforo. El doble alrededor de 14 ppm muestra indicaciones no bien definidas del acoplamiento con protones, por lo cual es probable que provenga del fósforo adyacente al grupo metileno.

Se sabe que los iones magnesio son factores importantes en la actividad metabólica del TPA, y los seis espectros restantes de la figura 19.31 sugieren que tiene lugar la formación de un complejo entre el fósforo aniónico y el catión, lo que causa que los desplazamientos químicos del fósforo se desplacen a campos más bajos cuanto mayor es la concentración de ion magnesio.

19F.2 Flúor 19

El flúor 19 tiene un número cuántico de espín de 1/2 y una relación giromagnética cercana a la del 1H. Por tanto, la frecuencia de resonancia del flúor a 188 MHz resulta sólo ligeramente inferior a la del protón a 200 MHz cuando ambos se estudian en un campo de 4.69 T.

La absorción del flúor es también sensible al entorno, por esa razón los desplazamientos químicos resultantes se extienden en un intervalo de aproximadamente 300 ppm. Además, el solvente desempeña un papel mucho más importante en la determinación de las posiciones de los picos del flúor que en la de los protones.

Las correlaciones empíricas del desplazamiento del flúor con la estructura son relativamente escasas cuando se comparan con la información referente al comportamiento del protón. Sin embargo, parece probable que en este campo habrá progresos en el futuro, en particular en la investigación estructural de los compuestos orgánicos del flúor.

En la figura 19.32 se muestran los espectros de protones, de ^{19}F y de ^{31}P que corresponden a la especie inorgánica PHF_2 . En cada espectro, las asignaciones del desdoblamiento espín-espín se pueden hacer con facilidad con base en lo expuesto en la sección 19B.3. Si se utiliza un moderno instrumento multinuclear, tres de esos espectros se podrían obtener con una sola intensidad de campo magnético.

19G IMPULSOS MÚLTIPLES Y RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR MULTIDIMENSIONAL

Con estas técnicas se han originado experimentos totalmente nuevos que permiten obtener mayor información acerca de moléculas orgánicas y biológicas.

19G.1 Resonancia magnética nuclear de pulsos múltiples

A finales de los años sesenta los especialistas en espectroscopia de resonancia magnética nuclear descubrieron que se podría obtener una gran cantidad de información química a partir de experimentos basados en sucesiones múltiples de pulsos. En este caso, técnicas como la resonancia magnética nuclear de *recuperación-inversión* y de *ecoespín* facilitan la medición del

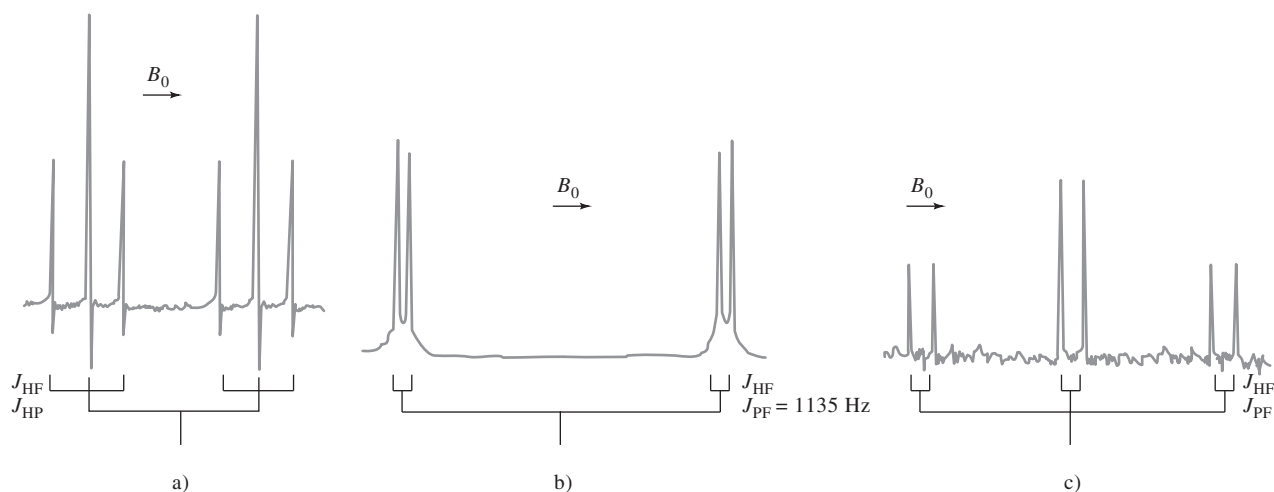


FIGURA 19.32 Espectro del PHF₂ líquido a -20°C : a) espectro de ^1H a 60 MHz; b) espectro de ^{19}F a 94.1 MHz; c) espectro de ^{31}P a 40.4 MHz. (Tomado de R. J. Myers, *Molecular Magnetism and Molecular Resonance Spectroscopy*, Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1973. Con autorización.)

tiempo de relajación de red-espín T_1 y espín-espín T_2 . En efecto, estos tiempos de relajación se empezaron a utilizar como parámetros adicionales de resolución. Por ejemplo, en la resonancia magnética nuclear del ^1H , las diferencias entre los valores T_1 de los protones del soluto y los protones del agua se aprovecharon para reducir la contribución de las intensas resonancias del solvente en disoluciones acuosas. En las mezclas que contienen proteínas y moléculas biológicas pequeñas, las diferencias T_2 se usaron en esencia para eliminar las resonancias de los protones de las macromoléculas y facilitar la intensificación de las señales de moléculas pequeñas. Pero lo más importante es reconocer que se podrían utilizar las sucesiones de múltiples pulsos para añadir una segunda dimensión de frecuencia a los experimentos de resonancia magnética nuclear.

19G.2 Resonancia magnética nuclear bidimensional

La RMN bidimensional comprende una serie relativamente nueva de técnicas de pulsos múltiples que facilitan la interpretación de espectros complejos.¹⁹ Con los métodos bidimensionales se pueden identificar resonancias relacionadas con acoplamiento mediante enlace, con interacciones espaciales o con intercambio químico. En estos métodos, los datos se adquieren, como en la resonancia magnética nuclear de transfor-

mada de Fourier ordinaria, en función del tiempo t_2 . Pero antes de obtener la señal del decaimiento libre de inducción, el sistema es perturbado con un pulso durante un tiempo t_1 . La transformación de Fourier del decaimiento libre de inducción como una función de t_2 para un t_1 fijo origina un espectro semejante al que se obtiene en un experimento ordinario de pulsos. Este proceso se repite entonces para varios valores de t_1 , con lo que se origina un espectro bidimensional respecto a dos variables de frecuencia ν_1 y ν_2 o, a veces, de los parámetros de desplazamiento químico δ_1 y δ_2 . La naturaleza y la sincronización de los pulsos que se han empleado en la resonancia magnética nuclear bidimensional varían ampliamente y, en algunos casos, se utilizan más de dos pulsos repetidos. Por consiguiente, la cantidad de tipos de experimentos bidimensionales que han surgido es enorme. Algunos de los métodos más populares se basan en la transferencia de coherencia, entre los que están la *espectroscopía de correlación homonuclear* (cuyo acrónimo en inglés es COSY), *espectroscopía total de correlación* (TOCSY), el *increíble experimento de transferencia de cuanto doble natural* (INADEQUATE), *espectroscopía de correlación heteronuclear* (HETCOR) y *espectroscopía de coherencia heteronuclear de cuanto múltiple* (HMQC).

La figura 19.33a es un espectro de resonancia magnética nuclear en dos dimensiones del ^{13}C de un experimento COSY con el 1,3-butanodiol. La figura 19.33a es el espectro ordinario en una dimensión para el compuesto. El espectro bidimensional se obtiene como sigue: con el desacoplador de banda ancha de protones desconectado, se aplica a la muestra un pulso a 90° . Después de un tiempo t_1 , se conecta el desacoplador y se aplica otro pulso; el resultante decaimiento libre de inducción se digitaliza y se transforma. Después que el

¹⁹Para un breve repaso de la resonancia magnética nuclear bidimensional refiérase a D. L. Rabenstein, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 214A. Un análisis más detallado lo puede encontrar en J. B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, cap. 6, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004; F. J. M. van de Ven, *Multidimensional NMR in Liquids*, Nueva York: Wiley-VCH, 1995; R. R. Ernst, G. Bodenhausen, y A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, Oxford, UK: Oxford University Press, 1987.

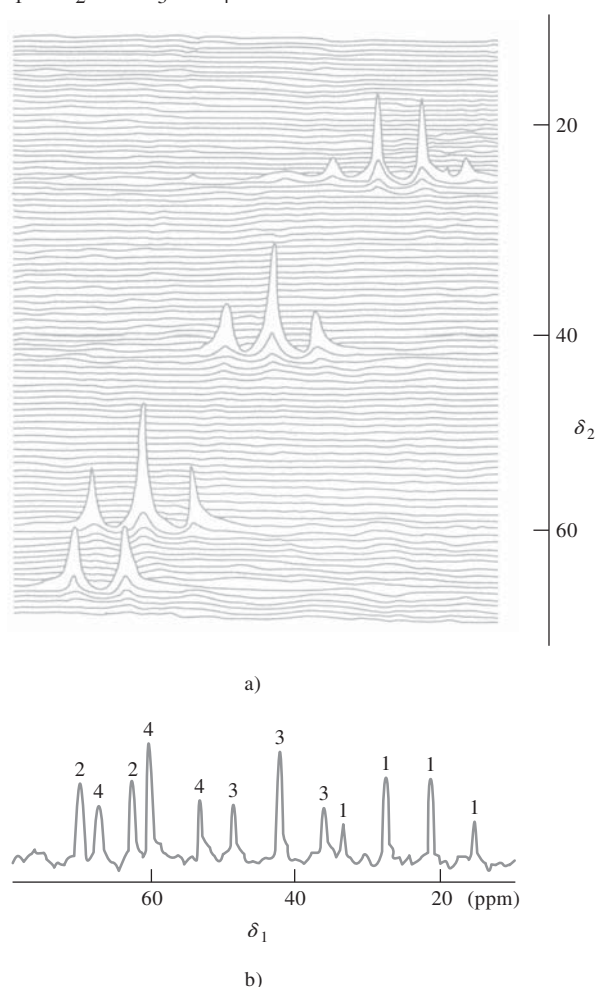
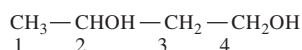


FIGURA 19.33 Ilustración del uso del espectro bidimensional a) para identificar las resonancias del ^{13}C en un espectro de una dimensión b). Observe que el espectro ordinario unidimensional se obtiene a partir de los picos a lo largo de la diagonal. La presencia de los picos fuera de la diagonal representan resonancias relacionadas con el acoplamiento espín-espín.

(Adaptación a partir de S. Borman, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, p. 1129A. Figura 1, p. 1129A. Copyright 1982 American Chemical Society. Con autorización.)

equilibrio se restablece, se repite este proceso con otros valores de t_1 , lo que ocasiona una serie de espectros que se grafican horizontalmente en la figura. Es decir, la proyección a lo largo del eje δ_1 son los espectros que se obtendrían sin desacoplamiento. La proyección a lo largo del eje δ_2 coincide con el espectro de ^{13}C totalmente desacoplado. Es evidente que el espectro está constituido por un cuádruple, dos triples y un doble, cuyo origen resulta obvio si se considera el número de protones unido a cada uno de los cuatro áto-

mos de ^{13}C en la molécula. Esta información no es evidente en el espectro de una dimensión.

Los experimentos COSY, TOCSY, HETCOR y HMQC son de gran ayuda al interpretar los espectros del ^{13}C y de protones. En cambio, el experimento INADEQUATE es tal vez la técnica definitiva para resonancia magnética nuclear bidimensional. Este experimento se apoya en el acoplamiento espín-espín entre pares de núcleos enlazados directamente. Puede rastrear el esqueleto de carbonos de un compuesto orgánico carbono por carbono. La baja sensibilidad de la INADEQUATE limita su utilidad práctica.

Otra clase de experimentos bidimensionales se basa en la transferencia incoherente de magnetización mediante el efecto nuclear de Overhauser (ENO) o por intercambio químico. En espectroscopía ENO (NOESY), *espectroscopía de marco giratorio y efecto de Overhauser* (ROESY) y *espectroscopía de intercambio* (EXSY), se observan picos transversales entre resonancias vinculadas con interacciones dipolo-dipolo o intercambio químico. Por ejemplo, en la figura 19.34 se muestran los espectros unidimensionales y de ROESY de un péptido de 19 aminoácidos. El espectro de resonancia magnética nuclear de protones unidimensional no sólo podría ser designado por completo, sino que además el espectro ROESY señala que el péptido es una hélice alfa en solución.

19G.3 Resonancia magnética nuclear multidimensional

La superposición de resonancias en la resonancia magnética nuclear bidimensional ha limitado la determinación de la estructura de proteínas pequeñas. Pero los métodos de tres y cuatro dimensiones que han sido perfeccionados permiten que la espectroscopía de resonancia magnética nuclear se generalice a proteínas más y más grandes. Por ejemplo, se puede añadir una tercera dimensión para separar un espectro bidimensional de ^1H - ^1H con base en el desplazamiento químico de otro núcleo, como ^{15}N o ^{13}C . En la mayor parte de los experimentos tridimensionales se usan los métodos más eficaces para el caso de moléculas grandes. Por consiguiente, COSY no se utiliza con frecuencia, pero experimentos como NOESY-TOCSY y TOCSY-HMQC son muy efectivos. En algunos casos, las tres dimensiones representan diferentes núcleos como ^1H - ^{13}C - ^{15}N . Éstos se consideran variantes del experimento HETCOR. En la actualidad, la resonancia magnética nuclear de varias dimensiones tiene la aptitud de proporcionar estructuras completas de fase en solución para complementar estructuras cristalinas obtenidas a partir de cristalografía con rayos X. Por tanto, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear es ahora una técnica importante para determinar estructuras y orientaciones de moléculas complejas en solución.

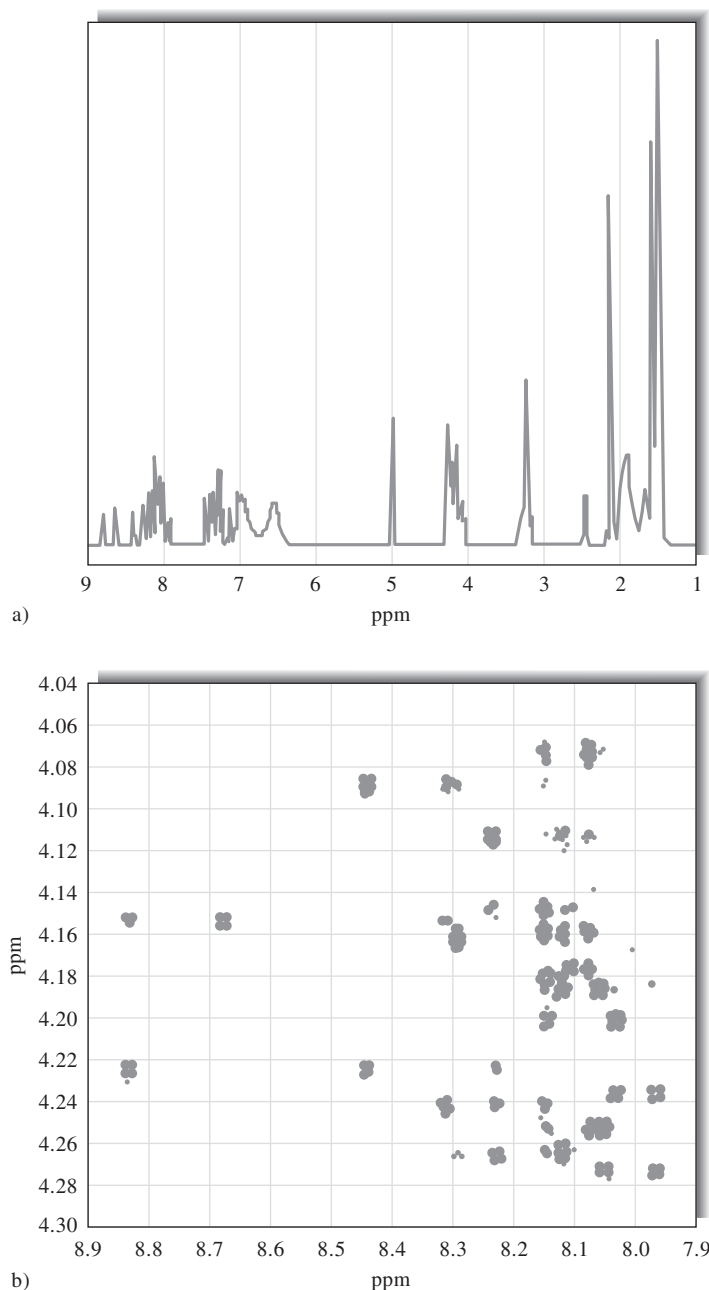


FIGURA 19.34 a) Espectro de resonancia magnética nuclear unidimensional del ^1H a 500 MHz y una parte del espectro mediante ROESY bidimensional b) de una proteína de 19 aminoácidos. La sucesión de pulsos que se usa colapsa los múltiples debidos al acoplamiento espín-espín de ^1H - ^1H en sencillos. Los picos transversales de las interacciones dipolares posibilitan la designación completa del espectro de resonancia magnética nuclear protónica. (Adaptación de A. Kaerner y D. L. Rabenstein, *Magn. Reson. Chem.*, **1998**, 36, p. 601. Copyright 1998 Interscience/Wiley.)

19H ESTUDIOS DE IMÁGENES POR RESONANCIA MAGNÉTICA

Desde los años setenta, la técnica de la resonancia magnética nuclear se ha aplicado de forma creciente a otros campos diferentes de la química, como la biología, la ingeniería, el control de calidad industrial y la medicina. Una de las aplicaciones más importantes de la resonancia magnética nuclear es la obtención de imágenes. En las imágenes de resonancia magnética,

los datos de la excitación con pulsos de radiofrecuencia de objetos sólidos o semisólidos se someten a una transformación de Fourier y se convierten en imágenes tridimensionales del interior de los objetos. La principal ventaja es que las imágenes de los objetos se obtienen sin invadirlos. Esto significa que existe poca o ninguna posibilidad de que los seres humanos o los animales sufran lesiones o cualquier otro daño a causa de la radiación, como puede ocurrir con la tomografía axial computarizada con rayos X u otros métodos si-

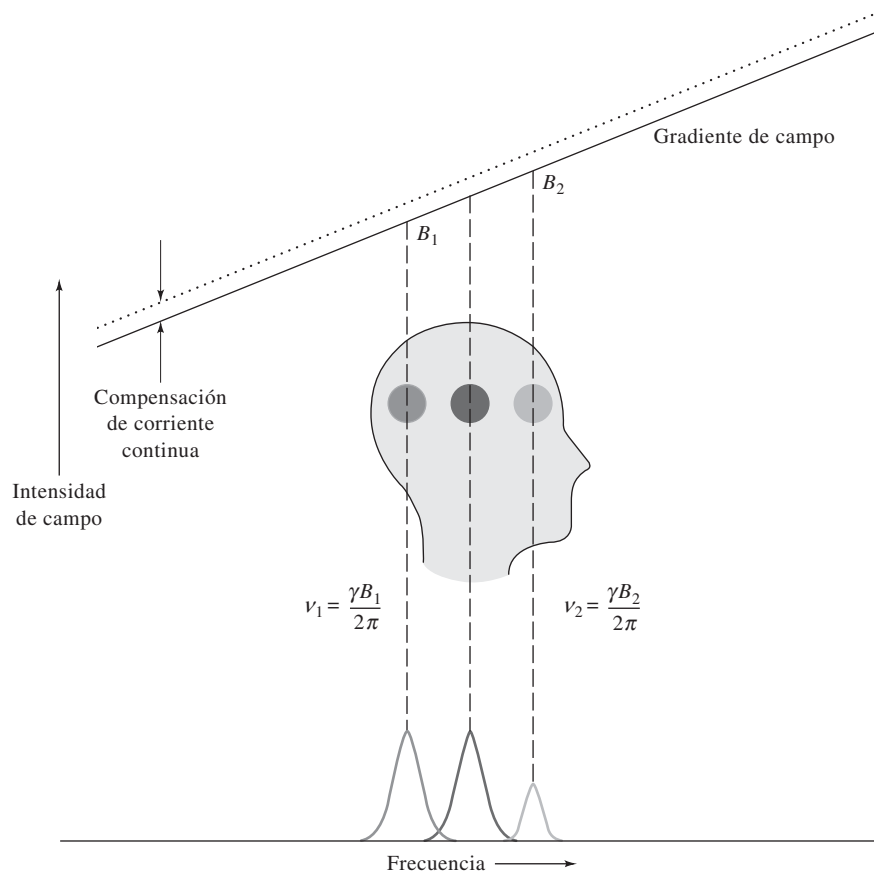


FIGURA 19.35 Concepto fundamental de las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética.

milares.²⁰ En el año 2003, Paul Lauterbur de la Universidad de Illinois y Peter Mansfield de la Universidad de Nottingham en el Reino Unido compartieron el Premio Nobel en Fisiología y Medicina por sus descubrimientos relacionados con los estudios mediante resonancia magnética.

La idea fundamental de las imágenes obtenidas por resonancia magnética se representa en la figura 19.35. En esta técnica se varía de manera intencional la intensidad del campo magnético a lo largo de todo el individuo en estudio para obtener un perfil como el que se muestra en la parte superior de la figura. Esta variación lineal, o gradiente del campo B , se crea por medio de bobinas auxiliares instaladas en el hueco del imán, las cuales están bajo control de la computadora del instrumento de resonancia magnética. Los protones, que se ubican en diferentes lugares del individuo, experimentan diferentes intensidades del campo magnético

B_1 y B_2 para dos de las regiones que se muestran en la figura. La ecuación 19.10 o ecuación de Larmor, sugiere que estos núcleos manifiestan diferentes frecuencias de resonancia, ν_1 y ν_2 en este caso. Así, por ejemplo, si se aplica un gradiente de 1×10^{-5} teslas/cm a lo largo del hueco, o eje z , de un imán para imágenes por resonancia magnética, se produce un intervalo de frecuencias de resonancia de $(2.68 \times 10^8 \text{ radianes s}^{-1} \text{ T}^{-1}) (1 \times 10^{-5} \text{ T/cm}) / (2\pi \text{ radianes}) = 425 \text{ Hz}$. En otras palabras, los protones separados 1 cm en el individuo a lo largo del gradiente del campo tendrán frecuencias de resonancia que diferirán en 425 Hz. Por tanto, al cambiar la frecuencia central de los pulsos de la sonda de resonancia magnética nuclear en incrementos de 425 Hz es posible explorar posiciones sucesivas separadas 1 cm en la dirección del gradiente del campo magnético. Cada impulso consecutivo de radiofrecuencia produce una señal de decaimiento libre de inducción que codifica la concentración de protones en posiciones situadas a intervalos de 1 cm en la dirección del gradiente del campo. Cuando los decaimientos libres de inducción se someten a una transformación de Fourier, se obtiene la información de la concentración como lo indican las alturas de los picos situados en la

²⁰Un análisis detallado sobre la teoría y las aplicaciones de las imágenes por resonancia magnética se encuentra en J. P. Hornak, *The Basics of MRI* (<http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/>); H. Witjes, A. W. Simonetti, L. Buydens, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 548A; S. A. Huettel, A. W. Song y G. McCarthy, *Functional Magnetic Resonance Imaging*, Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2004; R. B. Buxton, *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging*, Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2002.

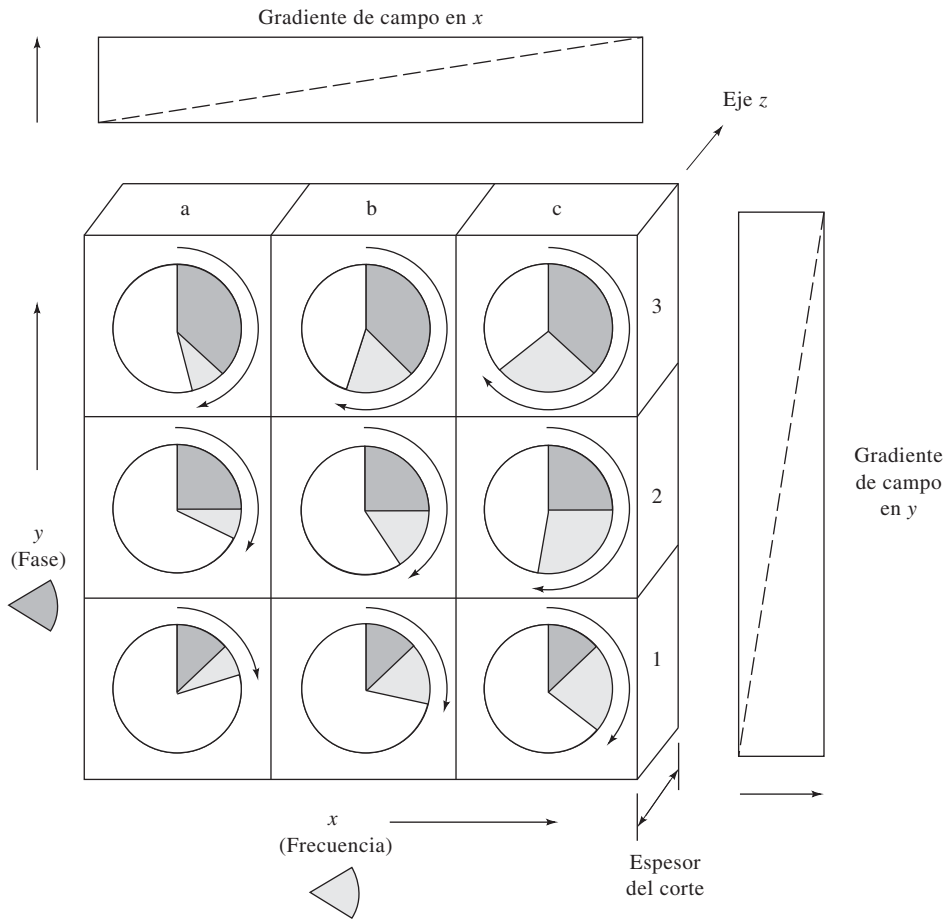


FIGURA 19.36 Adquisición de información dentro de cortes a lo largo del eje z .

parte inferior de la figura 19.35. En la práctica, la posición del corte a lo largo del eje z se puede cambiar añadiendo una compensación de corriente continua a las bobinas auxiliares, como se muestra mediante el gradiente de campo que se representa con guiones en la figura 19.35. Cada corte se explora cambiando la anchura del impulso de RF para sintonizar su frecuencia con la frecuencia de precesión de los protones del corte explorado. El pico de en medio en la figura 19.35 corresponde al círculo central y representa la señal de los protones del centro de la cabeza de la persona. Si aumenta el gradiente del campo aplicado, disminuye el espesor del corte examinado.

El proceso de selección de la posición, que se describió en el párrafo anterior, proporciona información espacial en una dimensión a lo largo del eje z invirtiendo los espines de los protones dentro del corte elegido. La información dentro de cada corte a lo largo del eje z se obtiene de una forma un poco diferente, como se muestra esquemáticamente en la figura 19.36. El corte elegido se representa en la figura como una cuadrícula bidimensional que está en el plano x - y y que

consta de las filas 1, 2 y 3 y de las columnas a , b y c . Con el fin de simplificar, la cuadrícula se presenta como una matriz de 3×3 elementos, pero en la práctica el corte podría tener 128×128 , 256×256 o 512×512 elementos, y cada elemento o *pixel* representa un área de $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ en la muestra. En tales experimentos tridimensionales con imágenes, se selecciona el gradiente de campo en el eje z de tal manera que se obtiene un corte de 1 mm de espesor y a continuación se desactiva. En este momento de la secuencia del proceso de medición, todos los protones del corte tienen sus espines invertidos. Se aplica entonces un segundo gradiente al individuo, esta vez perpendicular al eje z , y se utiliza un segundo conjunto de bobinas en el eje y que están orientadas en ángulo recto respecto al eje del hueco del imán. Los núcleos en diferentes posiciones en el eje y tienen un movimiento de precesión a diferentes frecuencias, lo cual depende de su posición en el gradiente del campo. Cuando este segundo gradiente a lo largo del eje y se desactiva, todos los núcleos situados a la distancia correspondiente a la fila 1 del eje y de la figura 19.36 tienen movimiento de precesión a través

de un ángulo de fase fijo, cuyo valor es proporcional al tamaño de los sectores de color gris oscuro de los círculos de la fila 1. Por consiguiente, la distancia a lo largo del eje y se codifica en el ángulo de fase de los protones en precesión, y se representa mediante los sectores circulares gris oscuro.

Tan pronto como finaliza el gradiente sobre el eje y se activa un tercer conjunto de bobinas magnéticas que es perpendicular tanto al eje z como al eje y . Esta acción produce un gradiente de campo en una tercera coordenada a lo largo del eje x . Puesto que los núcleos de la columna b han experimentado un campo magnético más intenso que los de la columna a , su movimiento de precesión tendrá una mayor frecuencia, cuyo valor se representa con los sectores circulares de color gris claro. De manera análoga, los núcleos de la columna c tienen la frecuencia más grande en la matriz de 3×3 píxeles de la figura 19.36. El resultado es que las posiciones de los núcleos en la coordenada x están codificadas por sus frecuencias de precesión. El ángulo de precesión total, que se indica por medio de las flechas circulares de la figura, es único para cada elemento de la cuadrícula y, por tanto, la posición de cada uno de ellos está codificada en el ángulo total. Las bobinas receptoras están activadas durante la aplicación de esta

última fase de la frecuencia codificadora, por lo que se registra el decaimiento libre de inducción. El ciclo completo de 1) selección del corte, 2) codificación de la fase en la coordenada y 3) codificación de la frecuencia en la coordenada x y 4) registro del decaimiento libre de inducción requiere sólo unos cientos de milisegundos como máximo. El siguiente paso en la recolección de datos es activar las bobinas del eje z para invertir de nuevo los espines de los núcleos que están en el corte y repetir la secuencia con un gradiente algo mayor en el eje y para codificar la fase de la fila 2. Este paso es seguido por la aplicación del gradiente en el eje x para codificar la frecuencia de las columnas a , b y c , y la obtención del decaimiento libre de inducción de la fila 2. Para finalizar, se repite la secuencia completa de medición para la fila 3 y se obtiene un correspondiente decaimiento libre de inducción. El resultado del proceso para el corte completo 3×3 es un conjunto de tres decaimientos libres de inducción que representan la señal de resonancia en el dominio del tiempo S , cada uno de los cuales es una función de los gradientes del campo G_x y G_y en los ejes x y y , respectivamente. La señal en el dominio del tiempo $S(G_x, G_y)$, que contiene información relacionada con el ángulo de precesión total, es sometida a una transformación de Fourier en

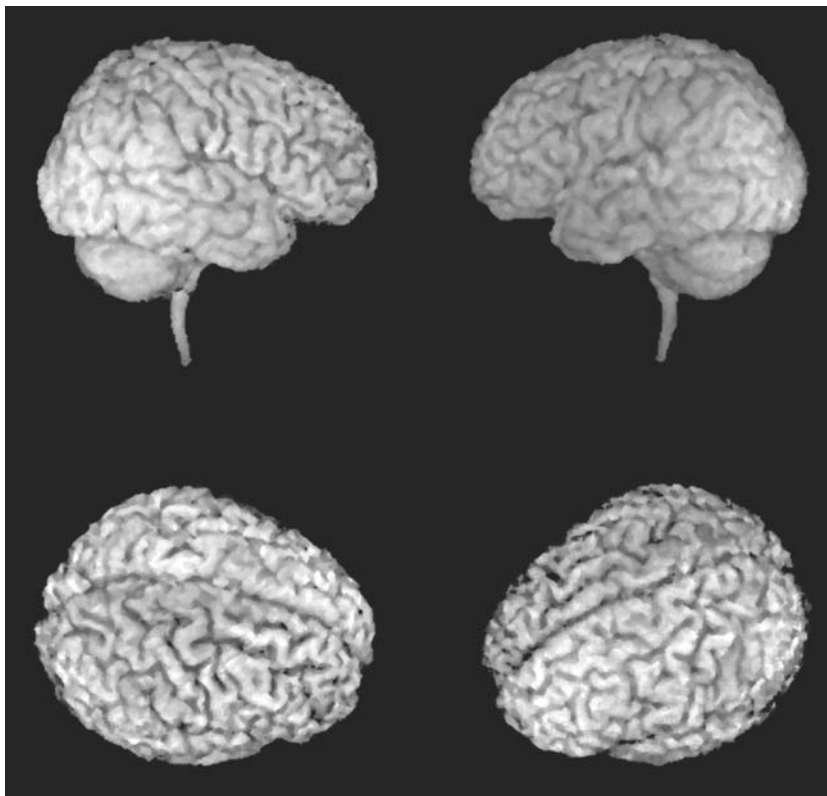


FIGURA 19.37 Las estructuras internas de los pacientes se pueden reconstruir a partir de las matrices de datos tridimensionales. (Imagen cortesía de C. D. Smith Memory Disorders Clinic, Sanders-Brown Research Center on Aging, University of Kentucky Medical Center. Con autorización.)

dos dimensiones. El resultado es una señal en el dominio de la frecuencia $S(\omega_x, \omega_y)$ cuyas frecuencias en los ejes x y y son directamente proporcionales a las distancias d_x y d_y . Es decir,

$$S(G_x, G_y) \rightarrow S(\omega_x, \omega_y) \rightarrow S(d_x, d_y)$$

Por último, la información de la distancia en dos dimensiones $S(d_x, d_y)$ se combina para todos los cortes en la coordenada z con el fin de proporcionar una matriz tridimensional de datos. Cada elemento de la matriz tiene una intensidad que es proporcional a la concentración de protones en un elemento de volumen, o *voxel*, que corresponde a cada conjunto de coordenadas x , y y z . Observe que con la excepción del imán, que debe tener un hueco bastante grande y ofrecer un campo estático intenso de 0.5 a 4.7 T, el funcionamiento de los instrumentos con los que se obtienen imágenes por resonancia magnética y los de resonancia magnética nuclear de alta resolución es idéntico. Precisamente, en ambos tipos de instrumentos se utilizan las mismas técnicas de sucesión de pulsos y los mismos procedimientos de intensificación de la señal. Aunque el análisis anterior se simplificó considerablemente, la secuencia básica y los esquemas de codificación se apegan a la realidad. La aplicación inteligente y oportuna de varias sucesiones de pulsos de RF, de diversos gradientes de campo magnético, de apropiadas transformaciones de Fourier y análisis de datos y de rutinas de programas informáticos para reconstrucción, producen imágenes tridimensionales. Se pueden

reconstruir estructuras internas de individuos a partir de las matrices de datos tridimensionales, como se muestra en el grupo de cuatro imágenes de resonancia magnética de la figura 19.37. Las imágenes son cuatro verdaderas reconstrucciones tridimensionales del cerebro de una paciente joven aquejada de encefalitis de Rasmussen, y se obtuvieron utilizando un solo conjunto de datos de resonancia magnética. Estas imágenes muestran una reducción drástica de la porción frontal derecha del cerebro, lo cual es una característica de esta rara enfermedad. La capacidad para generar imágenes de gran resolución (en la escala de milímetros) a partir de datos verdaderos tridimensionales es una cualidad única de la técnica de resonancia magnética para la obtención de imágenes.

En la figura 19.38 se presenta una segunda imagen que demuestra la cartografía funcional mediante resonancia magnética del hemisferio izquierdo del cerebro en el momento de realizar la tarea de nombrar objetos al verlos. La porción oscura del mapa muestra diferencias estadísticas en la intensidad de la señal debidas a cambios en la oxigenación de la sangre neuronal como consecuencia de la activación de las regiones del cerebro que se ocupan de la tarea de nombrar objetos, en comparación con una tarea de control. En este caso, la tarea que se encomendó a la persona fue decir el nombre de los dibujos de líneas estandarizados agrupados en siete temas. El mapa muestra la activación del *giro angular*, que es la mancha grande gris de la parte superior derecha del cerebro en esta imagen, y de la

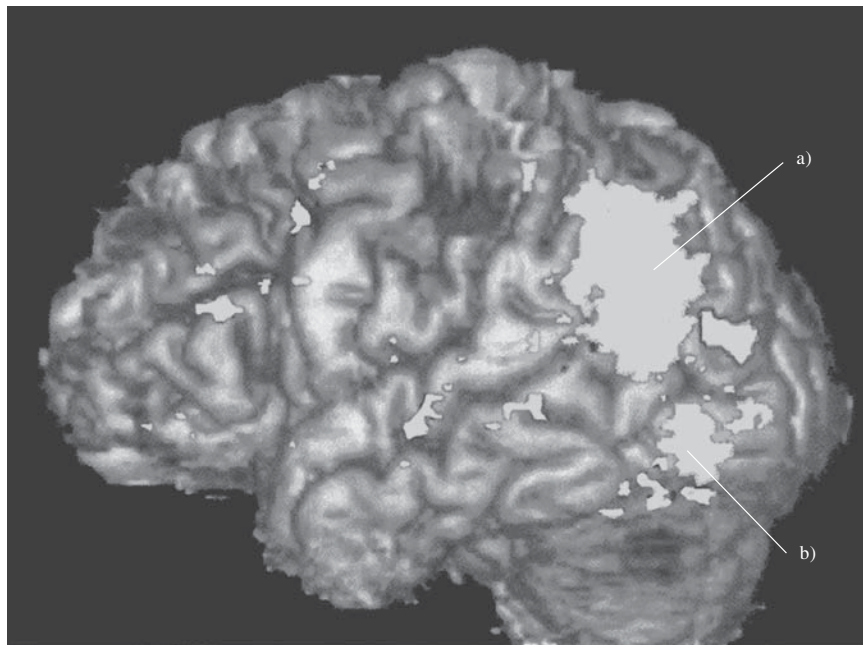


FIGURA 19.38 Actividad cerebral del hemisferio izquierdo como resultado de la tarea de nombrar objetos que es revelada mediante estudios de imágenes que se obtienen con resonancia magnética funcional. (Tomado con autorización de C. D. Smith, A. H. Andersen, Z. Chen, L. X. Blonder, J. E. Kirsch y M. J. Avison, *Neuro. Report*, 1996, 7, p. 2.)

denominada *área 37*, que es la región más pequeña de color gris en la región inferior derecha de la imagen. Se sabe que ambas regiones del cerebro se encargan de procesar el lenguaje. La elaboración de mapas de las regiones del cerebro humano que se encargan de tipos específicos de procesamiento y ejecución es en la actualidad un área de intensa investigación. Las ventajas de la resonancia magnética para obtener imágenes de la realización de funciones, en comparación con otras técnicas, son su naturaleza no invasiva, su reproductibilidad, su velocidad para la adquisición de datos y su elevada resolución espacial intrínseca.

Los estudios mediante resonancia magnética para obtener imágenes se han convertido en un pilar del ar-

senal de herramientas de diagnóstico médico. La aplicación en la industria alimentaria y en otros campos científicos y comerciales ha sido obstaculizada por los altos costos de los equipos de resonancia magnética. Sin embargo, a medida que la complejidad y la facilidad de aplicación de los procedimientos para intensificar los datos, las sucesiones de pulsos exóticos y los protocolos de adquisición de datos continúan evolucionando, en especial en lo que se refiere a núcleos distintos al del ^1H , los estudios de imágenes obtenidas con resonancia magnética se volverán sin duda una herramienta indispensable para las investigaciones no invasivas de materiales.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 19.1** Explique la diferencia en la forma en que se realiza un experimento de resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier y uno de onda continua.
- 19.2** ¿Cuáles son las ventajas de las mediciones de resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier respecto a las mediciones de onda continua? ¿Cuáles son las desventajas?
- 19.3** En la espectroscopía de resonancia magnética nuclear, ¿cuáles son las ventajas de utilizar un imán con una intensidad de campo tan grande como sea posible?
- 19.4** ¿Cómo se pueden diferenciar las líneas de desdoblamiento espín-espín de las líneas de desplazamiento químico?
- 19.5** Defina

a) anisotropía magnética	e) frecuencia de Larmor
b) constante de selectividad	f) constantes de acoplamiento
c) parámetro de desplazamiento químico	g) espectros de RMN de primer orden
d) medidas de RMN de onda continua	
- 19.6** Un núcleo tiene un número cuántico de espín de $5/2$. ¿Cuántos estados magnéticos de energía tiene? ¿Cuál es el número cuántico magnético de cada uno?
- *19.7** ¿Cuál es la frecuencia de absorción en un campo magnético de 7.05 T de a) ^1H , b) ^{13}C , c) ^{19}F , d) ^{31}P ?
- *19.8** ¿Cuál es la frecuencia de Larmor de los protones en los campos magnéticos de a) 1.41 T, b) 4.69 T, c) 7.05 T, d) 11.7 T, e) 18.8 T y f) 21.2 T?
- *19.9** Una resonancia está desplazada 90 Hz del TMS en un campo magnético de 1.41 T de intensidad. ¿Cuál será la diferencia de frecuencia en a) 4.69 T, b) 7.05 T, c) y 18.8 T? ¿Cuáles serán los desplazamientos químicos δ en cada una de estas intensidades de campo magnético?
- 19.10** ¿Por qué el desdoblamiento espín-espín ^{13}C - ^{13}C no se observa en los compuestos orgánicos ordinarios?
- *19.11** Calcule el número relativo de núcleos de ^{13}C en los estados magnéticos más alto y más bajo a 25°C y en campos magnéticos de a) 2.4 T, b) 4.69 T y c) 7.05 T.

- 19.12** ¿Cuál es la diferencia entre relajación longitudinal y transversal?
- 19.13** Explique el origen de una señal de decaimiento libre de inducción en la resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier.
- 19.14** ¿Qué es un marco de referencia rotatorio?
- 19.15** ¿Cómo será ΔE de un núcleo aislado de ^{13}C respecto al ΔE de un núcleo de ^1H ?
- 19.16** Calcule la frecuencia de resonancia de cada uno de los siguientes núcleos en un campo magnético de 7.05 T: a) ^{19}F y b) ^{31}P .
- *19.17** ¿Cuál es la relación entre la cantidad de núcleos en el estado magnético de mayor energía y la cantidad en el estado de menor energía del ^{13}C en un instrumento de 500 MHz si la temperatura es 300 K?
- 19.18** Compare en forma somera los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{31}P del ácido metilfosforoso $\text{P}(\text{OCH}_3)_3$ a 4.69 T. Hay un débil acoplamiento espín-espín entre los núcleos de fósforo y de hidrógeno en el compuesto.
- 19.19** A temperatura ambiente, el espectro de ^1H del metanol no manifiesta acoplamiento espín-espín, pero cuando la muestra de metanol se enfría a -40°C , la velocidad de intercambio de los protones del hidroxilo es suficientemente baja como para observar el desdoblamiento. Dibuje los espectros aproximados del metanol a las dos temperaturas.
- 19.20** Con los datos de las constantes de acoplamiento siguientes prediga los espectros de ^1H y de ^{19}F para los siguientes compuestos:

Especie	J, Hz
a) $\text{F}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	21
b) CF_3-CH_3	12.8
c) $(\text{CH}_3)_3-\text{CF}$	20.4

- 19.21** Pronostique el aspecto del espectro ^{13}C de alta resolución (protones desacoplados) de
- formiato de metilo.
 - acetaldehído.
 - acetona.
- 19.22** Repita la pregunta 19.21 para el caso en que los protones no estén desacoplados. Observe que las constantes de acoplamiento del $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ están generalmente en el intervalo de 100 a 200 Hz.
- 19.23** ¿Qué es un sistema de estabilización de la frecuencia en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear? Explique los dos tipos de sistemas de estabilización.
- 19.24** ¿Qué se entiende por compensación en un espectrómetro de RMN y para qué sirve?
- 19.25** ¿Por qué las muestras líquidas tienen que girar mientras son examinadas en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear?
- 19.26** Prediga la apariencia del espectro de resonancia magnética nuclear protónica de alta resolución para el ácido propiónico.
- 19.27** Pronostique la apariencia del espectro de resonancia magnética nuclear protónica de alta resolución de
- acetona.
 - acetaldehído.
 - metiletilcetona.
- 19.28** Pronostique la apariencia del espectro de resonancia magnética nuclear protónica de alta resolución de
- nitrito de etilo.
 - ácido acético.
 - metil-*i*-propilcetona.

19.29 Pronostique la apariencia del espectro de resonancia magnética nuclear protónica de alta resolución de

- ciclohexano.
- dietiléter.
- 1,2-dimetoxietano, $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$.

19.30 Pronostique la apariencia del espectro de resonancia magnética nuclear protónica de alta resolución de

- tolueno.
- etilbenceno.
- i*-butano.

19.31 El espectro de resonancia magnética nuclear de protones de la figura 19.39 corresponde a un compuesto orgánico que contiene un solo átomo de bromo. Identifíquelo.

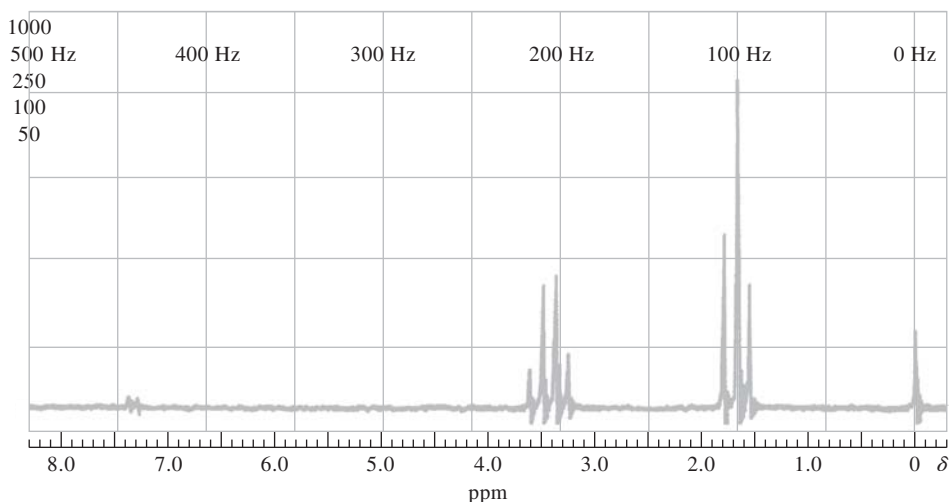


FIGURA 19.39 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

19.32 El espectro de resonancia magnética nuclear de protones de la figura 19.40 corresponde a un compuesto de fórmula empírica $\text{C}_4\text{H}_7\text{BrO}_2$. Identifíquelo.

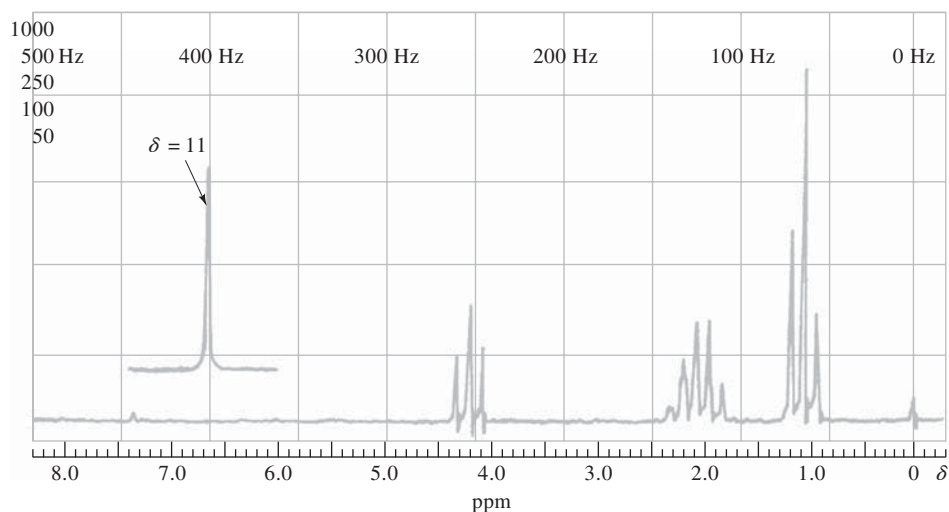


FIGURA 19.40 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

19.33 El espectro de resonancia magnética nuclear de protones de la figura 19.41 corresponde a un compuesto de fórmula empírica C_4H_8O . Identifíquelo.

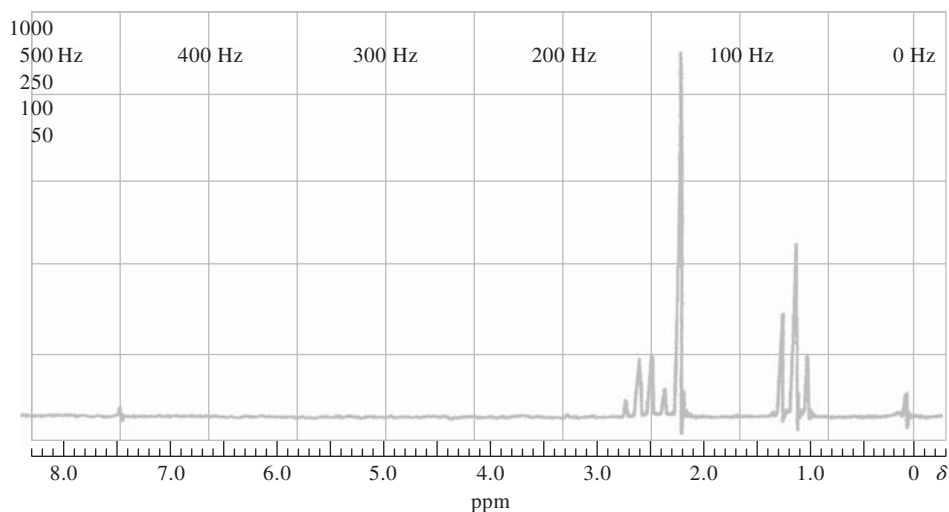


FIGURA 19.41 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

19.34 El espectro de resonancia magnética nuclear de protones de la figura 19.42 corresponde a un compuesto de fórmula empírica $C_4H_8O_2$. Identifíquelo.

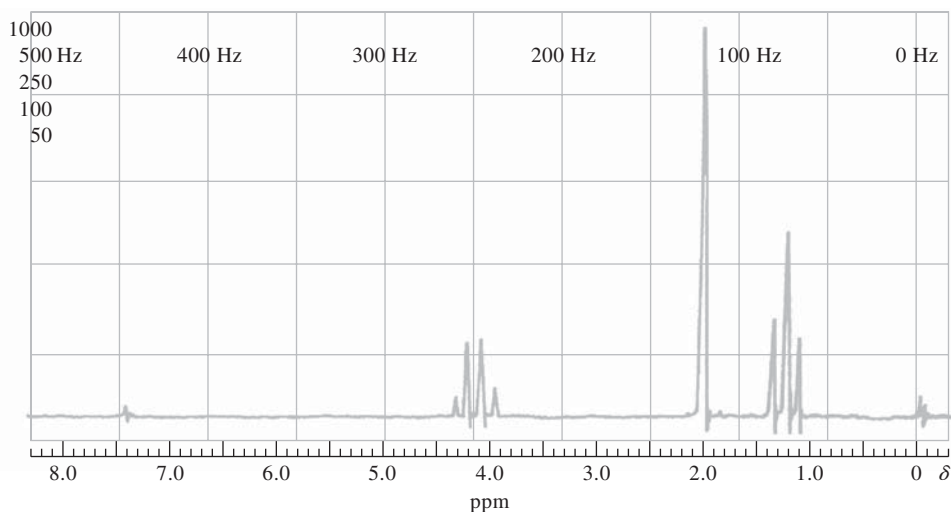
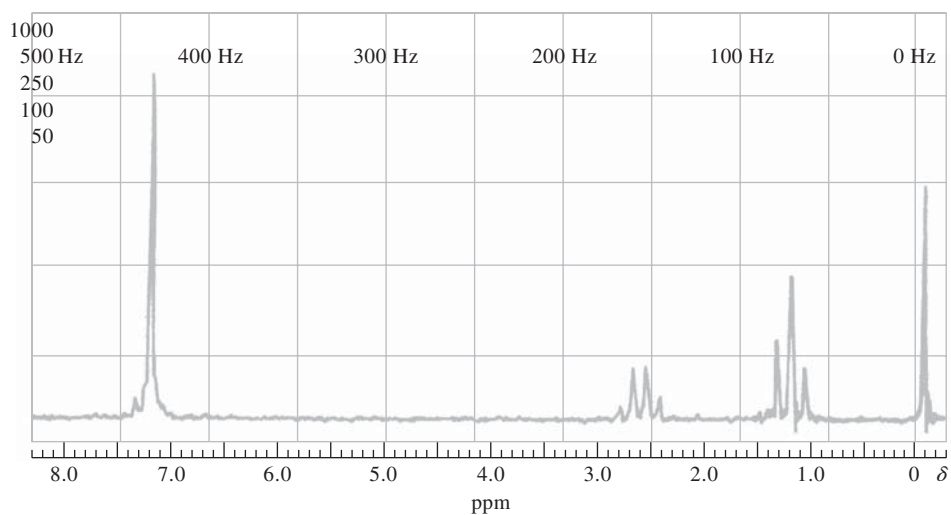
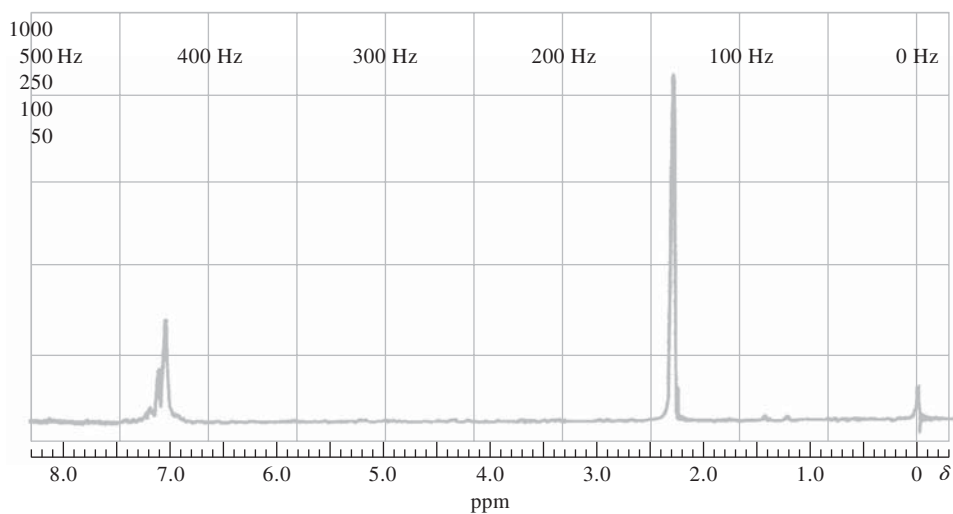


FIGURA 19.42 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

19.35 Los espectros de resonancia magnética nuclear de protones de la figura 19.43a y b corresponden a un compuesto de fórmula empírica C_8H_{10} . Identifíquelo.



a)



b)

FIGURA 19.43 Espectros de resonancia magnética nuclear de protones. (Cortesía de Varian, Inc., Palo Alto, CA.)

19.36 A partir del espectro de resonancia magnética nuclear de protones que se da en la figura 19.44, deduzca la estructura de este hidrocarburo.

19.37 A partir del espectro de resonancia magnética nuclear de protones que se da en la figura 19.45, deduzca la estructura de este compuesto normalmente utilizado como analgésico y cuya fórmula empírica es $C_{10}H_{13}NO_2$.

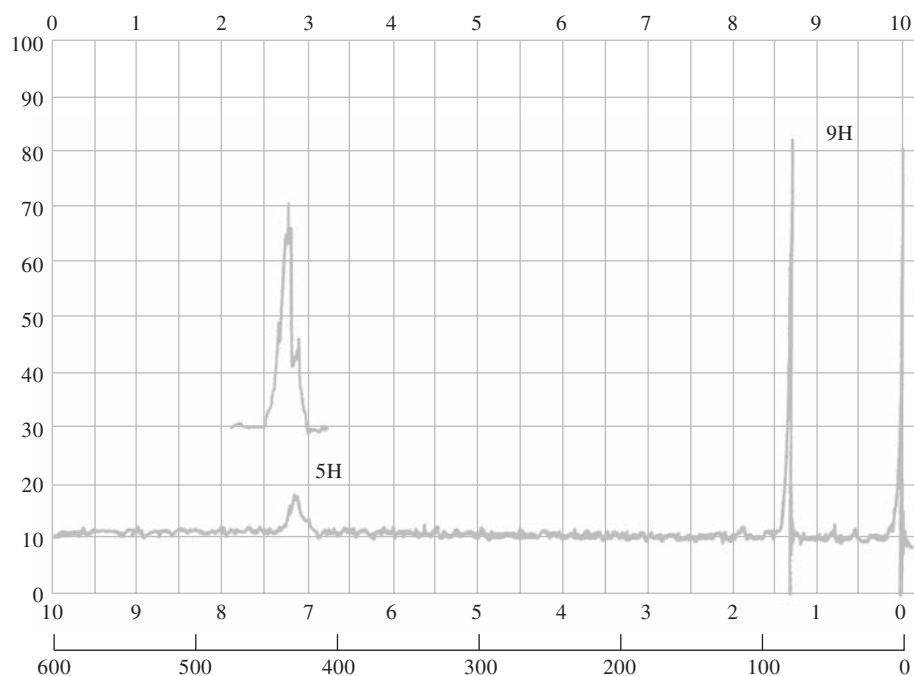


FIGURA 19.44 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Tomado con autorización de C. J. Pouchert, *The Aldrich Library of NMR Spectra*, 2a. ed., Milwaukee, WI: The Aldrich Chemical Company.)

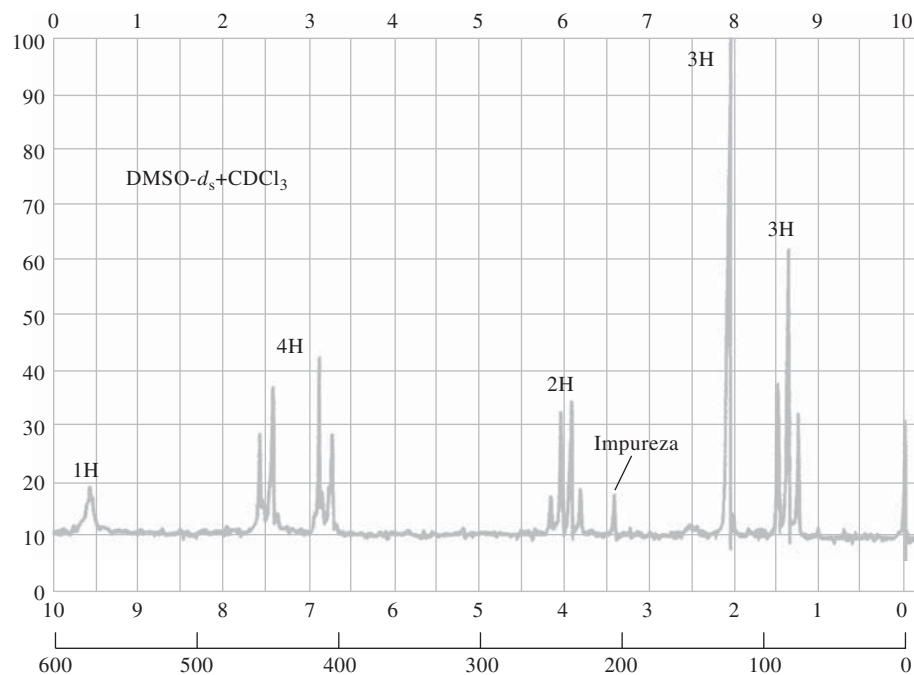


FIGURA 19.45 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones. (Tomado con autorización de C. J. Pouchert, *The Aldrich Library of NMR Spectra*, 2a. ed., Milwaukee, WI: The Aldrich Chemical Company.)

- 19.38** Explique cómo se puede obtener una banda de frecuencias a partir de un oscilador que es en esencia una fuente de radiación monocromática de radiofrecuencia. ¿Cómo se puede obtener una banda suficientemente ancha para abarcar el espectro completo de ^{13}C (200 ppm)?
- 19.39** Describa el origen del plegamiento de las líneas espectrales a causa del submuestreo.
- 19.40** ¿Qué es el efecto nuclear de Overhauser y cuál es su origen?
- 19.41** ¿Cuáles son las causas del ensanchamiento de banda en los espectros del ^{13}C de los sólidos? ¿Cómo se estrechan las líneas para poder obtener espectros de alta resolución?

Problema de reto

- 19.42** a) ¿Cuáles son las principales ventajas y desventajas de los dos métodos de resonancia magnética nuclear bidimensionales respecto a las técnicas ordinarias unidimensionales?
- b) Explique con detalle las sucesiones de los pulsos que se usan en los experimentos COSY y HETCOR. Explique para ambos casos el comportamiento del vector de magnetización M como resultado de los pulsos aplicados. Consulte la nota 19 para que aprenda más sobre los métodos de resonancia magnética bidimensional.
- c) A partir del espectro de resonancia magnética nuclear del ^1H a 300 MHz del fenantro[3,4-b]tiofeno que se reproduce en la figura 19.46, identifique las resonancias de H_1 y H_{11} como par. ¿Puede asignar cualquiera de las otras resonancias?

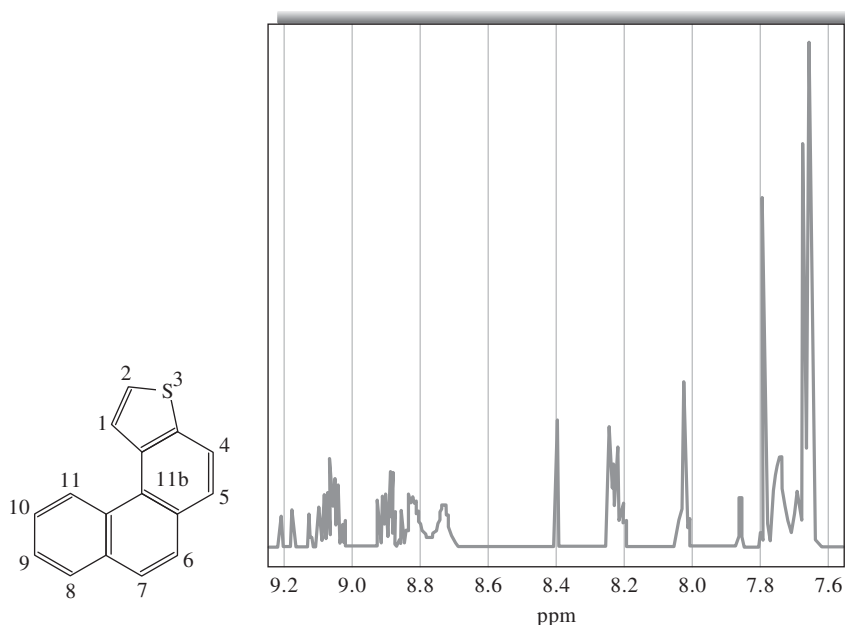


FIGURA 19.46 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones del fenantro[3,4-b]tiofeno a 300 MHz. (Tomado de G. E. Martin y A. S. Zektzer, *Two-Dimensional NMR Methods for Establishing Connectivity*, Nueva York: Wiley-VCH, 1988. Con autorización.)

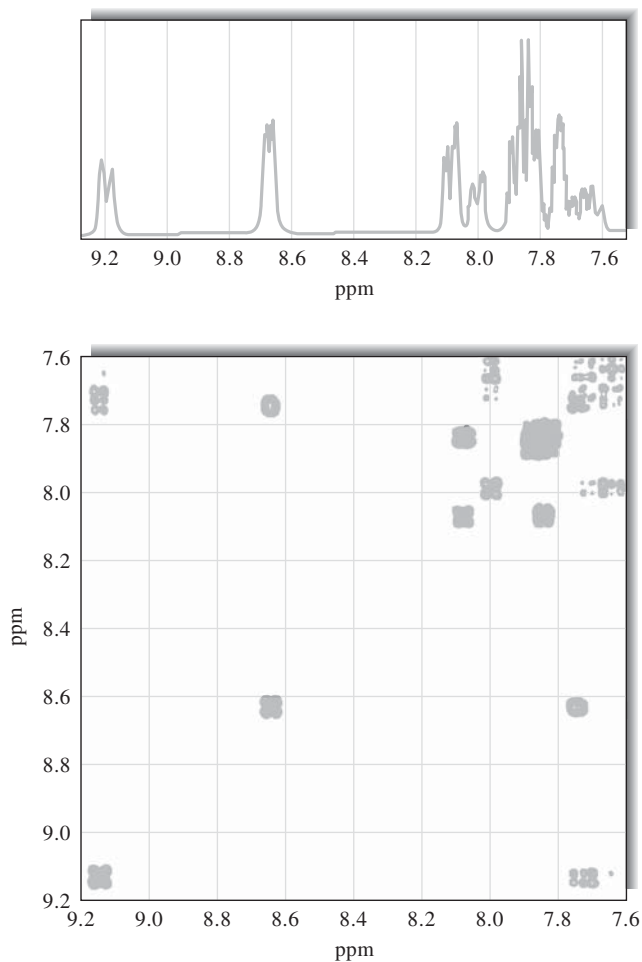


FIGURA 19.47 Espectro COSY del fenantro [3,4-b]tiofeno a 300 MHz. (Tomado de J. B. Lambert y E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice-Hall, 2004. Con autorización.)

- d) A partir del espectro según COSY a 300 MHz de la figura 19.47 explique cómo podría distinguir las resonancias de H_1 y H_{11} .
- e) En el espectro COSY de la figura 19.47, asigne resonancias a H_2 , H_8 , H_9 y H_{10} . Explique por qué hizo tales asignaciones.

Espectrometría de masas molecular

De todas las herramientas analíticas, la espectrometría de masas es quizá la de mayor aplicación, en el sentido de que esta técnica tiene la aptitud de proporcionar información acerca de 1) la composición elemental de las muestras de materia; 2) la estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas; 3) la composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas; 4) la estructura y composición de superficies sólidas y 5) las relaciones isotópicas de átomos en las muestras.

En el capítulo 11 se trató la manera en que los químicos utilizan la espectrometría de masas para identificar y determinar de manera cuantitativa uno o más elementos en una muestra de materia. En este capítulo se describen las formas de utilizar la espectrometría de masas para obtener la información que se indica en los puntos 2) y 3) del párrafo anterior. En el capítulo 21 se estudia la manera de emplear la espectrometría de masas para descubrir la estructura y la composición de las superficies. Para finalizar, en la sección 32D se analiza el uso de las relaciones isotópicas que se determinan mediante espectrometría de masas.

La primera aplicación general de la espectrometría de masa molecular en el análisis químico de rutina se produjo a principio de los años cuarenta del siglo pasado, cuando esta técnica comenzó a ser aplicada en la industria del petróleo para el análisis cuantitativo de las mezclas de hidrocarburos producidas por fraccionadores catalíticos. Antes, los análisis de las mezclas de este tipo, que con frecuencia poseían hasta nueve componentes de hidrocarburos, se llevaban a cabo por destilación fraccionada y después haciendo mediciones del índice de refracción de cada uno de los componentes. Para completar el análisis, se requería un tiempo de operación de 200 horas o más. Se descubrió que con un espectrómetro de masas se podía obtener una información similar en tan sólo algunas horas o incluso menos. Esta mejora efectiva ocasionó que surgieran los espectrómetros de masas comerciales y que se mejoraran con rapidez. A comienzos de los años cincuenta los químicos empezaron a utilizar estos instrumentos comerciales para identificar y descubrir la estructura de una amplia variedad de compuestos orgánicos. Este uso de la espectrometría de masas junto con la invención de la resonancia magnética nuclear y el desarrollo de la espectrometría en el infrarrojo revolucionaron el campo de trabajo de los químicos orgánicos respecto a la identificación y determinación de la estructura de las moléculas. Esta aplicación de la espectrometría de masas es aún de capital importancia.

En la década de los ochenta, las aplicaciones de esta técnica experimentaron grandes cambios como consecuencia del perfeccionamiento de los métodos para producir iones de moléculas no volátiles o termolábiles, como las que estudian con frecuencia los bioquímicos y biólogos. A partir de la década de los noventa inició un enorme crecimiento de la espectrometría de masas en el área biológica como consecuencia de los nuevos métodos de ionización. Actualmente la espectrometría de masas se aplica para determinar estructuras de polipéptidos, proteínas y otros biopolímeros de elevada masa molecular.

En este capítulo se explica en primer lugar y con brevedad la naturaleza de los espectros de masas de las moléculas, definiendo algunos términos que se utilizan en espectrometría de masas molecular. Después se tratan las diferentes técnicas que se utilizan en los espectrómetros de masas para formar iones a partir de las moléculas de analito, así como los tipos de espectros producidos por estas técnicas. Luego se describen con detalle los distintos tipos de espectrómetros de masas que se utilizan en esta técnica (diferentes de los instrumentos de cuadrupolo y de tiempo de vuelo que se tratan con detalle en la sección 11B). Para finalizar,



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog> para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

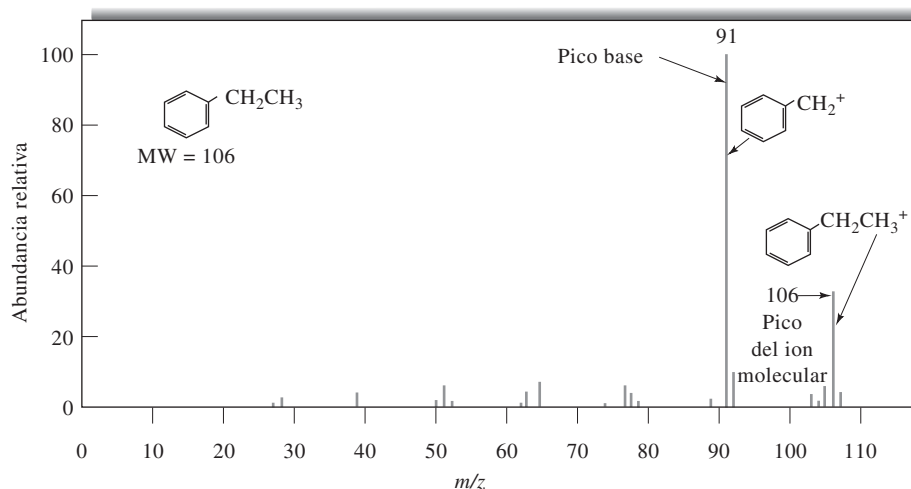
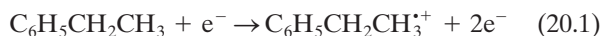


FIGURA 20.1 Espectro de masa del etilbenceno.

se tratan varias de las aplicaciones actuales de la espectrometría de masas molecular.¹

20A ESPECTROS DE MASAS MOLECULAR

En la figura 20.1 se ilustra la forma común en que se presentan los espectros de masas. El analito es etilbenceno, cuya masas molecular nominal es de 106 dalton (Da). Para obtener este espectro, se bombardea el vapor de etilbenceno con un haz de electrones, lo cual origina la pérdida de un electrón del analito y la formación de un ion molecular M^+ como se muestra en la reacción



La especie cargada $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_3^+$ es el *ion molecular*. Como lo señala el punto, el ion molecular es un radical y tiene la misma masas molecular que la molécula.

En general, el choque entre los electrones energéticos y las moléculas de analito proporcionan a éstas suficiente energía para dejarlas en estado excitado. A menudo se produce la relajación por la fragmentación de parte de los iones moleculares para dar lugar a iones de masas más bajas. Por ejemplo, en el caso del

etilbenceno, el producto principal es el $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2^+$, que surge de la pérdida de un grupo CH_3 . También se forman otros fragmentos más pequeños, aunque en menor cantidad, con carga positiva.

Los iones positivos producidos por el impacto de electrones pasan a través de la rendija del espectrómetro de masas, en donde se clasifican de acuerdo con sus relaciones masas-carga y originan un espectro de masas. Observe que la representación de la figura 20.1 tiene la forma de una gráfica de barras que relaciona la intensidad relativa de los picos de masas respecto a su relación masas-carga. Observe también que al pico más alto en cada espectro, denominado *pico base* o *pico de referencia*, se le asigna el valor arbitrario de 100. Se considera que la altura del resto de los picos es un porcentaje de la altura del pico base. Los espectrómetros de masas modernos están programados para identificar de manera automática el pico base; luego normalizan los picos restantes en el espectro en relación con aquél.

20B FUENTES DE IONES

El punto de partida de un análisis por espectrometría de masas es la formación de iones gaseosos del analito, y el alcance y utilidad del método espectrométrico están condicionados por el proceso de ionización. La apariencia de los espectros de masas para distintas especies moleculares depende en gran medida del método que se utilice para formar los iones. En la tabla 20.1 se facilita una lista de numerosas fuentes de iones

¹ Un análisis detallado de la espectrometría de masas se encuentra en R. M. Smith, *Understanding Mass Spectra: A Basic Approach*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2004; E. de Hoffman y V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 2a. ed., Chichester, UK: Wiley, 2002; J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., Filadelfia: Lippincott-Raven, 1997.

TABLA 20.1 Fuentes de iones para la espectrometría de masas molecular.

Tipo básico	Nombre y acrónimo	Agente ionizante
Fase gaseosa	Impacto de electrones (IE)	Electrones energéticos
	Ionización química (IQ)	Iones gaseosos reactivos
Desorción	Ionización por campo (IC)	Electrodo de potencial elevado
	Desorción por campo (DC)	Electrodo de potencial elevado
	Ionización por electronebulización (IEN)	Campo eléctrico elevado
	Desorción-ionización asistida por una matriz (MALDI)	Haz de láser
	Desorción por plasma (DP)	Fragmentos de fisión de ^{252}Cf
	Bombardeo con átomos rápidos (BAR)	Haz de átomos energéticos
	Espectrometría de masas de iones secundarios (EMIS)	Haz de iones energéticos
	Ionización por termonebulización (IT)	Alta temperatura

empleadas en espectrometría de masas molecular.² Observe que estos métodos pertenecen a dos categorías principales: *fuentes de fase gaseosa* y *fuentes de desorción*. En las primeras, que incluye las tres primeras fuentes de la tabla, primero se hace vapor la muestra y luego se ioniza. En el caso de las fuentes de desorción, la muestra, en estado sólido o líquido, se transforma directamente en iones gaseosos. Una ventaja de las fuentes de desorción es que son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables. En la actualidad, los espectrómetros de masas comerciales están equipados con accesorios que permiten usar varias de estas fuentes de manera intercambiable.

Por lo general, las fuentes de fase gaseosa están restringidas a la ionización de compuestos térmicamente estables que tengan temperaturas de ebullición por debajo de 500°C. En la mayoría de los casos estos requisitos limitan las fuentes de fase gaseosa a compuestos con masas moleculares menores de alrededor de 10^3 Da. Las fuentes de desorción, que no requieren volatilización de las moléculas de analito, son aplicables a compuestos que tienen masas moleculares mayores de 10^5 Da.

Las fuentes de iones se clasifican también en *fuentes duras* y *fuentes blandas*. Las primeras confieren energía suficiente a las moléculas del analito para situarlas en un estado energético altamente excitado. La relajación posterior involucra la rotura de enlaces, lo que genera iones fragmentados con una relación masas-carga menor que la del ion molecular. Las fuentes de ionización blandas dan lugar a poca fragmentación. Por tanto, el espectro de masas que procede de una

fente de ionización blanda consta del pico del ion molecular y sólo alguno o incluso ningún otro pico. La figura 20.2 muestra la diferencia que presenta un espectro obtenido con una fuente dura contra otro procedente de una fuente blanda.

Ambos tipos de espectros son útiles en análisis. Los diversos picos de un espectro procedente de una fuente dura proporcionan información útil acerca de la naturaleza de los grupos funcionales, y, por tanto, de la estructura de los analitos. Los espectros de una fuente blanda son útiles porque suministran información exacta relacionada con la masas molecular de la molécula o moléculas del analito.

20B.1 Origen del impacto de electrones

Antes, los iones para análisis de masas se producían mediante un *bombardeo de electrones*. En este proceso la muestra se sometía a una temperatura suficientemente elevada como para producir un vapor molecular, el cual se ionizaba después bombardeándolo con un haz de electrones de elevada energía. A pesar de ciertas desventajas, esta técnica es todavía de gran importancia y es la que se ha utilizado para obtener la mayor parte de los espectros que componen las colecciones de éstos.

La figura 20.3 muestra el diagrama de una fuente de iones sencilla para el bombardeo con electrones. Los electrones son emitidos por un filamento caliente de wolframio o de renio y se les acelera mediante la aplicación de alrededor de 70 V entre el filamento y el ánodo. Como se muestra en la figura, las trayectorias de los electrones y las moléculas son perpendiculares entre sí y se cruzan en el centro de la fuente, donde chocan y tiene lugar la ionización. El producto principal son iones con una única carga positiva que se forman cuando los electrones de elevada energía se acercan lo suficiente a las moléculas para hacerles

²Para más información respecto a las fuentes de iones modernas refiérase a <http://www.jeol.com/ms/docs/ionize.html#FDFI>; E. de Hoffman y V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 2a. ed., Chichester, UK: Wiley, 2002; J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., Filadelfia: Lippincott-Raven, 1997; E. R. Grant y R. G. Cooks, *Science*, **1990**, 250, p. 61.

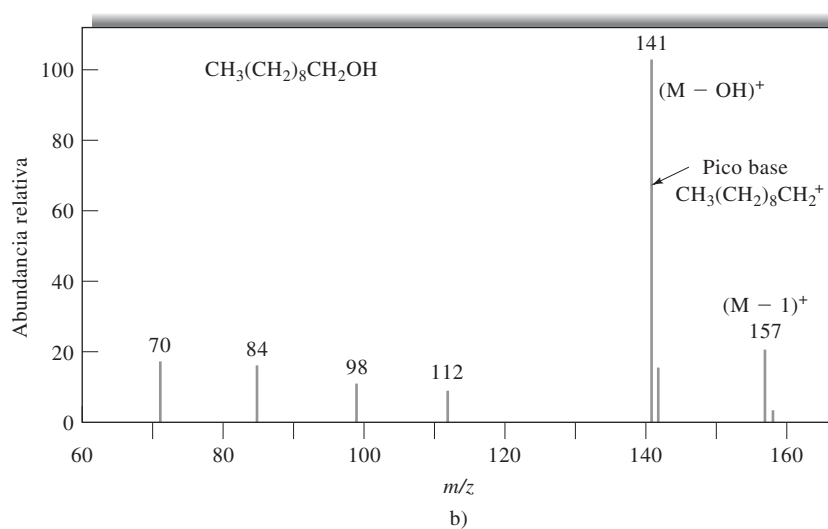
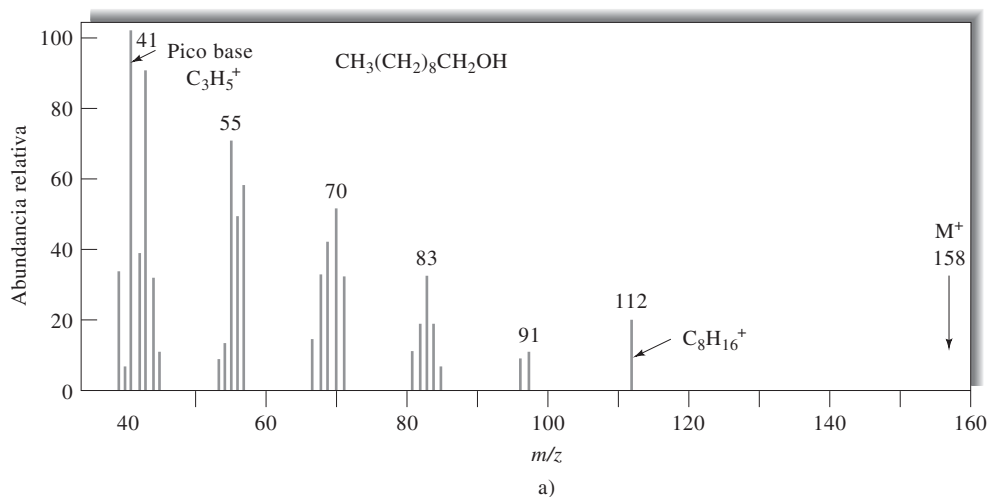


FIGURA 20.2 Espectro de masas del 1-decanol: a) con una fuente dura (impacto de electrones) y b) con una fuente blanda (ionización química).

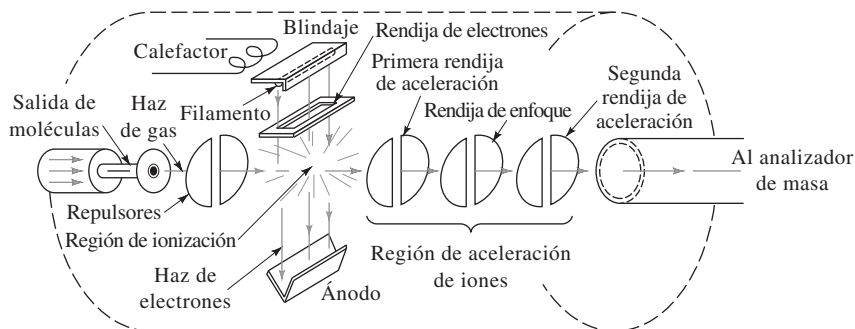
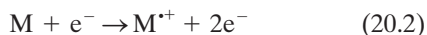


FIGURA 20.3 Fuente de iones por impacto de electrones. (Adaptación de R. M. Silverstein y F. X. Webster, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6a. ed., p. 4, Nueva York: Wiley, 1998. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

perder electrones por repulsión electrostática. La ionización por impacto de electrones no es muy eficaz, y sólo alrededor de una molécula entre un millón experimenta la reacción principal



Donde, M representa la molécula de analito y M^{*+} es su ion. Los iones positivos producidos por el choque de electrones son atraídos a través de la rendija hacia la primera placa de aceleración mediante una pequeña diferencia de potencial (por lo regular 5 V) que se aplica entre esta placa y las placas repulsoras que se muestran en la figura 20.3. En los instrumentos de sector magnético se aplican a las placas aceleradoras potenciales elevados (10^3 a 10^4 V) que permiten a los iones alcanzar sus velocidades finales antes de entrar en el analizador de masas. Las fuentes comerciales para impacto de electrones son más complejas que la que se muestra en la figura 20.3, y pueden utilizarse campos electrostáticos o magnéticos adicionales para manipular el haz de electrones o de iones. En el ejemplo 20.1 se calcula la energía cinética característica que se produce en una fuente de impacto de electrones.

EJEMPLO 20.1

a) Calcule la energía cinética que adquiriría un ion con una sola carga ($z = 1$) si fuese acelerado mediante un potencial de 10^3 V en una fuente de impacto de electrones. b) ¿La energía cinética de este ion depende de su masa? c) ¿La velocidad del ion depende de su masa?

Solución

a) La energía cinética (EC) suministrada al ion se debe al potencial de aceleración V y viene dado por la ecuación

$$EC = qV = zeV$$

donde e es la carga del electrón (1.6×10^{-19} coulombs). Por tanto, para $z = 1$

$$EC = 1 \times 1.6 \times 10^{-19} \text{ C} \times 10^3 \text{ V} = 1.6 \times 10^{-16} \text{ J}$$

b) La energía cinética que adquiere un ion en la fuente es independiente de su masa y sólo depende de su carga y del potencial de aceleración.
c) El componente de traslación de la energía cinética de un ion es función de la masa m del ion y de su velocidad v tal como lo indica la ecuación

$$EC = (1/2)mv^2 \quad \text{o bien,} \quad v = (2 EC/m)^{1/2}$$

Por consiguiente, si todos los iones adquieren la misma cantidad de energía cinética, los iones con masas mayores deben tener velocidades menores.

Espectros de masas por impacto de electrones

Con el objetivo de formar una cantidad importante de iones gaseosos en una proporción reproducible, es necesario que los electrones generados por el filamento de la fuente sean acelerados mediante un potencial mayor a unos 50 V. La pequeña masa y la alta energía cinética de los electrones resultantes producen pequeños aumentos en la energía de traslación de las moléculas contra las que chocan. En consecuencia las moléculas adquieren estados vibracionales y rotacionales altamente excitados. Por lo regular, la relajación posterior tiene lugar mediante una elevada fragmentación que origina un gran número de iones positivos de diferentes masas menores que la del ion molecular (en ocasiones son mayores a causa de los choques). Estos iones de masas más bajas se llaman *iones hijas*. En la tabla 20.2 se muestran algunas reacciones de fragmentación características que se producen después de la formación, por impacto de electrones, de un ion progenitor a partir de una molécula hipotética ABCD. En el ejemplo 20.2 se calcula la energía cinética de electrones acelerados a través de una diferencia de potencial de 70 V.

EJEMPLO 20.2

a) Calcule la energía en J/mol que adquieren los electrones como resultado de ser acelerados por un potencial de 70 V. b) Compare esta energía con la de un enlace químico común

Solución

a) La energía cinética (EC) de un electrón individual es igual al producto de la carga del electrón e por el potencial V mediante el cual ha sido acelerado. Al multiplicar la energía cinética de un único electrón por el número de Avogadro, N , se obtiene la energía por mol:

$$\begin{aligned} EC &= eVN \\ &= (1.60 \times 10^{-19} \text{ C/e}^-)(70 \text{ V})N \\ &= (1.12 \times 10^{-17} \text{ CV/e}^-)(6.02 \times 10^{23} \text{ e}^-/\text{mol}) \\ &= 6.7 \times 10^6 \text{ J/mol} \quad \text{o bien,} \quad 6.7 \times 10^3 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

b) Las energías de enlace típicas se sitúan en el intervalo de 200 a 600 kJ/mol. Por tanto, un electrón que ha sido acelerado con 70 V posee por lo general una energía mucho mayor que la necesaria para romper un enlace químico.

TABLA 20.2 Algunas reacciones características en una fuente de impacto con electrones.

Formación del ion de la molécula	$ABCD + e^- \rightarrow ABCD^{*+} + 2e^-$
Fragmentación	$ABCD^{*+} \rightarrow A^+ + BCD^{\bullet}$ $\quad \quad \quad \rightarrow A^{\bullet} + BCD^+$ $\quad \quad \quad \rightarrow CD^{\bullet} + AB^+$ $\quad \quad \quad \rightarrow AB^{\bullet} + CD^+$
Reacomodo seguido de fragmentación	$ABCD^{*+} \rightarrow ADBC^{*+} \rightarrow \begin{cases} BC^{\bullet} + AD^+ \\ AD^{\bullet} + BC^+ \end{cases}$
Colisión seguida de fragmentación	$ABCD^{*+} + ABCD \rightarrow (ABCD)_2^{*+} \rightarrow BCD^{\bullet} + ABCDA^+$

Los complejos espectros de masas que se obtienen en la ionización por impacto de electrones son útiles para la identificación de compuestos. Por otra parte, en cierto tipo de moléculas la fragmentación es tan efectiva que no queda ningún ion molecular. Sin ningún ion de la molécula, se pierde información importante para determinar la masas molecular del analito. En la figura 20.4 se pueden ver los espectros representativos obtenidos mediante impacto de electrones de dos moléculas orgánicas sencillas: el cloruro de metileno y el 1-pentanol. Observe que en cada uno de los espectros el pico base corresponde a un fragmento de la molécula que tiene una masas significativamente menor que la masas molecular del compuesto original. En el caso del cloruro de metileno, el pico base aparece a una relación masas-carga m/z de 49, que corresponde a la pérdida de un átomo de Cl. Para el 1-pentanol, el pico base se encuentra a una m/z de 44, que es la del ion hijo CH_2CHOH^+ . En los espectros de impacto de electrones, los picos base casi siempre corresponden a fragmentos como éstos y no al ion molecular.

El pico del ion molecular aparece en una masas correspondiente a la masas molecular del analito. Por tanto, se observan picos de ion molecular a $m/z = 84$ para el cloruro de metileno y $m/z = 88$ para el 1-pentanol. Naturalmente, el pico del ion molecular es de gran importancia para determinar las estructuras, ya que el valor de m/z proporciona la masas molecular del analito. Por desgracia, no siempre es posible identificar el pico del ion molecular. De hecho, ciertas moléculas no dan un pico de ion molecular cuando se realiza una ionización por impacto de electrones (véase figura 20.2a).

Picos de los isótopos

Es interesante señalar que en los espectros que se muestran en las figuras 20.1 y 20.4 aparecen picos que corresponden a relaciones masas-carga mayores que la del ion molecular. Estos picos se pueden atribuir a iones

que tienen la misma fórmula química pero diferentes composiciones isotópicas. Por ejemplo, para el cloruro de metileno, las especies isotópicas más importantes son $^{12}C^1H_2^{35}Cl_2$ ($M = 84$), $^{13}C^1H_2^{35}Cl_2$ ($M = 85$), $^{12}C^1H_2^{35}Cl^{37}Cl$ ($M = 86$), $^{13}C^1H_2^{35}Cl^{37}Cl$ ($M = 87$) y $^{12}C^1H_2^{37}Cl_2$ ($M = 88$), donde M es la masas molecular. Los picos de cada una de estas especies se pueden ver en la figura 20.4a. El tamaño de los diferentes picos depende de la abundancia relativa natural de los isótopos. En la tabla 20.3 se enumeran los isótopos más comunes de los átomos que suelen aparecer en los compuestos orgánicos. Hay que señalar que flúor, fósforo, yodo y sodio aparecen sólo como isótopos únicos.

En la figura 20.1, el pequeño pico del etilbenceno a m/z de 107 se debe a la presencia de ^{13}C en alguna de las moléculas. Las intensidades de los picos debidas a la incorporación de dos o más átomos de ^{13}C en el etilbenceno se predicen con buena precisión, pero son tan pequeñas que son indetectables debido a la baja probabilidad de que haya más de un átomo de ^{13}C en una molécula de tamaño pequeño. Como se explica en la sección 20D.1, los picos de los isótopos proporcionan a menudo un medio útil para determinar la fórmula de un compuesto.

Picos resultantes de las colisiones

Los choques ion-molécula, como los que muestra la última ecuación de la tabla 20.2, tienen la aptitud de producir picos que corresponden a masas más elevadas que la del ion molecular. Sin embargo, a presiones normales de la muestra, la única reacción importante de este tipo es aquella en la que, por medio de las colisiones, se transfiere un átomo de hidrógeno al ion para dar un ion molecular protonado. El resultado es un pico intenso $(M + 1)^+$. Esta transferencia es una reacción de segundo orden y la cantidad de producto depende en gran medida de la concentración de reactivo. Por consiguiente, con el incremento de la presión de la muestra, la altura de un pico $(M + 1)^+$ ocasionado por esta reacción aumenta con mayor rapidez que las alturas de los otros picos. Por lo regular, este fenómeno-



Clase interactiva: aprenda más acerca de las fuentes para **espectrometría de masas**.

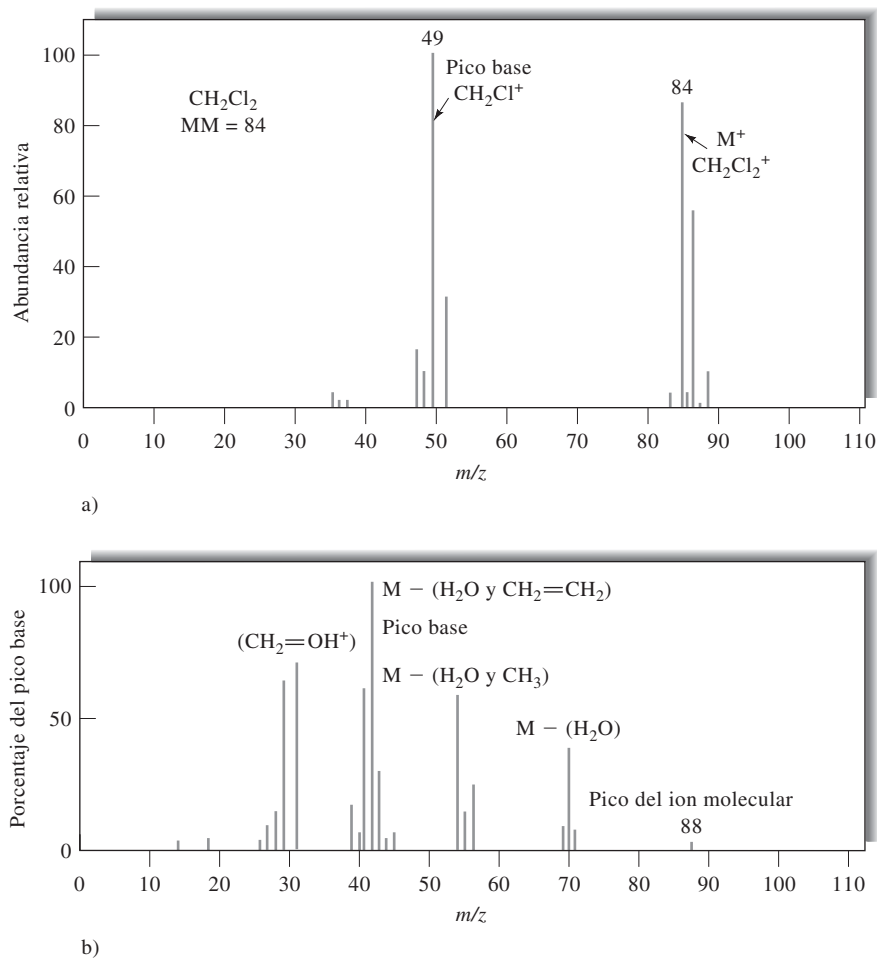


FIGURA 20.4 Espectros de masas por impacto de electrones del a) cloruro de metileno y b) 1-pentanol.

TABLA 20.3 Abundancia natural de los isótopos de los elementos más frecuentes.

Elemento ^a	Isótopo más abundante	Abundancia de otros isótopos respecto a 100 partes del más abundante ^b	
Hidrógeno	¹ H	² H	0.015
Carbono	¹² C	¹³ C	1.08
Nitrógeno	¹⁴ N	¹⁵ N	0.37
Oxígeno	¹⁶ O	¹⁷ O	0.04
		¹⁸ O	0.20
Azufre	³² S	³³ S	0.80
		³⁴ S	4.40
Cloro	³⁵ Cl	³⁷ Cl	32.5
Bromo	⁷⁹ Br	⁸¹ Br	98.0
Silicio	²⁸ Si	²⁹ Si	5.1
		³⁰ Si	3.4

^aFlúor (¹⁹F), fósforo (³¹P), sodio (²³Na) y yodo (¹²⁷I) no tienen más isótopos presentes en la naturaleza.

^bLos valores numéricos indican el número promedio de átomos isotópicos presentes por cada 100 átomos del isótopo más abundante; entonces, por cada 100 átomos de ¹²C habrá un promedio de 1.08 átomos de ¹³C.

no permite detectar esta reacción de transferencia de átomos.

Ventajas e inconvenientes de las fuentes por impacto de electrones

Estas fuentes son adecuadas para el uso y producción de corrientes de iones elevadas, con lo que se obtienen buenas sensibilidades. La extensa fragmentación y la consecuente elevada cantidad de picos son también una ventaja, ya que a menudo permite identificaciones inequívocas de los posibles analitos. Pero esta extensa fragmentación puede ser también un inconveniente cuando da lugar a la desaparición del pico del ion molecular, porque no se puede establecer con facilidad la masas molecular del analito. Otra limitación de este tipo de fuentes es la necesidad de volatilizar la muestra, lo cual podría ocasionar la degradación térmica de algunos analitos antes de que se produzca la ionización. Los efectos de la descomposición térmica se pueden minimizar a veces efectuando la volatilización en una sonda caliente que se instala cerca de la rendija de entrada del espectrómetro. Cuanto menor es la presión en el área de la fuente, tanto más baja es la temperatura a la que se produce la volatilización. Además la descomposición térmica se realiza en menos tiempo. Como ya se comentó, las fuentes de impacto con electrones son sólo aplicables a analitos cuyas masas moleculares están por debajo de alrededor de 10^3 Da.

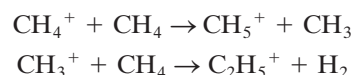
20B.2 Fuentes y espectros de ionización química

Los espectrómetros de masas más modernos están diseñados de modo que la ionización mediante el impacto de electrones y la ionización química se puedan efectuar en forma intercambiable. Estas fuentes reciben el nombre de fuentes IE-IC. En la ionización química, los átomos gaseosos de la muestra (derivados de una entrada indirecta o de una sonda caliente) se ionizan al chocar con los iones que se producen al bombardear con electrones un exceso de gas reactivo. Por lo regular se utilizan iones positivos, aunque la ionización química de iones negativos se utiliza a veces en aquellos analitos que contienen átomos muy electronegativos. La ionización química es quizá el segundo de los procedimientos que más se utilizan para producir iones en espectrometría de masas.³

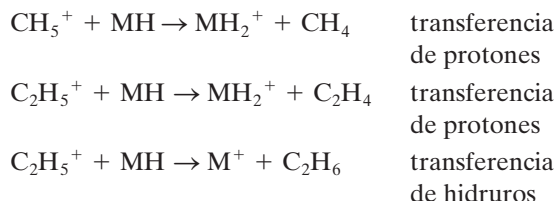
Para llevar a cabo experimentos mediante ionización química es necesario modificar la zona de ionización del haz de electrones, que se muestra en la figura 20.3, al incrementar la capacidad de la bomba de vacío y reducir la anchura de la rendija que conduce al analizador de masas. Estas medidas permiten man-

tener una presión del reactivo de alrededor de 1 torr en el área de ionización mientras en el analizador se conserva una presión por debajo de 10^{-5} torr. Con estos cambios se introduce un reactivo gaseoso en la región de ionización en una cantidad tal que la relación de concentración entre el reactivo y la muestra sea de 10^3 a 10^4 . Debido a esta gran diferencia de concentración, el haz de electrones reacciona casi exclusivamente con las moléculas de reactivo.

Uno de los reactivos más comunes es el metano, que reacciona con electrones de energía elevada para producir varios iones como CH_4^+ , CH_3^+ y CH_2^+ . Los dos primeros predominan y representan alrededor de 90% de los productos de reacción. Estos iones reaccionan rápidamente con moléculas de metano adicionales como sigue:



Por lo general los choques entre la molécula del analito MH y CH_5^+ o C_2H_5^+ son muy reactivos y ocasionan la transferencia de protones o de hidruros. Por ejemplo,



Observe que las reacciones de transferencia de protones dan el ion $(\text{MH} + 1)^+$ y que la transferencia de hidruros produce un ion con una masas una unidad inferior a la del analito, es decir, el ion $(\text{MH} - 1)^+$. En algunos compuestos también se encuentra un pico $(\text{MH} + 29)^+$ que resulta de la transferencia de un ion C_2H_5^+ al analito. Una gran variedad de reactivos, entre ellos propano, isobutano y amoníaco, se utilizan para la ionización química. Cada uno de ellos produce un espectro diferente con el mismo analito.

En la figura 20.2 se comparan los espectros de ionización química y por impacto de electrones para el 1-decanol. El espectro por impacto de electrones (figura 20.2a) pone de manifiesto la elevada y rápida fragmentación del ion molecular. Por consiguiente, no se ven picos detectables por encima de la masas de 112, que corresponde al ion $\text{C}_8\text{H}_{16}^+$.

El pico base lo proporciona el ion C_3H_5^+ que corresponde a una masas de 41. Otros picos para varias especies C_3 se agrupan alrededor del pico base. Una serie similar de picos que aparecen a 14, 28 y 42 unidades de masas superiores, corresponden a los iones con uno, dos y tres grupos CH_2 adicionales.

³Para mayor información consulte A. Harrison, *Chemical Ionization Mass Spectrometry*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1983.

Respecto al espectro por impacto de electrones, el de ionización química que se muestra en la figura 20.2b es mucho más sencillo y consta del pico $(M - 1)^+$ un pico base que corresponde al ion molecular que ha perdido un grupo OH y una serie de picos que difieren entre sí por 14 unidades de masas. Como en el espectro por impacto de electrones, estos picos surgen de los iones formados por rotura de los enlaces carbono-carbono adyacentes. Como ya se dijo, los espectros de ionización química contienen por lo general picos $(M + 1)^+$ o $(M - 1)^+$ bien definidos que resultan de la adición o sustracción de un protón en presencia del ion reactivo.

20B.3 Fuentes de ionización por campo y espectros

En las fuentes de *ionización por campo*, los iones se forman por la influencia de un campo eléctrico elevado (10^8 V/cm). Esos campos se generan al aplicar voltajes elevados (10 a 20 kV) a emisores especialmente contruidos, que están formados por numerosas puntas finas cuyos diámetros son menores a 1 μm . A menudo, estos emisores adquieren la forma de un hilo fino de wolframio (~ 10 μm de diámetro) en el cual se han for-

mado dendritas o filamentos microscópicos de carbono por *pirólisis* de benzonitrilo en un campo eléctrico elevado. El resultado de este tratamiento es la aparición de centenares de microagujas de carbono que emergen de la superficie del hilo como se puede apreciar en la microfotografía de la figura 20.5.

Los emisores de ionización por campo se colocan a una distancia de 0.5 a 2 mm del cátodo, el cual a menudo también sirve de rendija. La muestra gaseosa procedente de un sistema de entrada indirecto se puede difundir hacia el área de campo elevado, alrededor de las microagujas del ánodo. El campo eléctrico se concentra en las agujas emisoras y la ionización se produce por un mecanismo de efecto túnel de mecánica cuántica en el que los electrones del analito son extraídos por las microagujas del ánodo. El analito adquiere poca energía vibracional y rotacional, por lo que hay poca fragmentación.

La figura 20.6 muestra los espectros obtenidos para el ácido glutámico por a) ionización por impacto de electrones y b) ionización por campo. En el espectro por impacto de electrones, el pico del ion progenitor a una $m/z = 147$ no es detectable. El mayor pico observable ($m/z = 129$) se debe a que el ion molecular pierde agua. El pico base a $m/z = 84$ se obtiene a partir de la pérdida de agua además de un grupo $-\text{COOH}$. A masas más bajas aparecen también otros muchos fragmentos. En cambio, el espectro de ionización por campo es relativamente sencillo, con un pico fácilmente distinguible $(M + 1)^+$ que corresponde a $m/z = 148$.

Una limitación de la ionización por campo es su sensibilidad, que es al menos un orden de magnitud inferior a la de las fuentes de impacto por electrones; las corrientes máximas son del orden de 10^{-11} A.

20B.4 Fuentes de desorción

Los métodos de ionización descritos hasta este punto requieren que los agentes de ionización actúen sobre muestras gaseosas. Dichos métodos no son aplicables a muestras no volátiles o térmicamente inestables. Se ha perfeccionado una cantidad de métodos de *ionización por desorción* para estudiar este tipo de muestras (véase la tabla 20.1). Estos métodos permiten obtener espectros de masas de especies bioquímicas térmicamente delicadas y de especies que tienen masas moleculares superiores a 100 000 Da.

Los métodos de desorción prescinden de la volatilización y de la posterior ionización de la molécula de analito. En ellos se suministra energía a la muestra sólida o líquida de diversas maneras, de modo que se provoca la formación directa de iones gaseosos. Por consiguiente, se obtienen espectros muy simplificados



FIGURA 20.5 Microfotografía de un emisor de microagujas de carbono. (Cortesía de R. P. Lattimer, BF Goodrich Research and Development Center.)

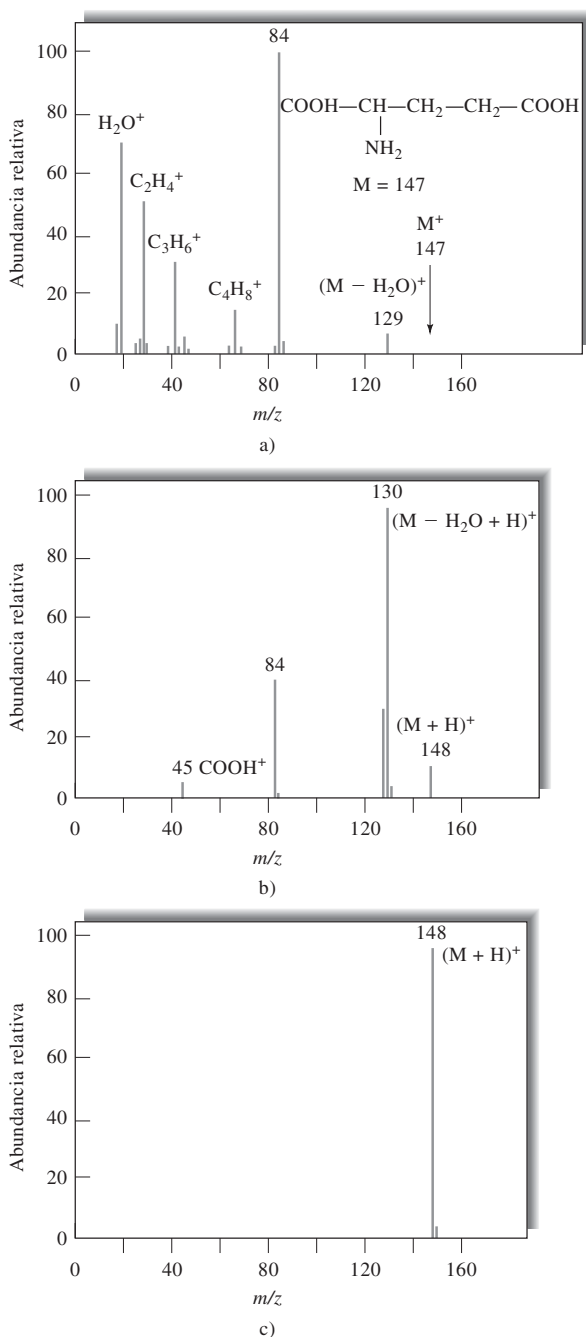


FIGURA 20.6 Espectros de masas del ácido glutámico: a) por ionización mediante impacto de electrones; b) ionización por campo, y c) desorción por campo. (Tomado de H. D. Beckey, A. Heindrich y H. U. Winkler, *Int. J. Mass Spec. Ion Phys.*, **1970**, 3, App. 11. Con autorización.)

y, a menudo, consisten sólo del ion molecular o del ion molecular protonado. En la mayoría de los casos se desconoce el procedimiento exacto por medio del cual se producen los iones sin fragmentación.

Fuentes de desorción por campo

En la desorción por campo se emplea un emisor con múltiples puntas, similar al que se usa en las fuentes de ionización por campo.⁴ En este caso, el electrodo se coloca sobre una sonda que puede retirarse del compartimiento de la muestra y revestirse con una solución de la muestra. Después de reinsertar la sonda en el compartimiento de la muestra, otra vez se produce la ionización al aplicar un voltaje elevado a este electrodo. En algunas muestras es necesario calentar el emisor haciendo pasar una corriente por el alambre. Por consiguiente, puede haber una degradación térmica antes de completarse la ionización.

En la figura 20.6c se presenta un espectro de desorción por campo del ácido glutámico. Es incluso más sencillo que el espectro de ionización por campo y consta de tan sólo el pico del ion molecular protonado a $m/z = 148$ y el pico de un isótopo a $m/z = 149$.

Desorción-ionización por láser con ayuda de una matriz

La espectrometría de desorción-ionización por láser con ayuda de una matriz (MALDI, por sus siglas en inglés)⁵ es un método de ionización nuevo que permite obtener información exacta sobre las masas moleculares de biopolímeros polares que varían desde algunos miles a varios cientos de miles de daltons. El método fue descrito casi de manera simultánea por primera vez en 1988 por dos grupos de investigación, uno alemán y otro japonés.⁶ Ya hay instrumentos comerciales para esta técnica.⁷

En la técnica MALDI una baja concentración del analito se dispersa de manera uniforme en una matriz sólida o líquida que está depositada en el extremo de una sonda de acero inoxidable, o colocada en una placa de metal. Esta última se coloca luego en una cámara de vacío y un rayo láser se enfoca sobre la muestra. Además de la MALDI con cámara de vacío ordinaria, también se ha descrito una que trabaja a presión atmosférica.⁸ La matriz para MALDI debe absorber de manera intensa la radiación láser. Después, la matriz y el analito son desorbidos y ionizados, lo que produce un penacho de iones. Todo el proceso se ilustra en la

⁴Véase L. Prakai, *Field Desorption Mass Spectrometry*, Nueva York: Marcel Dekker, 1990; R. P. Lattimer y H. R. Schulten, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 1201A.

⁵Mayor información en C. Dass, *Principles and Practice of Biological Mass Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 2001; J. R. Chapman, *Mass Spectrometry of Proteins and Peptides*, Totowa, NJ: Humana Press, 2000.

⁶Véase M. Karas y F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 2299; K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida y T. Yoshida, *Rapid Commun. Mass Spectrosc.*, **1988**, 2, p. 151; F. Hillenkamp, M. Karas y B. T. Chait, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, p. 1193A.

⁷Véase D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 497A.

⁸Véase S. G. Moyer y R. J. Cotter, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 489A.

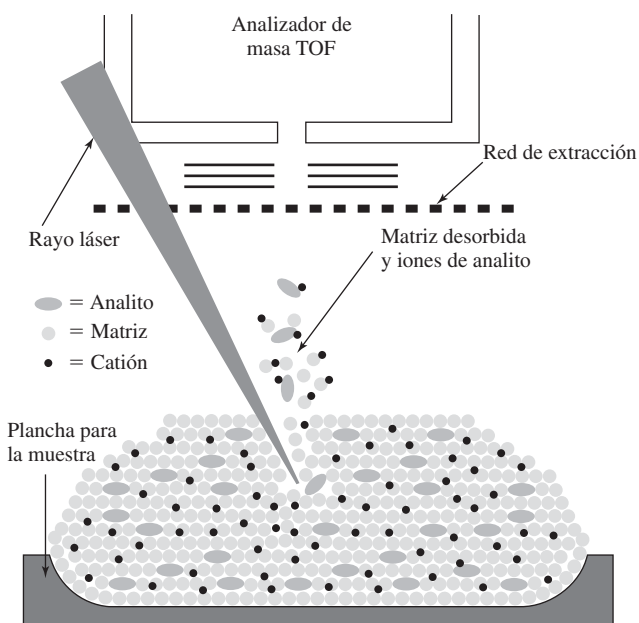


FIGURA 20.7 Diagrama del proceso MALDI. El analito se dispersa de manera uniforme en una matriz que se coloca en una plancha metálica para muestras. Un rayo láser de pulsos choca contra la muestra y ocasiona la desorción de un penacho de matriz, analito y otros iones. El analito puede estar protonado, desprotonado o formar aductos antes de entrar en el analizador TOF.

figura 20.7. El tipo más común de analizador de masas que se usa con MALDI es el denominado de tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en inglés). Un espectro de masas obtenido con un instrumento MALDI-TOF se muestra en la figura 20.8. En este caso, el material de la matriz es ácido nicotínico y el analito es un anticuerpo monoclonal de un ratón, su masas molecular es de alrededor de 150 000 Da. Observe que el espectro se caracteriza por un ruido de fondo muy bajo y la carencia absoluta de fragmentación del ion analito grande. Están presentes múltiples iones cargados así como picos de especies con dímeros y trímeros.

El mecanismo de la formación del penacho de iones en MALDI no se entiende aún por completo, pero las opiniones dicen que tiene que ver con la absorción del rayo láser por parte de la matriz seguida de la transferencia de energía desde la matriz al analito. Después se produce la desorción del analito y la matriz. Se supone que el analito desorbe como moléculas neutras, luego se ionizará por medio de reacciones de transferencia de protones. Estas reacciones se efectúan con iones protonados en la matriz y en una fase densa sobre la superficie en la que está la matriz. Es posible que una serie de reacciones fotoquímicas produzca los iones de matriz protonados.

En la tabla 20.4 se enlistan algunos de los materiales para la matriz que se utilizan en las biomoléculas junto con las longitudes de rayo láser que se han utilizado. Entre los rayos láser empleados se incluyen nitrógeno (337 nm), Nd-YAG (266 y 355 nm), excímero (308 nm), Er-YAG (2.94 μm) y CO_2 (10.6 μm).

El método más común para preparar la muestra es la técnica de la gota seca, en la cual una gotita de la matriz con el analito se deposita en la plancha metálica y luego se seca. Por lo regular, la relación entre analito y matriz es $1:10^3$ a $1:10^5$. Las concentraciones de analito están casi siempre en una escala de micromoles.

Ionización por electronebulización

La espectrometría de masas con ionización por electronebulización, descrita por primera vez en 1984, se convirtió en una de las técnicas más importantes para el análisis de biomoléculas, como polipéptidos, proteínas y oligonucleótidos cuyas masas moleculares son de 100 000 Da o superiores.⁹ Además, este método ha empezado a tener más y más aplicación en la identificación de especies inorgánicas y polímeros de síntesis. Por el perfeccionamiento de los métodos blandos de desorción-ionización, como la ionización por electronebulización, John B. Fenn de la Virginia Commonwealth University y Koichi Tanaka de Shimadzu compartieron el Premio Nobel de Química en el año 2002.

La ionización por electronebulización se efectúa en condiciones de presión atmosférica y temperatura ambiente en un instrumento como el que se muestra en la figura 20.9. La disolución de la muestra se bombea a través de una aguja capilar de acero inoxidable a razón de algunos microlitros por minuto. La aguja se mantiene a un potencial de varios kilovoltios respecto al electrodo cilíndrico que la rodea. La niebla de finas gotitas cargadas resultante pasa después por un capilar de desolvatación, donde se produce la evaporación del solvente y donde las moléculas del analito adquieren la carga. Debido a que las gotitas se vuelven más pequeñas por efecto de la evaporación del solvente, su densidad de carga aumenta hasta que la tensión superficial ya no puede soportar la carga en un punto llamado *límite de Rayleigh*. Aquí sucede la llamada *explosión de Coulomb* y la gotita se divide en pequeñísimas gotitas. El proceso se repite en éstas hasta que el solvente es

⁹Para información adicional consulte B. N. Pramanik, A. K. Ganguly y M. L. Gross, *Applied Electrospray Mass Spectrometry*, Nueva York: Marcel Dekker, 2002; *Electrospray Ionization: Fundamentals, Instrumentation, and Applications*, R. B. Cole, ed., Nueva York: Wiley, 1997; J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., Filadelfia: Lippincott-Raven, 1997; J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong y C. M. Whitehouse, *Science*, **1989**, 246, p. 64.

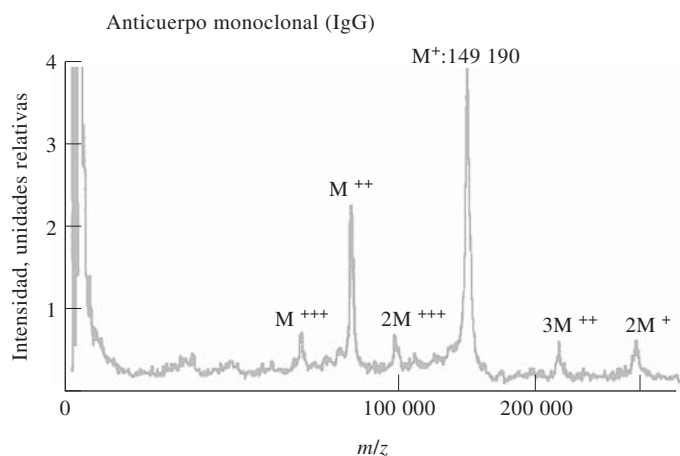


FIGURA 20.8 Espectro obtenido con MALDI-TOF de una matriz de ácido nicotínico irradiada con un haz láser de 266 nm. (Tomado de M. Karas y U. Bahr, *Trends Anal. Chem. (TRAC)*, **1990**, 9, p. 323.)

TABLA 20.4 Matrices de uso más frecuente en MALDI, junto con las longitudes de onda utilizadas.

Matriz	Analitos	Longitud de onda, nm
Nitropiridinas:		
2-Amino-4-metil-5-nitropiridina	Proteínas, oligonucleótidos	355
2-Amino-5-nitropiridina	Oligonucleótidos	355
Ácido nicotínico	Proteínas, glucoproteínas, oligonucleótidos	266, 220–290
Derivados del ácido benzoico:		
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	Proteínas	266, 337, 355, 2940
Ácido vanílico	Proteínas	266
Ácido 2-aminobenzoico	Proteínas	266, 337, 355
Ácido benzoico 2-(4-hidroxifenilazo)	Proteínas, gangliósidos, polímeros	266, 377
Ácido 2-piracina-carboxílico	Proteínas	266
Ácido 3-aminopiracina-2-carboxílico	Proteínas	337
Derivados del ácido cinámico:		
Ácido ferúlico	Proteínas, oligonucleótidos	266, 337, 355, 488
Ácido sinapínico	Proteínas, polímeros industriales	337, 355
Ácido cafeico	Proteínas, oligonucleótidos	266, 337, 355, 10 600
Ácido α -ciano-4-hidroxicinámico	Proteínas, oligosacáridos	337
Alcohol 3-nitrobenílico	Proteínas	266
Alcohol 3-nitrobenílico con rodamina 6G	Proteínas	532
Alcohol 3-nitrobenílico con 1,4-difenil-1,3-butadieno	Proteínas	337
Ácido 3-hidroxipicolínico	Oligonucleótidos, glucoproteínas	266, 308, 355
Ácido succínico	Proteínas	2940, 10 600

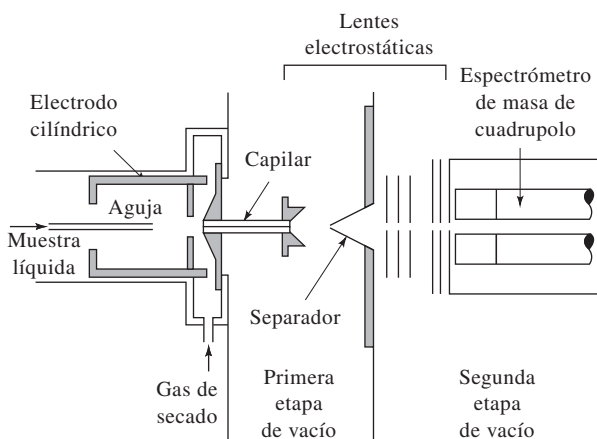


FIGURA 20.9 Instrumento para ionización por electronebulización. (Tomado de J. B. Fenn., *Science*, **1989**, 65, p. 246. Reimpreso con autorización.)

eliminado del analito; entonces sólo quedará una molécula del analito con múltiples cargas.

Una característica muy interesante y útil del proceso de electronebulización es la pequeña fragmentación que se produce en biomoléculas grandes y térmicamente frágiles, causada por una pequeña cantidad de energía extra que retiene el analito en la ionización. Además, los iones que se forman son de carga múltiple y los valores de m/z son suficientemente bajos para poder ser detectables con un instrumento de cuadrupolo con un alcance de 1500 o menos.¹⁰ Esta importante propiedad se demuestra con los espectros de masas de cuatro proteínas de distintas masas moleculares (M) que se muestran en la figura 20.10. En ellos, los picos adyacentes corresponden a los iones del analito que difieren en una carga. Un hecho notable en los espectros de proteínas como los de la figura, es que la carga promedio se incrementa en forma casi lineal con la masas molecular. El estado de la carga que corresponde a cada pico se puede determinar a partir de la distribución de dichos picos, por lo que es posible calcular la masas molecular de una proteína a partir de espectros como los que se muestran en la figura 20.10.

Una característica importante de la ionización por electronebulización es que se adapta con facilidad a la introducción directa de la muestra desde una columna de cromatografía para líquidos de alta resolución o de electroforesis capilar. Estas aplicaciones se tratan en los capítulos 28 y 30. Pero como hay poca fragmentación del analito, descubrir la estructura es una tarea difícil. Por lo regular, la espectrometría de masas en tándem (véase sección 20C.5) se utiliza para este ob-

jetivo. En este caso, los iones del proceso de ionización original se separan y el ion de interés se somete a la etapa de fragmentación antes de que se analice la masas.

Fuentes de bombardeo con átomos rápidos

Las fuentes de bombardeo con átomos rápidos (FAB por sus siglas en inglés), también conocidas como fuentes líquidas de iones secundarios, han adquirido un papel importante en la producción de iones para el estudio de especies polares de elevada masas molecular mediante espectrometría de masas.¹¹ Con este tipo de fuentes, las muestras en un estado condensado, a menudo en una matriz de una solución viscosa, se ionizan mediante un bombardeo con átomos de xenón o argón de elevada energía (varios kV). Tanto los iones positivos como los negativos del analito son expulsados de la superficie de la muestra por un proceso de desorción. Este tratamiento ocasiona un calentamiento muy rápido de la muestra, lo que reduce su fragmentación. La matriz líquida ayuda a reducir la energía de la red, la cual debe ser superada para desorber un ion de la fase condensada y provee un medio para “reparar” el daño inducido por el bombardeo. Entre las matrices más satisfactorias están el glicerol, el tioglicerol, *m*-nitrobenzilalcohol, éteres corona (18-corona-6), sulfonlano, 2-nitrofeniloctil-éter, dietanolamina y trietanolamina.

El haz de átomos rápidos se obtiene haciendo pasar iones acelerados de argón o xenón de una fuente o cañón de iones a través de una cámara que contiene átomos de argón o de xenón a una presión de alrededor de 10^{-5} torr. Los iones a elevada velocidad experimentan una reacción de intercambio de electrones en resonancia con los átomos, sin que se produzca una pérdida sustancial de energía traslacional. Por consiguiente, se forma un haz de átomos de alta energía. Los iones de baja energía que resultan del intercambio se eliminan con rapidez mediante un sistema de desviación electrostática. En la actualidad hay cañones comerciales de átomos rápidos de diversos fabricantes y los espectrómetros modernos cuentan entre sus accesorios con fuentes para el bombardeo con átomos rápidos.

Cuando el bombardeo con átomos rápidos se aplica a compuestos orgánicos o bioquímicos por lo regular se producen cantidades importantes de iones moleculares, así como fragmentos de iones, incluso para muestras de elevada masas molecular y térmicamente inestables. Por ejemplo, mediante el bombardeo con átomos rápidos se han determinado masas moleculares por arriba de 10 000 Da y se ha obtenido información estructural detallada para compuestos con masas mo-

¹⁰Para una descripción de espectrómetros comerciales, específicamente diseñados para ionización por electronebulización, véase L. Vorees, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 481A. Para espectrómetros que combinan electronebulización con analizadores de masas TOF, véase C. M. Henry, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 197A.

¹¹Para mayor información consulte J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3a. ed., Filadelfia: Lippincott-Raven, 1997, capítulo 9; K. Biemann, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 1288A.

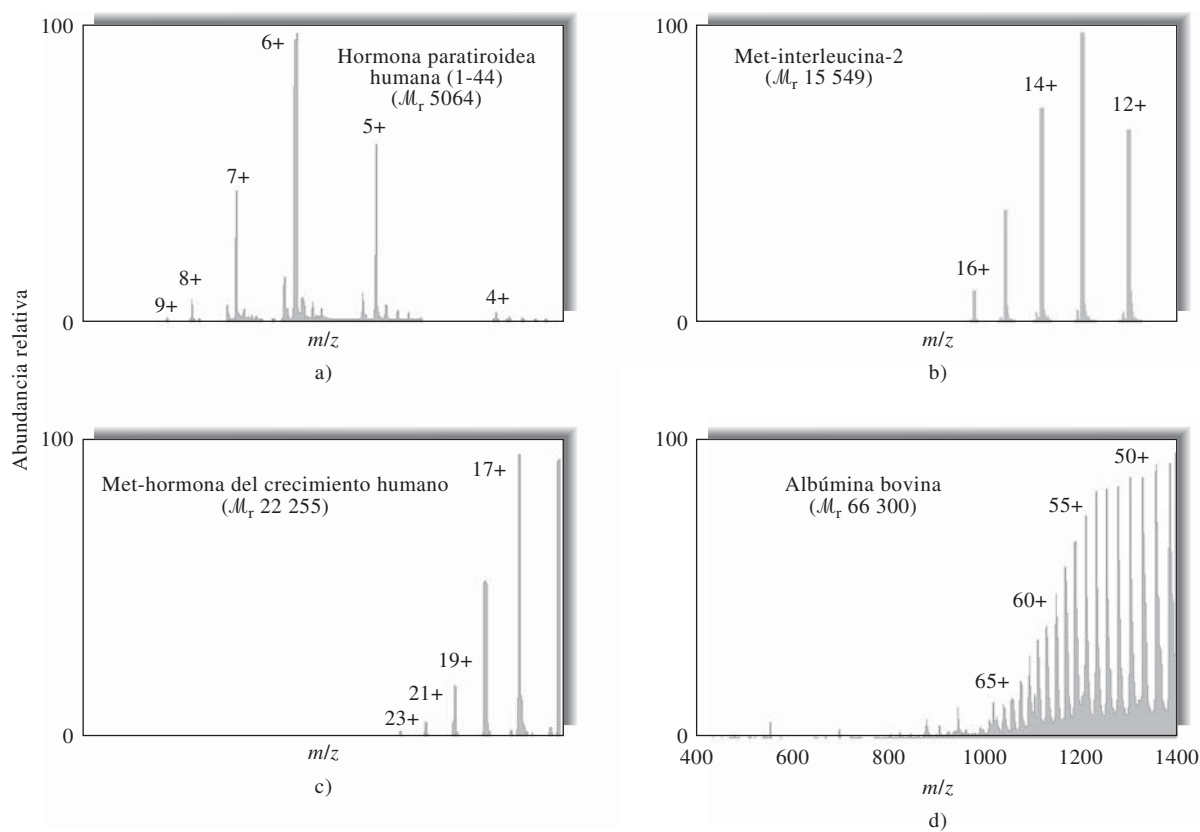


FIGURA 20.10 Espectros de masas por electronebulización característicos de proteínas y péptidos. Los números situados encima de los picos indican la carga molecular asociada con cada pico. (Tomado de R. D. Smith y col., *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 882. Copyright 1990 American Chemical Society.)

leculares del orden de 3000 Da. Entre las desventajas del bombardeo con átomos rápidos están los valores restringidos de las masas moleculares, la necesidad de cantidades de muestra mayores para la ionización por choque de electrones, la necesidad de hallar una matriz apropiada en la que el analito sea soluble y el ruido de referencia que resulta de la formación de acumulaciones de iones procedentes de la matriz.

Otros métodos de desorción

Un examen de la tabla 20.1 revela que son posibles otros métodos de desorción. Por lo general, éstos producen espectros de naturaleza similar a la de los métodos de desorción descritos y tienen aplicación más limitada.

20C ESPECTRÓMETROS DE MASAS

En la actualidad se utilizan diversos tipos de instrumentos para realizar las mediciones con la espectrometría de masas molecular. Dos de ellos, el espectrómetro de

cuadrupolo y el espectrómetro de tiempo de vuelo ya se describieron con detalle en las secciones 11B.2 y 11B.3. En este apartado se estudian otros tipos de espectrómetros de masas comunes.

20C.1 Descripción general de los componentes del instrumento

El diagrama de bloques de la figura 20.11 muestra los componentes principales de los espectrómetros de masas. El objetivo del sistema de entrada es introducir una pequeña cantidad de muestra (una micromol o menos) en el espectrómetro de masas, donde sus componentes se convierten en iones gaseosos. A menudo, el sistema de entrada dispone de un medio para la volatilización de muestras sólidas o líquidas.

Las fuentes de iones de los espectrómetros de masas, que se estudiaron con detalle en la sección anterior y en el capítulo 11, transforman los componentes de una muestra en iones. En muchos casos el sistema de entrada y la fuente de iones están combinados en un único componente. En todos los casos se obtiene una corriente de iones positivos o negativos (casi siempre

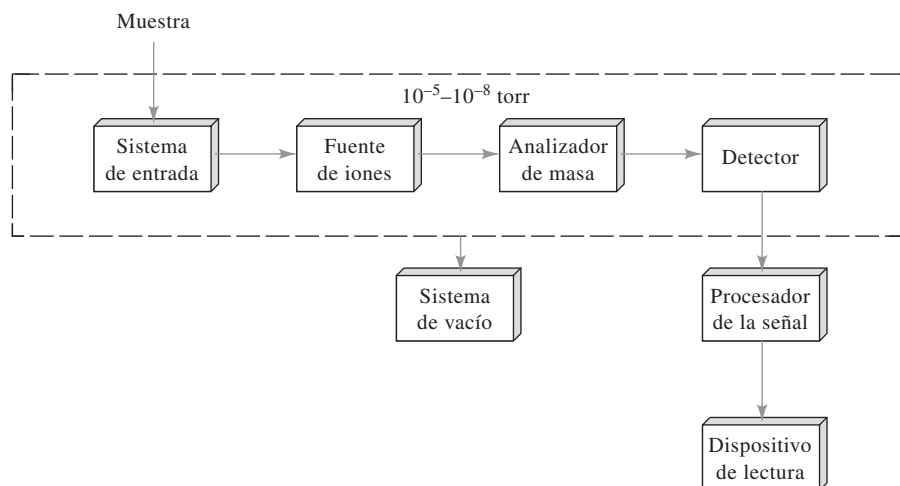


FIGURA 20.11 Componentes de un espectrómetro de masas.

positivos) que luego se acelera hacia el interior del analizador de masas.

La función del analizador de masas, como se estudió en el capítulo 11, es análoga a la de la red en un espectrómetro óptico. En el analizador de masas los iones se dispersan con base en las relaciones masas-carga de los iones del analito. Los espectrómetros de masas se clasifican en distintas categorías, lo cual depende de la naturaleza del analizador de masas.

Al igual que en un espectrómetro óptico, un espectrómetro de masas está equipado con un transductor (para iones) que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que puede ser procesada, almacenada en la memoria de una computadora y mostrada o registrada de diferentes maneras. Las características de los diversos tipos de transductores que se emplean en los espectrómetros de masas se estudian en la sección 11B.1.

Una propiedad característica de los espectrómetros de masas, que no la comparten con los instrumentos ópticos, es la necesidad de contar con un sistema de vacío adecuado para mantener bajas presiones (10^{-4} a 10^{-8} torr) en todos los componentes del instrumento, con excepción del procesador de señal y el dispositivo de lectura. La necesidad de producir un alto vacío surge porque dichas condiciones ocasionan choques raros con componentes atmosféricos, además de que facilitan la producción y manipulación de electrones y iones libres.

En los apartados siguientes se describen primero los sistemas de entrada que son comunes a todos los tipos de espectrómetros de masas. A continuación se define la *resolución*, que determina la capacidad de un espectrómetro para diferenciar entre iones de distintas masas. Para finalizar, se describen varios tipos de

analizadores de masas que dan lugar a las diferentes categorías de estos instrumentos.

20C.2 Sistemas de entrada de la muestra

La finalidad del sistema de entrada es permitir la introducción de una muestra representativa en la fuente de iones con la mínima pérdida de vacío. Los espectrómetros de masas más modernos están equipados con diversos tipos de entradas capaces de adaptarse a las distintas muestras, entre los que están los sistemas indirectos de entrada, entradas por sonda directa, entradas cromatográficas y entrada de electroforesis capilar.

Sistemas indirectos de entrada

El sistema de entrada ordinario, y el más simple, es el indirecto, en el cual la muestra se volatiliza en el exterior y luego se permite que se fugue a la región de ionización que está a baja presión. En la figura 20.12a se muestra un esquema de un sistema típico que es aplicable a muestras gaseosas y líquidas cuya temperatura de ebullición es de hasta alrededor de unos 500°C . En el caso de muestras gaseosas, un pequeño volumen medido de gas se recoge entre dos válvulas que encierran la zona de medición y después se expande en un recipiente contenedor. Por lo que se refiere a los líquidos, se introduce una cantidad pequeña de la muestra en un depósito, por lo regular mediante una microjeringa. En ambos casos el sistema de vacío se usa para alcanzar una presión en la muestra de 10^{-4} a 10^{-5} torr. Para las muestras cuyos puntos de ebullición son superiores a 150°C , el recipiente contenedor y el tubo se deben mantener a temperatura elevada mediante un horno y unas cintas calefactoras. La temperatura máxima del horno es de 350°C . Este máximo limita el sis-

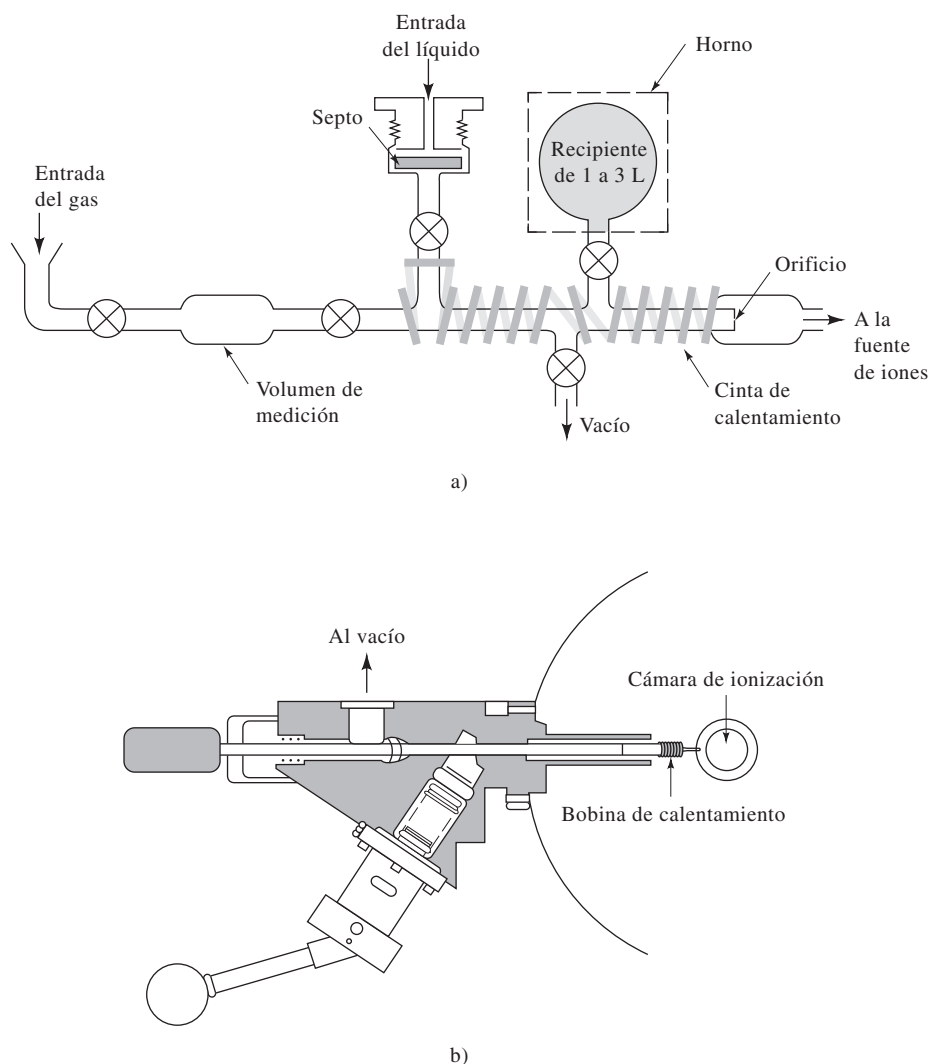


FIGURA 20.12 Esquema de a) un sistema de introducción de muestra externo (las piezas no están a escala) y b) sonda para introducir la muestra directamente en la fuente de iones. (Tomado de G. A. Eadon, en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., J. D. Winefordner, M. M. Bursey y I. M. Kolthoff, eds., parte I, vol. 11, p. 9, Nueva York: Wiley, 1989. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

tema a líquidos con puntos de ebullición por debajo de 500°C. La muestra, que ahora ya está en fase gaseosa, pasa al área de ionización del espectrómetro a través de un diafragma de metal o de vidrio que contiene uno o varios orificios pequeños. Por lo regular, el sistema de entrada está revestido con vidrio para evitar pérdidas de analitos polares por adsorción.

Entrada por sonda directa

Los líquidos y sólidos no volátiles se pueden introducir en la región de ionización mediante un portamuestras o una sonda que se inserta a través de un cierre de vacío (véase la figura 20.12b). El sistema de cierre está diseñado para limitar el volumen de aire que se debe

introducir desde el sistema después de insertar la sonda en la región de ionización. Las sondas se utilizan también cuando la cantidad de muestra es limitada, debido a que se pierde mucho menos muestra que con el sistema de entrada indirecto. Por tanto, los espectros de masas se pueden obtener, a menudo, con solo algunos nanogramos de muestra.

En una sonda, la muestra se pone casi siempre en la superficie de un tubo capilar de vidrio o de aluminio, un alambre fino o un recipiente pequeño. La sonda se coloca a unos pocos milímetros de la fuente de ionización y de la rendija que conduce al espectrómetro. Por lo regular, el suministro de la muestra se hace calentándola y enfriándola en la sonda.

La baja presión en el área de ionización y la proximidad de la muestra a la fuente de ionización hacen posible obtener espectros de compuestos térmicamente inestables antes de que se descompongan. La baja presión proporciona también una concentración elevada de compuestos poco volátiles en el área de ionización. Así, la sonda permite el estudio de materiales no volátiles, como carbohidratos, esteroides, especies organometálicas y polímeros de baja masas molecular. El requisito principal de la muestra es que alcance una presión parcial de al menos 10^{-8} torr antes de que empiece a descomponerse.

Sistemas de entrada cromatográficos y de electroforesis capilar

Los espectrómetros de masas suelen estar acoplados a sistemas de cromatografía de gases o de líquidos de alta resolución o a unidades de electroforesis capilar que permiten separar y determinar los componentes de mezclas complejas. El acoplamiento de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar a un espectrómetro de masas requiere utilizar sistemas de entrada especiales, algunos de los cuales se describen en las secciones 27B.4, 28C.6 y 30B.4.

20C.3 Analizadores de masas

Para separar iones con diferente relación masas-carga hay varios dispositivos. Lo ideal es que el analizador sea capaz de distinguir entre diferencias mínimas de masas. Además, los analizadores deberían permitir el paso del número de iones suficiente para producir corrientes iónicas fáciles de medir. Al igual que sucede en los monocromadores ópticos, a los que se parecen los analizadores, estas dos propiedades no son del todo compatibles y siempre se debe llegar a una concesión con el diseño.

Resolución de los espectrómetros de masas

La capacidad de un espectrómetro de masas para distinguir entre masas se expresa por lo regular en términos de su *resolución* R , que se define como

$$R = \frac{m}{\Delta m} \quad (20.3)$$

donde Δm es la diferencia de masas entre dos picos adyacentes que se diferencian claramente y m es la masas nominal del primer pico (a veces se utiliza en su lugar la masas media de los dos picos). Se considera que dos picos están separados si la altura del valle entre ellos no es mayor de una determinada fracción de su altura (a menudo 10%). Entonces, un espectrómetro con una resolución de 4000 podrá distinguir picos que

aparezcan a valores de m/z de 400.0 y 400.1, o bien, 40.00 y 40.01.

La resolución que se requiere de un espectrómetro de masas depende en gran medida de su aplicación. Por ejemplo, para diferenciar entre iones de la misma masas nominal, como C_2H_4^+ , CH_2N^+ , N_2^+ y CO^+ todos ellos con 28 Da de masas nominal pero con masas exactas de 28.0313, 28.0187, 28.0061 y 27.9949 Da, respectivamente, se necesita un instrumento con una resolución de varios miles. Por otro lado, los iones de baja masas molecular que difieren en una unidad de masas o más, por ejemplo NH_3^+ ($m = 17$) y CH_4^+ ($m = 16$), pueden diferenciarse con un instrumento que tenga una resolución inferior a 50. Los espectrómetros comerciales disponibles tienen resoluciones que van desde alrededor de 500 a 500 000. En el ejemplo 20.3 se calcula la resolución necesaria para separar las dos especies.

EJEMPLO 20.3

¿Qué resolución se requiere para separar los iones C_2H_4^+ y CH_2N^+ , con masas de 28.0313 y 28.0187, respectivamente?

Solución

En este caso,

$$\Delta m = 28.0313 - 28.0187 = 0.0126$$

El promedio de las dos masas es $(28.0313 + 28.0187)/2 = 28.0250$. Al sustituir en la ecuación 20.3 se obtiene

$$R = m/\Delta m = 28.0250/0.0126 = 2.22 \times 10^3$$

Analizadores de sector magnético

Los analizadores de sector magnético utilizan un imán permanente o un electroimán para hacer que el haz procedente de la fuente de iones se desplace con una trayectoria circular de 180° , 90° o 60° . La figura 20.13 ilustra un instrumento de sector de 90° en el que los iones, formados por impacto de electrones, son acelerados a través de la rendija B hacia el tubo analizador metálico que se mantiene a una presión interna de alrededor de 10^{-7} torr. Se puede llevar a cabo un barrido de los iones de diferente masas a través de la rendija de salida variando la fuerza del campo del imán o el potencial de aceleración entre las rendijas A y B . Los iones que pasan a través de la rendija de salida se recogen en un electrodo colector y dan lugar a una corriente de iones que es amplificada y registrada.

La energía de traslación o cinética, EC , de un ion de masas m y carga z en la rendija de salida B viene dada por

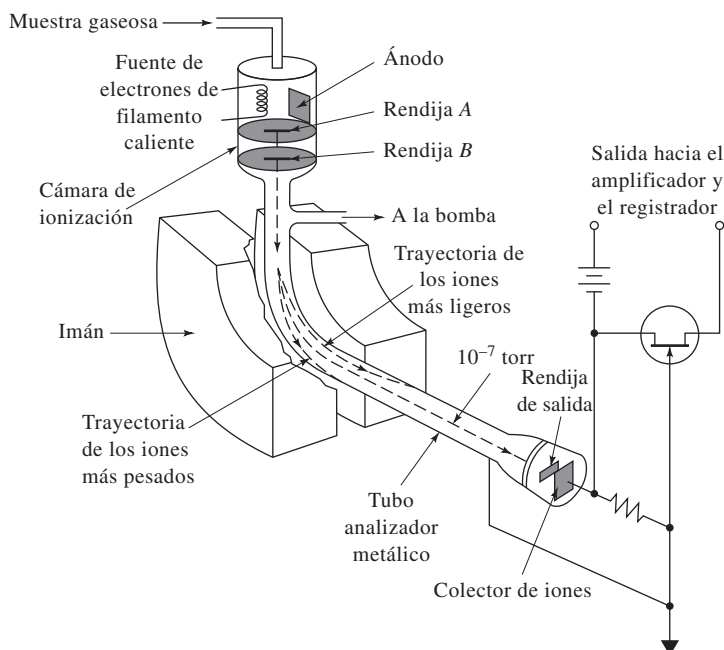


FIGURA 20.13 Esquema de un espectrómetro de sector magnético.

$$EC = zeV = \frac{1}{2}mv^2 \quad (20.4)$$

donde V es la diferencia de potencial entre A y B , v es la velocidad del ion después de ser acelerado y e es la carga del ion ($e = 1.60 \times 10^{-19}$ C). Hay que destacar que se supone que todos los iones que tienen la misma carga z tienen la misma energía cinética después de la aceleración, independientemente de su masas. Esta suposición sólo es cierta en parte, porque los iones, antes de ser acelerados, poseen una distribución estadística de velocidades (rapidez y dirección), que se refleja en una distribución similar para los iones acelerados. Las limitaciones de esta suposición se analizan en la sección siguiente en la que se estudian los instrumentos de doble enfoque. Debido a que todos los iones que abandonan la rendija tienen casi la misma energía cinética, los que son más pesados tienen que viajar a través del sector magnético a velocidades menores.

La trayectoria descrita en el sector por los iones de una masas y carga dadas representa un equilibrio entre las dos fuerzas que actúan sobre ellos. La fuerza magnética F_M viene dada por la relación

$$F_M = Bzev \quad (20.5)$$

donde B es la fuerza del campo magnético. La fuerza centrípeta resultante F_c viene dada por

$$F_c = \frac{mv^2}{r} \quad (20.6)$$

donde r es el radio de curvatura del sector magnético. Para que un ion recorra la trayectoria circular hasta el colector, es necesario que F_M y F_c sean iguales. Entonces, al igualar las ecuaciones 20.5 y 20.6 se tiene que

$$Bzev = \frac{mv^2}{r} \quad (20.7)$$

al reordenar los términos queda

$$v = \frac{Bzer}{m} \quad (20.8)$$

Al sustituir la ecuación 20.8 en la ecuación 20.4 se tiene, luego del reacomodo

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2 e}{2V} \quad (20.9)$$

La ecuación 20.9 revela que los espectros de masas se pueden obtener al cambiar una de las tres variables (B , V o r) pero deben mantenerse constantes las otras dos. Los espectrómetros de masas de sector más modernos están equipados con un electroimán en el que los iones se seleccionan manteniendo V y r constantes mientras se varía la corriente en el imán y, por tanto, en B . En los espectrómetros de sector más antiguos que utilizan un registrador fotográfico, B y V son constantes y r es variable (véase figura 11.11). En el ejemplo 20.4 se ilustra la aplicación de la ecuación 20.9 para calcular un voltaje de aceleración apropiado.

EJEMPLO 20.4

¿Qué potencial de aceleración se necesita para dirigir una molécula de agua con una carga a través de la rendija de salida de un espectrómetro de masas de sector magnético si el imán tiene una fuerza de campo de 0.240 T (teslas) y el radio de curvatura del ion a través del campo magnético es de 12.7 cm?

Solución

Primero se transforman todas las variables experimentales en unidades del SI. Entonces, la carga por ion $ez = 1.60 \times 10^{-19} \text{ C} \times 1$

$$\begin{aligned}\text{radio } r &= 0.127 \text{ m} \\ \text{masas } m &= \frac{18.02 \text{ g H}_2\text{O}^+/\text{mol}}{6.02 \times 10^{23} \text{ g/mol}} \times 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{g}} \\ &= 2.99 \times 10^{-26} \text{ kg H}_2\text{O}^+ \\ \text{campo magnético } B &= 0.240 \text{ T} = 0.240 \text{ Vs/m}^2\end{aligned}$$

Luego se sustituyen en la ecuación 20.9 y se determina el potencial de aceleración V :

$$\begin{aligned}V &= \frac{B^2 r^2 ez}{2m} \\ &= \frac{[0.240 \text{ Vs/m}^2]^2 [0.127 \text{ m}]^2 [1.60 \times 10^{-19} \text{ C}]}{2 \times 2.99 \times 10^{-26} \text{ kg}} \\ &= 2.49 \times 10^3 \frac{(\text{Vs})^2 \text{C}}{\text{m}^2 \text{kg}} \\ &= 2.49 \times 10^3 \text{ V} \quad (1 \text{ volt} = 1 \text{ kg m}^2/\text{s}^2 \text{ C})\end{aligned}$$

Espectrómetros de doble enfoque

Los instrumentos de sector magnético que se estudiaron en la sección anterior se denominan a veces espectrómetros de *enfoque simple*. Esta terminología se utiliza porque un conjunto de iones que sale de la fuente con la misma relación masas-carga pero con una distribución direccional algo divergente estará afectado por el campo magnético de tal manera que se produzca una distribución direccional convergente a medida que los iones abandonen el campo. La aptitud de un campo magnético para conducir iones con orientaciones direccionales diferentes hacia el foco significa que la distribución de energías traslacionales de los iones que dejan la fuente es la principal causa que limita la resolución de los instrumentos de sector magnético ($R \leq 2000$).

La distribución de la energía de traslación de los iones que abandonan la fuente surge de la distribución de Boltzmann de energías de las moléculas, a partir de las cuales se forman los iones, y de la heterogeneidad del campo de la fuente. La diseminación de las energías cinéticas ocasiona un ensanchamiento del haz que

llega al transductor y, por tanto, una pérdida de resolución. Con el fin de medir las masas atómicas y moleculares con una precisión de algunas partes por millón, es necesario diseñar instrumentos que corrijan tanto las distribuciones direccionales como las de energía de los iones que abandonan la fuente. El término *doble enfoque* se aplica a los espectrómetros de masas en los cuales las aberraciones direccionales y de energía de una población de iones se reducen al mínimo de modo simultáneo. El doble enfoque se consigue al utilizar combinaciones de campos magnéticos y electrostáticos cuidadosamente seleccionados. En el instrumento de doble enfoque cuyo esquema se muestra en la figura 20.14, el haz de iones pasa en primer lugar a través de un analizador electrostático que consiste en dos placas metálicas lisas y curvas en las que se aplica un voltaje de corriente continua que tiene el efecto de limitar la energía cinética de los iones que llegan al sector magnético a un intervalo muy bien definido. Los iones cuyas energías son mayores que las promedio chocan con la parte superior de la rendija del analizador electrostático y se pierden yendo hacia tierra. Los iones que tienen energías que son inferiores a las promedio chocan con el lado inferior de la rendija del analizador electrostático, por lo que son eliminados.

El enfoque direccional en el sector magnético tiene lugar a lo largo del plano focal llamado d en la figura 20.14; el enfoque de energía se produce a lo largo del plano denominado e . Por consiguiente, sólo los iones con una determinada m/z son doblemente enfocados en la intersección de d y e para cualquier potencial de aceleración y una intensidad de campo magnético dados. Por tanto, la rendija del colector se coloca en este punto de doble enfoque.

En el mercado se encuentra disponible una amplia variedad de espectrómetros de doble enfoque. Los más complejos son capaces de alcanzar una resolución del orden de 10^5 . También se pueden adquirir instrumentos de doble enfoque más compactos (y más baratos). Un instrumento característico de este tipo tiene un sector electrostático de unos 15 cm y un deflector magnético de 10 cm y 90° . En estos instrumentos son usuales las resoluciones de 2500. A menudo se utilizan como detectores para columnas cromatográficas de gases o de líquidos.

El espectrómetro que se muestra en la figura 20.14 se basa en el diseño llamado de *Nier-Johnson*. Otro diseño de doble enfoque, que utiliza características geométricas *Mattauch-Herzog* se muestra en la figura 11.11. La disposición de este tipo de instrumentos es la única en la que los planos de energía y dirección focal coinciden; por esta razón, el diseño *Mattauch-Herzog* puede utilizar una placa fotográfica o un detector en serie para registrar el espectro. El transductor se sitúa

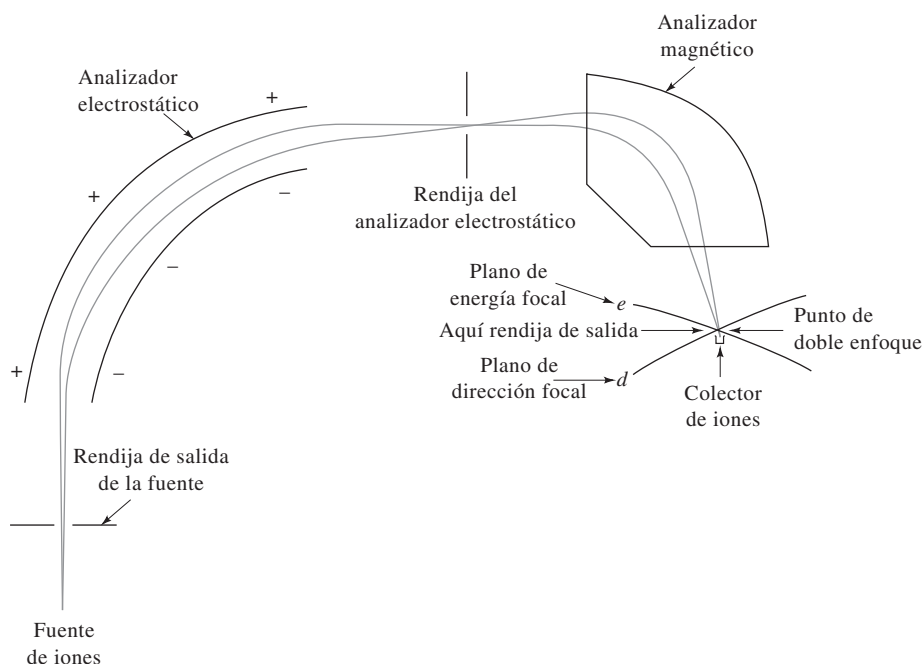


FIGURA 20.14 Diseño de Nier-Johnson de un espectrómetro de masas de doble enfoque.

a lo largo del plano focal, donde se enfocan todos los iones, independientemente de cuál sea su relación masa-carga.

Espectrómetros de masas cuadrupolares

Por lo regular, los espectrómetros de masas cuadrupolares son menos caros, más toscos y más compactos que los de sector magnético. En general, son los espectrómetros de masas que se venden con mayor facilidad. También poseen la ventaja de emplear tiempos de barrido pequeños (es decir, <100 ms), lo cual es particularmente útil para realizar barridos de picos cromatográficos en tiempo real. Los analizadores cuadrupolares son los más utilizados hoy en día. En la sección 11B.2 hay un estudio detallado de los espectrómetros de masas cuadrupolares.

Analizadores de masas de tiempo de vuelo

Como se vio en la sección 11B.3, en los instrumentos de tiempo de vuelo, los iones positivos se producen en forma periódica al bombardear la muestra con impulsos breves de electrones, de iones secundarios o de fotones generados por láser. Los iones producidos de esta forma son acelerados en un tubo de arrastre libre de campo mediante un campo eléctrico pulsante de 10^3 a 10^4 V (véase la figura 20.15). La separación de los iones en función de la masas se produce durante su recorrido hasta el detector, situado al final del tubo. Dado que todos los iones que entran en el tubo tienen

la misma energía cinética, sus velocidades en él varían de manera inversa respecto a sus masas (ecuación 20.4) y, por tanto, las partículas más ligeras llegan primero al detector que las pesadas. El tiempo de vuelo es

$$t_F = \frac{L}{v} = L \sqrt{\frac{m}{2zeV}} \quad (20.10)$$

donde L es la distancia desde la fuente al detector. Los tiempos de vuelo característicos están entre 1 y 50 μ s.

Los instrumentos de tiempo de vuelo tienen algunas ventajas respecto a otros tipos de espectrómetros, como su sencillez, el fácil acceso a la fuente de iones y el virtualmente ilimitado intervalo de masas. No obstante, su resolución y su sensibilidad son limitadas. Dichos instrumentos requieren también componentes electrónicos rápidos porque los iones a menudo llegan al transductor separados entre sí sólo unos microsegundos. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen algunos de tiempo de vuelo, pero se utilizan menos que los espectrómetros de masas de sector magnético y cuadrupolares.

Analizadores de trampa de iones

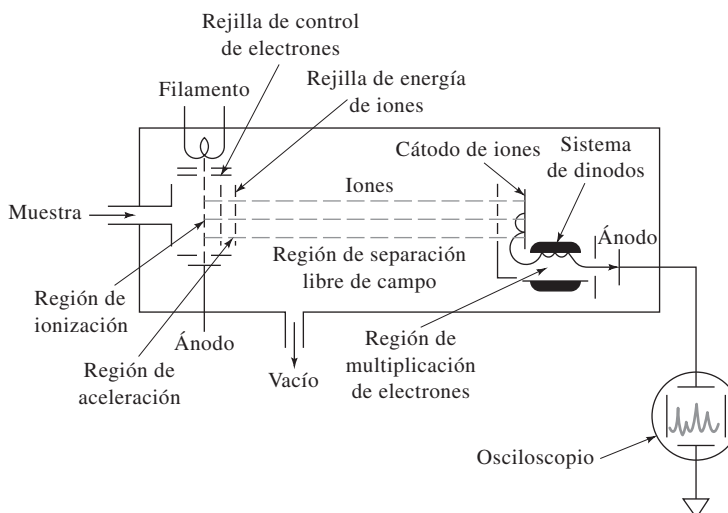
Una trampa de iones es un dispositivo en el que los cationes o aniones gaseosos pueden formarse y quedar confinados durante largos periodos gracias a la acción de campos eléctricos y magnéticos. En 1953, Paul presentó por primera vez la trampa de iones cuadrupolar.¹² Desde entonces se han perfeccionado varios tipos



Clases interactivas: aprenda más acerca de los **analizadores de masas.**

¹²W. Paul y H. Steinwedel, *Z. Naturforsch.*, **1953**, 8A, p. 448.

FIGURA 20.15 Esquema de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo.



de trampas de iones.¹³ En la actualidad se usan los espectrómetros de masas de trampa de iones como detectores para cromatografía y para obtener espectros de masas de una diversidad de analitos. Por su trabajo al idear la técnica de la trampa de iones, Wolfgang Paul y Hans Dehmelt fueron galardonados con el Premio Nobel de Física en 1989.

La figura 20.16 es una vista de una sección transversal de una trampa de iones sencilla que se puede encontrar en el comercio.¹⁴ Consta de un electrodo anular central en forma de dona y de un par de electrodos colectores. Se aplica un potencial de radiofrecuencia variable al electrodo anular mientras los dos electrodos colectores están conectados a tierra. Los iones con un valor de m/z adecuado circulan en una órbita estable dentro de la cavidad que está rodeada por el anillo. Cuando se incrementa el potencial de radiofrecuencia, las órbitas de los iones más pesados llegan a estabilizarse, pero las de los iones más ligeros se desestabilizan, lo que causa que choquen con la pared del electrodo anular.

Cuando este instrumento funciona como un espectrómetro de masas, los iones producidos por una fuente de impacto de electrones o de ionización química penetran a través de una rejilla en el electrodo colector superior. La fuente de ionización recibe pulsos de modo que se forme una ráfaga de iones. Los iones con valores de masas dentro de un amplio intervalo de interés son atrapados en forma simultánea. La trampa de iones tiene la capacidad de almacenar iones por periodos relativamente largos, hasta de 15 minutos para algunos iones estables. Luego se aplica una técnica llama

da *expulsión por selección de masas* para expulsar en forma sucesiva los iones atrapados de acuerdo con su masas mediante el incremento del voltaje de radiofrecuencia que se aplica al electrodo anular en una rampa lineal. A medida que los iones atrapados se desestabilizan, abandonan la cavidad del electrodo anular a través de una abertura en el electrodo colector inferior. Los iones emitidos pasan enseguida a un transductor como el multiplicador de electrones de la figura 20.16.

Los analizadores de masas de trampa de iones tienen la ventaja de ser fuertes, compactos y más baratos que otros analizadores de masas.¹⁵ Tienen la posibilidad de alcanzar límites de detección bajos. Además de las fuentes de impacto con electrones, estos analizadores se pueden conectar con las fuentes de ionización por electronebulización y con las fuentes para MALDI.

¹³ Para tener un panorama de las trampas para iones disponibles en el comercio refiérase a Z. Ziegler, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 489A.

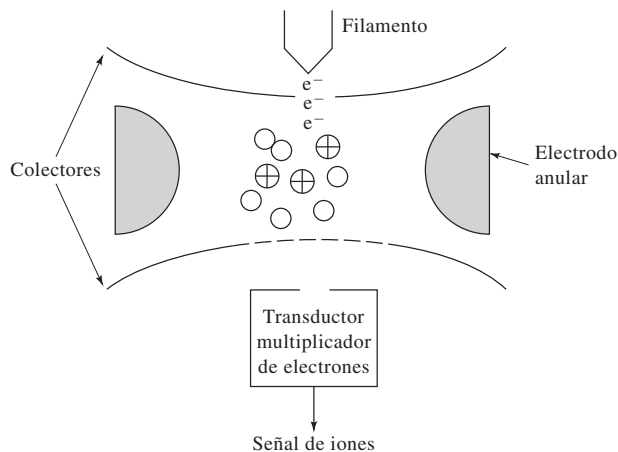


FIGURA 20.16 Espectrómetro de masas con trampa de iones. (Adaptación de acuerdo con Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, p. 89, Filadelfia: Lippincott-Raven Press, 1997.)

¹³ R. E. March y J. F. J. Todd, eds., *Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1995; R. E. March, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2000**, 200, p. 285.

¹⁴ Para tener un panorama del avance de la espectrometría de masas con trampa de iones, consulte G. Stafford, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2002**, 13, p. 589.

20C.4 Espectrómetros de transformada de Fourier

Como sucede con los instrumentos de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, los espectrómetros de masa de transformada de Fourier proporcionan mejores relaciones señal-ruido, velocidades mayores y sensibilidad y resolución más elevadas.¹⁶ Los espectrómetros de masas de transformada de Fourier comerciales aparecieron en el mercado a principios de los años ochenta y actualmente los ofrecen diversos fabricantes.

La parte esencial de un instrumento de transformada de Fourier es una trampa de iones en la cual éstos circulan en órbitas bien definidas durante largos periodos. Tales cavidades se construyen aprovechando el fenómeno conocido como *resonancia iónica ciclotrónica*.

Resonancia iónica ciclotrónica

Cuando un ion gaseoso es arrastrado o formado en un campo magnético elevado, su movimiento llega a ser circular en un plano que es perpendicular a la dirección del campo. La frecuencia angular de este movimiento se llama frecuencia ciclotrónica, ω_c . Si se reordena la ecuación 20.8 y se determina v/r , que es la frecuencia ciclotrónica en radianes por segundo, se obtiene

$$\omega_c = \frac{v}{r} = \frac{zeB}{m} \quad (20.11)$$

Observe que en un campo fijo, la frecuencia ciclotrónica depende sólo del inverso del valor m/z . Los aumentos en la velocidad de un ion irán acompañados por el correspondiente aumento en el radio de giro del ion. Una medida de ω_c puede proporcionar un indicio exacto de z/m y, por consiguiente, de la relación masas-carga del ion.

Un ion atrapado en una trayectoria circular en un campo magnético es capaz de absorber energía de un campo eléctrico de corriente alterna, siempre que la frecuencia del campo sea igual a la frecuencia ciclotrónica. La energía absorbida aumenta entonces la velocidad del ion y, por tanto, su radio de giro, sin alterar ω_c . Este efecto se ilustra en la figura 20.17. En ella, la trayectoria original de un ion atrapado en un campo magnético está representada por el círculo de trazo continuo más interno. La aplicación breve de un voltaje de corriente alterna crea un campo fluctuante entre las placas que interacciona con el ion, siempre que la frecuencia de la fuente esté en resonancia con la frecuencia ciclotrónica. En estas condiciones, la velocidad del ion aumenta en forma continua al igual que el radio de su trayectoria (observe la línea discontinua). Cuando la señal eléctrica de corriente alterna acaba, el

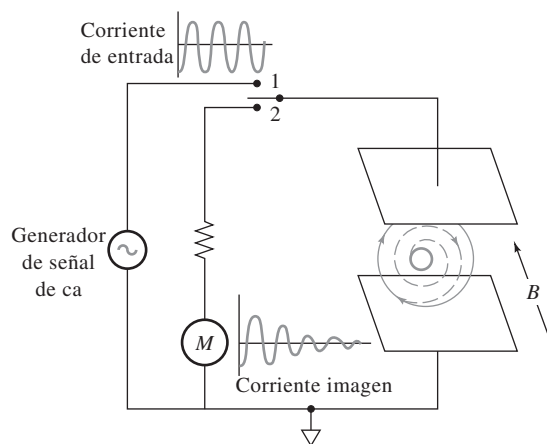


FIGURA 20.17 Trayectoria de un ion en un campo magnético intenso. La línea continua interior representa la trayectoria circular original del ion. La línea discontinua muestra la trayectoria en espiral cuando el interruptor se coloca brevemente en la posición 1. La línea continua del exterior es la nueva trayectoria circular cuando se abre otra vez el interruptor.

radio de la trayectoria del ion vuelve a ser constante, tal como lo sugiere el círculo de trazo continuo más externo en la figura.

Cuando la región situada entre las placas de la figura 20.17 contiene un grupo de iones con la misma relación masas-carga y se aplica una señal de corriente alterna que tiene la frecuencia de resonancia ciclotrónica, todas las partículas adquieren un movimiento coherente que está en fase con el campo. Los iones con frecuencia ciclotrónica diferente, es decir, aquellos con diferentes relaciones masas-carga no se ven afectados por el campo de corriente alterna.

Medición de la señal de resonancia iónica ciclotrónica

El movimiento circular coherente de los iones resonantes crea la denominada *corriente imagen* que se puede observar con facilidad al finalizar la señal de barrido de frecuencia. Por consiguiente, si el interruptor de la figura 20.17 se desconecta de la posición 1 y se conecta en la 2, se observa una corriente que disminuye de manera exponencial con el tiempo. Esta corriente imagen es de naturaleza capacitiva, inducida por el movimiento circular de un grupo de iones que tienen la misma relación masas-carga. Por ejemplo, cuando un grupo de iones positivos se aproxima a la placa superior de la figura 20.17, los electrones son atraídos desde el circuito común hasta esta placa, dando lugar a una corriente momentánea. A medida que el grupo continúa hacia la otra placa, se invierte la dirección del flujo externo de electrones. La magnitud de la corriente alterna resultante depende del número de iones del grupo. La frecuencia de la corriente (la frecuencia de

¹⁶Un repaso de la espectrometría de masas de transformada de Fourier se encuentra en R. M. A. Heeren, A. J. Kleinnijenhuis, L. A. McDonnell y T. H. Mize, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 378, p. 1048; A. G. Marshall, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2000**, 200, p. 331; A. G. Marshall y P. B. Grosshans, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, p. 215A.

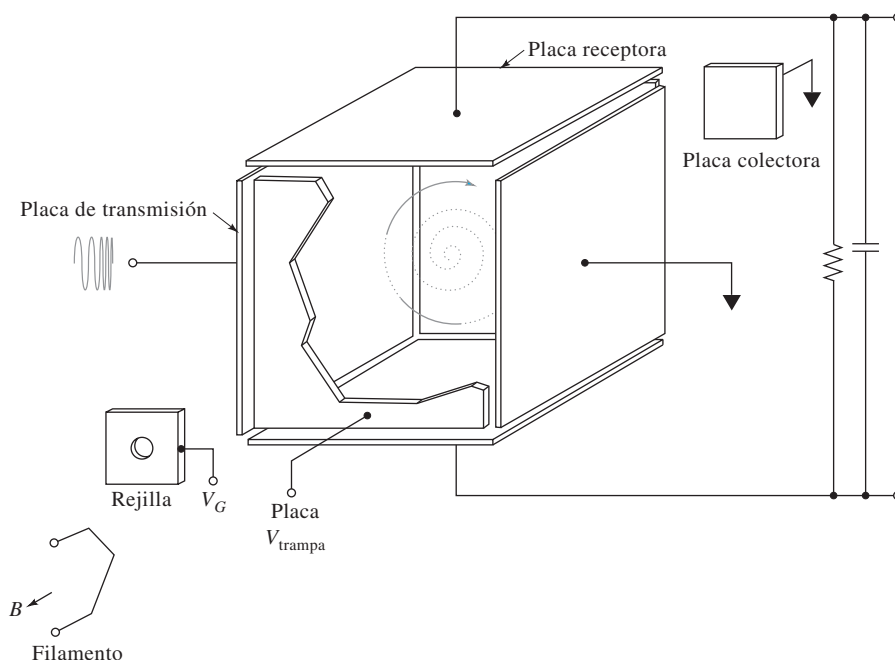


FIGURA 20.18 Celda de un analizador de trampa de iones. (Reimpreso con autorización de E. B. Ledford Jr., R. L. White, S. Ghaderi y C. L. Wilkins, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, p. 1090. Copyright 1980 por American Chemical Society.)

resonancia del ciclotrón) es característica del valor masas-carga de los iones en el grupo. Esta corriente se utiliza en los espectrómetros iónicos ciclotrónicos para medir la concentración de iones que han entrado en resonancia a diferentes frecuencias de señal aplicadas.

Esta corriente imagen inducida disminuye en unas pocas décimas de segundo o como máximo en varios segundos debido a que se pierde el carácter coherente del grupo de iones que circula. Las colisiones entre los iones causan que los iones que circulan de manera coherente pierdan energía y vuelvan a la condición de equilibrio térmico. Esta disminución de la corriente imagen proporciona una señal en el dominio del tiempo que es similar a la señal del decaimiento libre de inducción que se obtiene en los experimentos de resonancia magnética nuclear de transformada de Fourier (véase la sección 19A.3).

Espectrómetros de transformada de Fourier

Por lo general, los espectrómetros de masas de transformada de Fourier están equipados con una celda analizadora de trampa de iones, tal como la que se muestra en la figura 20.18. Las moléculas gaseosas de la muestra son ionizadas en el centro de la celda por electrones que son acelerados desde el filamento a través de la celda hasta una placa colectora. Se aplica un voltaje pulsante a la rejilla que sirve de compuerta para abrir y cerrar en forma periódica el paso del haz de electrones. Los iones se mantienen en la celda mediante la aplicación de un potencial de 1 a 5 V a la

placa de la trampa y son acelerados por una señal de radiofrecuencia aplicada a la placa de transmisión, tal como se muestra en la figura. La placa receptora se conecta a un preamplificador que refuerza la corriente imagen. Este procedimiento para confinar iones es muy eficaz, y se han observado tiempos de almacenamiento de varios minutos. Las dimensiones de la celda no son importantes, pero por lo regular alcanzan algunos centímetros por lado.

El fundamento de la medición de transformada de Fourier se ilustra en la figura 20.19. Primero se generan los iones mediante un breve pulso de un haz de electrones, que no se muestra, y se almacenan en la celda de la trampa de iones. Después de cierto tiempo, los iones atrapados se someten a un pulso corto de radiofrecuencia que aumenta linealmente en frecuencia durante su tiempo de vida. En la figura 20.19a se muestra un pulso de 5 ms, tiempo durante el cual la frecuencia aumenta en forma lineal de 0.070 a 3.6 MHz. Una vez que finaliza el barrido de frecuencia, la corriente imagen, inducida por los diferentes grupos de iones, se amplifica, digitaliza y almacena en la memoria. La señal de disminución en el dominio del tiempo, que se muestra en la figura 20.19b, se transforma enseguida para dar una señal en el dominio de la frecuencia que, a su vez, puede ser convertida en el dominio de las masas aplicando la ecuación 20.11. La figura 20.20 ilustra la relación entre el espectro en el dominio del tiempo, su equivalente en el dominio de la frecuencia y el espectro de masas resultante.

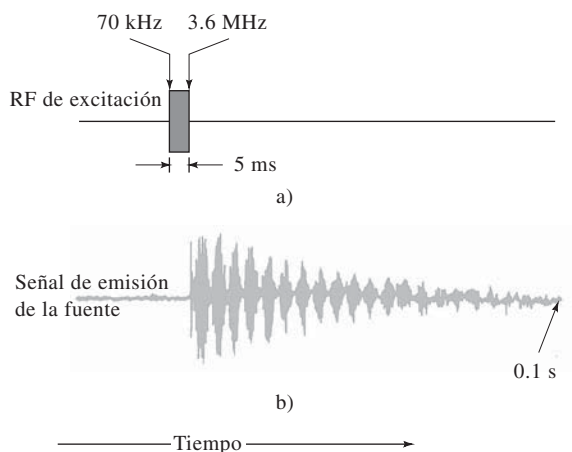


FIGURA 20.19 Esquema que muestra la sincronización de a) una señal de radiofrecuencia y b) la señal de la imagen transitoria (abajo). (Reproducido con autorización de R. T. McIver Jr., *Amer. Lab.*, **1980**, 12 (11), p. 26. Copyright 1980 por International Scientific Communications, Inc.)

Los espectrómetros de transformada de Fourier se pueden conectar a varias fuentes de ionización, como MALDI, electronebulización, bombardeo con átomos rápidos e impacto de electrones-ionización química. La resolución en la espectrometría de masas de transformada de Fourier está limitada por la precisión con que se mide la frecuencia y no por las rendijas o por las mediciones del campo. La resolución y los valores de las masas dependen también de la magnitud y estabilidad del campo magnético. Puesto que las mediciones de frecuencia se pueden efectuar con alta precisión, es posible la alta resolución en extremo (superior a 10^6). La exactitud con la que se pueden efectuar mediciones de masas con instrumentos de transformada de Fourier es también excelente. Los espectrómetros de transformada de Fourier son muy caros (>\$400 000 dólares). Hay modelos comerciales equipados con imanes superconductores con campos que varían de 1.2 a 12 teslas. Los modelos de campo alto son muy útiles en las aplicaciones biológicas, así como en la proteómica.

20C.5 Espectrometría de masas en tandem

La *espectrometría de masas en tandem*, a veces llamada *espectrometría de masas-espectrometría de masas*, es otra técnica que facilita la obtención de un espectro de masas de iones preseleccionados y fragmentados.¹⁷ La idea básica se ilustra en la figura 20.21. En este caso, una fuente de ionización, que a menudo es una fuente de ionización blanda, produce iones y algunos frag-

¹⁷ Si desea mayor información, consulte K. L. Busch, G. L. Glish y S. A. McLuckey, *Mass Spectrometry/Mass Spectrometry: Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry*, Nueva York: VCH, 1988; *Tandem Mass Spectrometry*, F. W. McLafferty, ed., Nueva York: Wiley, 1983.

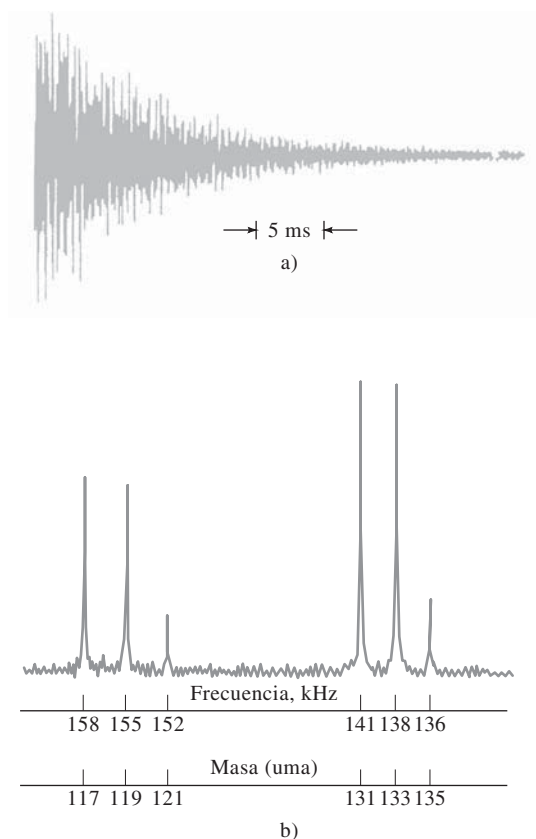


FIGURA 20.20 Espectros en el dominio del tiempo a) y en el de la frecuencia b) o en el dominio de las masas para el 1,1,1,2-tetracloroetano. (Reproducido con autorización de E. B. Ledford Jr. y col., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, p. 463. Copyright 1980 por American Chemical Society.)

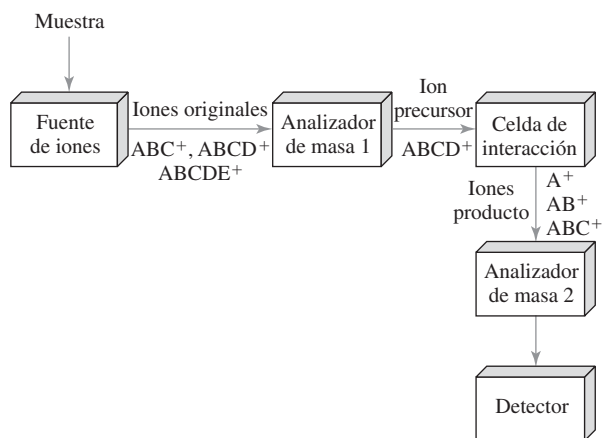


FIGURA 20.21 Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas en tandem.

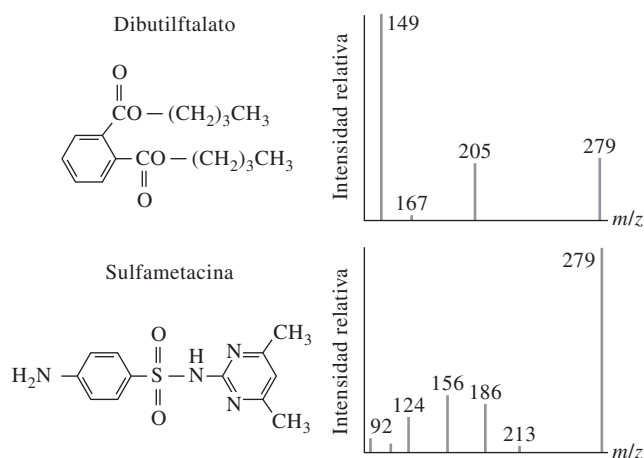


FIGURA 20.22 Espectros de ion producto del dibutilftalato y la sulfametacina obtenidos después de que los picos del ion progenitor protonado a 279 Da fueron aislados por el primer analizador de masas de un instrumento de espectrometría de masas en tándem. (Reproducido de K. L. Busch y G. C. DiDonato, *Amer. Lab.*, **1986**, 18 (8), p. 17. Copyright 1986 por International Scientific Communications, Inc.)

mentos. Éstos entran luego al primer analizador de masas, el cual selecciona un ion en particular, denominado *ion precursor*, y lo envía a la celda de interacción donde se descompone de manera espontánea, reacciona con un gas de choque o puede interactuar con un rayo láser intenso para generar los fragmentos, que se llaman *iones producto*. Luego se analiza la masas de estos iones en el segundo analizador de masas y se les detecta mediante el detector de iones.

Tipos de espectros de masas en tándem

Se pueden obtener varios tipos de espectros diferentes a partir del experimento de la espectrometría de masas-espectrometría de masas. Primero, el *espectro de ion producto* se consigue barriendo con el analizador de masas 2 mientras el analizador de masas 1 se mantiene constante y actúa como selector de masas para elegir un ion precursor. En la figura 20.22 se ilustran espectros de iones producto para el dibutilftalato y la sulfametacina. Ambos compuestos producen iones moleculares con valores de m/z de 279. No obstante, los espectros de ion producto de los dos compuestos son muy diferentes.

Se puede obtener un *espectro de ion precursor* además de los espectros de iones producto barriendo con el primer analizador mientras el segundo se mantiene constante para detectar un ion producto dado. En una mezcla de compuestos que dan los mismos productos se identifican con rapidez mediante los espectros de ion precursor. A menudo, los compuestos muy relacionados dan varios de los mismos iones producto, de modo que este método de operación proporciona una medida de la identidad y concentración de los *miembros de una clase* de compuestos relacionados estrechamente. Por ejemplo, considere una mezcla de ABCD y BCDA, IJKL e IJMN en la muestra. Para identificar las especies que contienen el grupo IJ, el segundo analizador se fija en la masas correspondiente al ion IJ^+ y el primer analizador selecciona en forma sucesiva los

iones de las moléculas $ABCD^+$, $BCDA^+$, $IJKL^+$ e $IJMN^+$. Las señales de ion en el detector se observarían sólo cuando $IJKL^+$ e $IJMN^+$ fueran seleccionados por el primer analizador, lo que indicaría la presencia del grupo.

Al efectuar un barrido simultáneo con ambos analizadores pero con una diferencia de masas entre ellos, se obtiene un *espectro de pérdida neutral*. Esto da la identidad de los iones precursores que sufren una pérdida igual a la neutral de H_2O y CO . Para finalizar, mediante el barrido con el analizador de masas 1 y la obtención del espectro del ion producto para cada ion precursor seleccionado se puede obtener un *espectro tridimensional espectrometría de masas-espectrometría de masas* completo.

Interacciones disociativas en la celda de interacción

Se puede utilizar varios tipos de interacciones para producir la fragmentación en la celda de interacción. En algunos casos, los iones que selecciona el analizador de masas 1 en la figura 20.21 son *metaestables* y se descomponen en fragmentos después de cierto tiempo. Sin embargo, los mecanismos cinéticos del proceso de descomposición tienen la capacidad de limitar en gran medida la aplicabilidad y sensibilidad del proceso. En tales casos, la fragmentación se puede inducir al añadir un gas que favorezca las colisiones a la celda de interacción de modo que interactúe con los iones precursores, lo que ocasiona la descomposición en iones producto. En este caso, la celda se llama *celda de colisiones* y las interacciones se denominan *disociación activada mediante colisiones* (CAD, por sus siglas en inglés) o *disociación inducida por colisiones* (CID, por sus siglas en inglés).

Otro tipo de *interacción es la disociación inducida por la superficie* (SID, por sus siglas en inglés), en la cual los iones precursores interactúan con una superficie para inducir la disociación. Los iones son refleja-

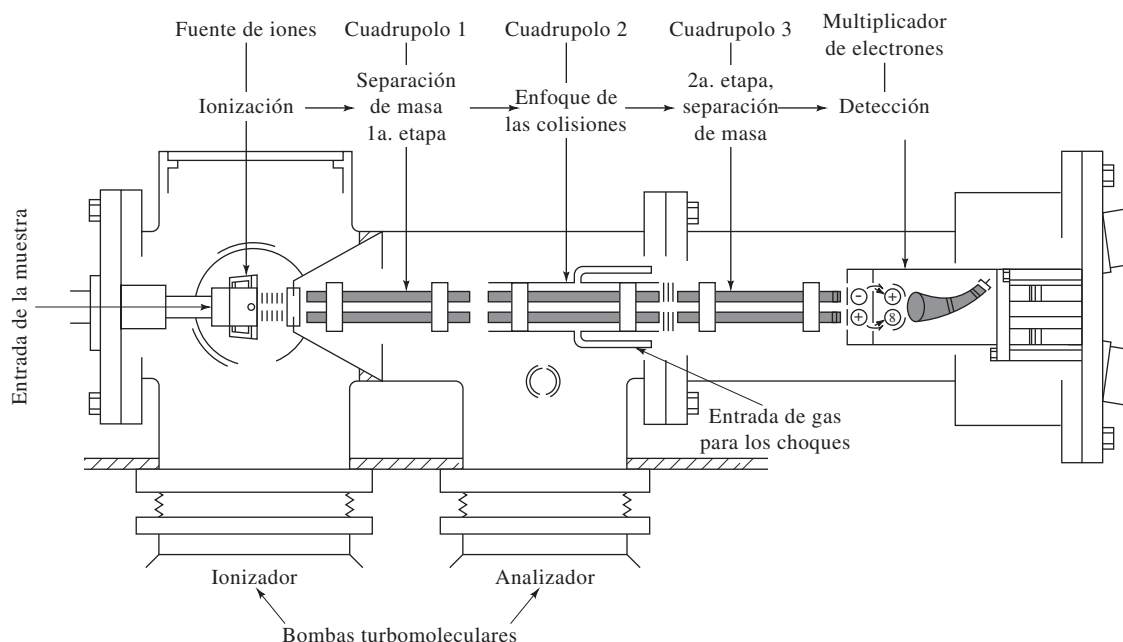


FIGURA 20.23 Esquema de un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo. (Cortesía de Thermo-Finnigan Corp.)

dos por las paredes de la celda o por las planchas que los atrapan para incrementar su energía e impulsar la disociación. También se utilizan las superficies químicamente modificadas, como las películas finas.

Otra técnica de disociación que se aplica a iones grandes con cargas múltiples es la *disociación con captura de electrones* (ECD, por sus siglas en inglés), en la cual los iones precursores capturan un electrón de baja energía para producir un producto intermedio que se disocia con rapidez. En algunos casos, se añade un gas de fondo para ayudar al proceso de disociación.

La *disociación fotoinducida* (PID, por sus siglas en inglés) es otro proceso para estimular la descomposición de los iones precursores. En casi todos los casos se usa un rayo láser intenso en la celda de interacción para favorecer la disociación. Una dificultad con esta técnica es que el haz de iones y el haz de fotones tienen que traslaparse en la región de la interacción durante un tiempo suficientemente prolongado para que ocurra la absorción y la rotura de los enlaces. En algunos casos se han usado celdas de trampa de iones para facilitar los largos periodos de traslape.

Instrumentos para espectrometría de masas en tandem

La espectrometría de masas en tandem se ha estructurado de varias maneras.¹⁸ Se puede clasificar como *tándem en el espacio* y *tándem en el tiempo*.¹⁹

Espectrómetros en tándem en el espacio. En este tipo de instrumentos se utilizan dos analizadores de masas independientes en dos regiones distintas del espacio, el espectrómetro de masas de triple cuadrupolo es el más común de ellos. En el caso de los instrumentos comerciales de este tipo, como el que se ilustra en la figura 20.23, la muestra se introduce en una fuente de ionización blanda, como una fuente de ionización química o de bombardeo con átomos rápidos. Entonces, los iones son acelerados en el cuadrupolo 1 (Q), el cual es un filtro de masas cuadrupolar ordinario. Los iones seleccionados pasan por el cuadrupolo 2 (q), que es una cámara de choques donde tiene lugar la disociación de los iones seleccionados por el cuadrupolo 1. Éste opera en un modo de radiofrecuencia única en el cual no se aplica ningún voltaje de cd a las barras. Este modo atrapa a los iones precursores y a los productos en una concentración relativamente alta de gas de colisión de modo que ocurre la disociación activada mediante choques. A continuación, el cuadrupolo 3 (Q) facilita el análisis de masas de los iones producto formados en la celda de colisiones. Este acomodo se conoce como configuración QqQ.

Los instrumentos de sector y los instrumentos híbridos sector-cuadrupolo se usan también en tandem. Los primeros espectrómetros de masas eran instrumentos de sector que combinaban un espectrómetro de sector eléctrico con un espectrómetro de sector magnético, ya sea en una configuración directa (un sector eléctrico seguido de un sector magnético, EB) o en una configuración inversa (sector magnético seguido de sector eléctrico, BE). La configuración inversa a ve-

¹⁸ Si desea una descripción de los espectrómetros de masas en tandem comerciales consulte D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 265A.

¹⁹ Véase J. W. Hager, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 378, p. 845; S. A. McLuckey y J. M. Wells, *Chem. Rev.*, **2001**, 101, p. 571.

ces recibe el nombre de espectrómetro de energía cinética de iones y análisis de masas (MIKES, por sus siglas en inglés). Estos instrumentos no fueron muy efectivos, pero permitieron demostrar los principios de la espectrometría de masas en tándem.

Entre los instrumentos híbridos están el espectrómetro BEqQ (sector magnético, B; sector eléctrico, E; sólo cuadrupolo de radiofrecuencia, q; analizador de masas cuadrupolar, Q) y el espectrómetro BTOF (sector magnético, B; analizador de tiempo de vuelo, TOF). El espectrómetro QqTOF es similar al instrumento cuadrupolar triple (QqQ), excepto que el analizador de masas cuadrupolar final se reemplaza con un analizador de tiempo de vuelo. En otra variante, la sección Qq puede ser reemplazada por una trampa de iones cuadrupolar para producir un instrumento de trampa de iones TOF.

Un último tipo de espectrómetro en tándem en el espacio es el espectrómetro TOF-TOF, en el cual un instrumento de tiempo de vuelo seguido por un selector de iones sincronizado separa los iones precursores. Entonces, una celda de colisiones induce la fragmentación, y los iones producto se analizan de acuerdo con su masas en la etapa final del TOF.²⁰ Se ha reportado una resolución de la masas de varios miles.

Espectrómetros en tándem en el tiempo. Estos instrumentos forman los iones en una cierta región espacial y luego expulsan los iones indeseables y dejan que los iones seleccionados sean disociados y analizados de acuerdo con su masas en la misma región espacial. Este proceso se puede repetir muchas veces para ejecutar no sólo experimentos espectrometría de masas-espectrometría de masas (EM-EM), sino también experimentos EM-EM-EM y MSⁿ. En principio, los espectrómetros en tándem en el tiempo tienen la aptitud de ejecutar experimentos EM-EM de manera mucho más sencilla que los instrumentos en tándem en el espacio debido a que éstos presentan dificultad para proporcionar diferentes posiciones focales de los iones. Los espectrómetros en tándem en el tiempo tienen la capacidad de efectuar con facilidad barridos de los iones producto, pero otros barridos, como los de iones precursores y los de pérdida neutral, son mucho más difíciles de llevar a cabo que con los instrumentos en tándem en el espacio.

20C.6 Espectrómetros de masas computarizados

Las computadoras son una parte fundamental de los espectrómetros de masas modernos. Una característica de los espectros de masas es la abundancia de datos estructurales que suministran. Por ejemplo, una fuente de ionización por impacto de electrones puede frag-

mentar una molécula con una masas molecular de 500 en 100 o más iones diferentes, cada uno de los cuales da un pico espectral distinto. Para realizar una determinación estructural, se deben determinar, almacenar y desplegar la altura y la relación masas-carga de cada pico. Dado que la cantidad de información es muy grande, es esencial que la adquisición de datos y su proceso sean rápidos; las computadoras se ajustan en forma perfecta a estas funciones. Por otra parte, para que los datos espectrales sean útiles, se deben controlar rigurosamente diversas variables instrumentales durante la recolección de datos. Las computadoras son mucho más eficaces que un operador humano para efectuar las tareas de control.

En la figura 20.24 se ilustra un diagrama de bloques de un sistema de control computarizado y de adquisición de datos de un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo. Esta figura muestra dos características que debe poseer cualquier instrumento moderno. La primera es una computadora que sirva para el control principal del instrumento. El operador se comunica mediante un teclado con el espectrómetro, seleccionando los parámetros y las condiciones operativas mediante un programa interactivo fácil de utilizar. La computadora también controla los programas encargados de la manipulación y salida de los resultados. La segunda característica común a casi todos los instrumentos es un conjunto de microprocesadores (a menudo seis) que se ocupan de aspectos concretos del control del instrumento y la transmisión de información entre la computadora y el espectrómetro.

La interfase entre el espectrómetro de masas y la computadora por lo regular tiene capacidad para digitalizar la señal de la corriente de iones amplificada y otras señales que se utilizan para controlar las variables instrumentales. Ejemplos de estas últimas son la temperatura de la fuente, el potencial de aceleración, la velocidad de barrido y la fuerza del campo magnético o los voltajes del cuadrupolo.

La señal de la corriente de iones digitalizada requiere un proceso considerable antes de estar lista para su lectura. Primero, los picos deben ser normalizados, un proceso por el cual se calcula la altura de cada pico respecto a algún pico de referencia. A menudo, el *pico base*, que es el más grande del espectro, sirve como referencia y se le asigna arbitrariamente una altura de 100 (o a veces 1000). Se debe también determinar el valor de m/z para cada pico. Este valor asignado se relaciona a menudo con el tiempo en el que aparecen los picos y con la velocidad de barrido. Los datos se obtienen como intensidad en función del tiempo durante un barrido rigurosamente controlado del campo magnético o del campo eléctrico. La conversión del tiempo en m/z requiere una cuidadosa calibración periódica; con este objetivo, se utiliza a

²⁰K. F. Medzihradsky, J. M. Campbell, M. A. Baldwin, A. M. Falick, P. Juhasz, M. L. Vestal y A. L. Burlingame, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 552.

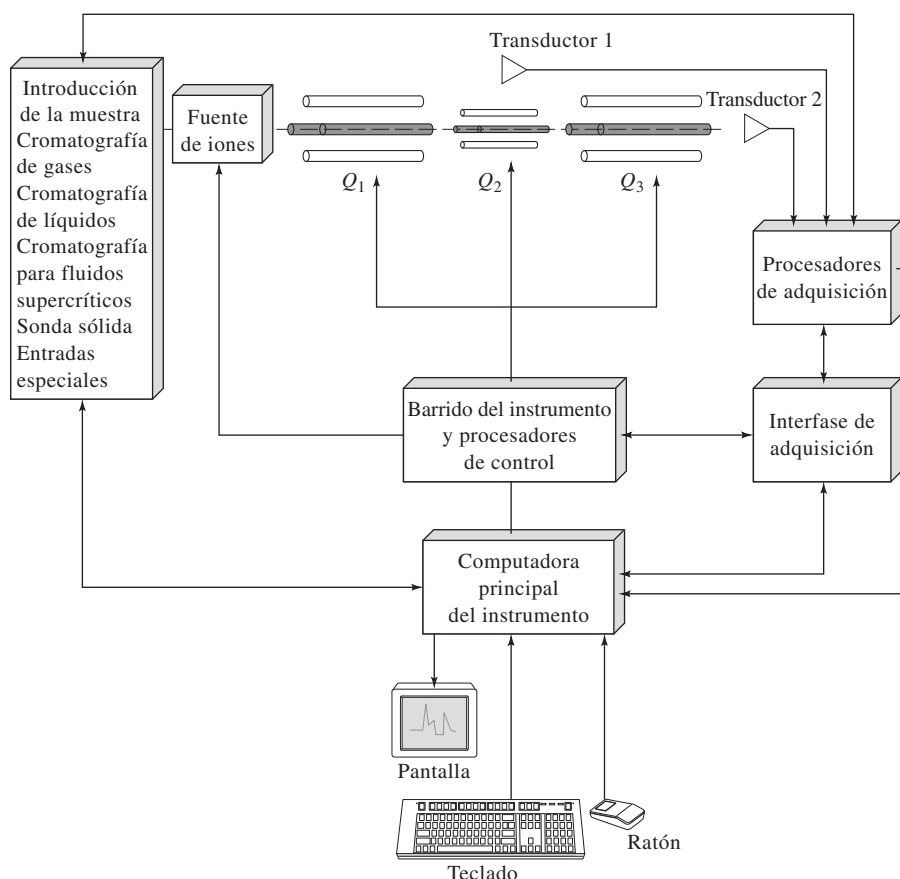


FIGURA 20.24 Control del instrumento y organización de los datos para un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo.

menudo como patrón la perfluorotri-*n*-butilamina (PFTBA) o el perfluoro-queroseno. En trabajos de alta resolución, el patrón se puede introducir junto con la muestra. En este caso, la computadora se programa para identificar y utilizar los picos del patrón como referencias para la asignación de masas. En instrumentos de baja resolución, la calibración se tiene que obtener por lo general en forma separada de la muestra, debido a la probabilidad de que los picos se traslapen.

En la mayoría de los sistemas, las computadoras almacenan en un disco duro todos los espectros y toda la información relacionada. En aplicaciones de rutina, las gráficas de barra correspondientes a los espectros normalizados pueden enviarse directamente a una impresora o a un dispositivo de lectura o pantalla. En muchos casos, el usuario utiliza un programa de reducción de datos para extraer la información específica antes de obtener una copia impresa del espectro. La figura 20.25 muestra un ejemplo de los resultados impresos obtenidos con un espectrómetro de masas computarizado. La primera y la penúltima columnas de la tabla muestran una lista de valores de m/z en orden creciente. La segunda y la última columnas contienen las distintas corrientes de iones normalizadas

respecto al pico más grande que se ha encontrado, en una masas de 156. A la corriente de este ion se le asigna el número 100, y todos los demás picos se expresan respecto a éste. Por consiguiente, la altura del pico en la masas de 141 es 53% del pico base.

Al igual que en las espectroscopias de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, se dispone de extensas colecciones de espectros de masas (>150 000 entradas) en formatos compatibles con las computadoras.²¹ La mayoría de las computadoras con las que están equipados los espectrómetros de masas comerciales es capaz de buscar con rapidez en todos los archivos o en parte de ellos los espectros que coinciden o son muy parecidos al espectro del analito.

20D APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS MOLECULAR

Las aplicaciones de la espectrometría de masas molecular son tan numerosas y abarcan tantos campos que no

²¹ Por ejemplo, consulte F. W. McLafferty, *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 7a. ed., Nueva York: Wiley, 2000. También está disponible en combinación con *NIST Mass Spectral Library* en disco compacto.

Muestra: compuesto desconocido

Fecha: 11/15/2004

m/z	Inten. rel.	m/z	Inten. rel.
41	9	141	53
43	14	142	4
55	5	155	6
69	4	156	100
71	5	157	21
98	5	197	5

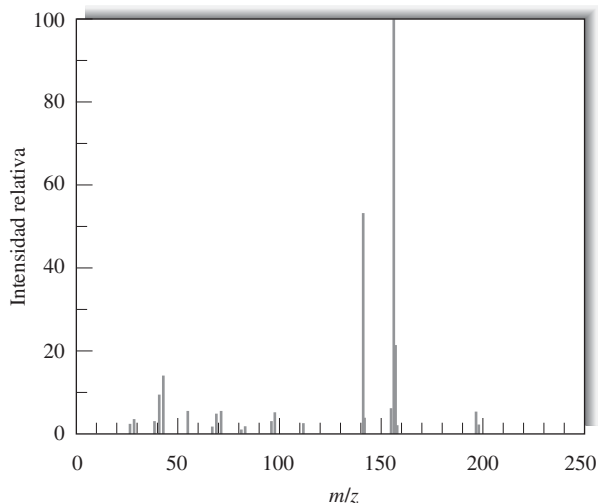


FIGURA 20.25 Una pantalla de computadora con los datos de los espectros de masas. El compuesto fue aislado de un extracto de suero sanguíneo por cromatografía. El espectro muestra que el compuesto es el barbitúrico fenobarbital.

es posible describirlas apropiadamente en poco espacio. En la tabla 20.5 se enlistan algunas aplicaciones para dar una idea de la capacidad de la espectrometría de masas. En este apartado se describen algunas de las aplicaciones más utilizadas e importantes.

20D.1 Identificación de compuestos puros

El espectro de masas de un compuesto puro proporciona diversos tipos de datos que son útiles para su identificación.²² El primero es la masa molecular del compuesto y el segundo es su fórmula molecular. Además, el estudio de los modelos de fragmentación que pone de manifiesto el espectro de masas proporciona información sobre la presencia o ausencia de diversos grupos funcionales. Por último, la identidad real de un compuesto se puede establecer con frecuencia al comparar su espectro de masas con los espectros de compuestos conocidos hasta llegar a una total coincidencia.

²²R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., p. 4, Nueva York: Wiley, 2004; F. W. McLafferty y F. Turecek, *Interpretation of Mass Spectra*, 4a. ed., Mill Valley, CA: University Science Books, 1993.

Determinación de las masas moleculares a partir de los espectros de masas

Para aquellos compuestos que pueden ser ionizados por medio de alguno de los métodos anteriormente descritos para dar un ion molecular o un ion molecular protonado o desprotonado, el espectrómetro de masas es una herramienta insuperable para determinar la masa molecular. Naturalmente, esta determinación requiere identificar el pico del ion molecular, o en algunos casos, del pico $(M + 1)^+$ o $(M - 1)^+$. La ubicación del pico en la abscisa da la masa molecular con una exactitud que no se puede alcanzar con ningún otro método.

Para determinar la masa molecular por espectrometría de masas se tiene que conocer con certeza la identidad del pico del ion molecular. Por esta razón se aconseja siempre ser precavido, en particular con las fuentes de choque por electrones, en las que el pico del ion molecular puede estar ausente o ser pequeño en relación con los picos debidos a las impurezas. Cuando existen dudas, son útiles sobre todo los espectros adicionales obtenidos por ionización química, ionización de campo y ionización por desorción.

Fórmulas moleculares a partir de masas moleculares exactas

Las fórmulas moleculares se pueden determinar a partir del espectro de masas de un compuesto, siempre que se pueda identificar el pico del ion molecular y se determine su masa *exacta*. Sin embargo, esta aplicación requiere un instrumento de alta resolución capaz de detectar diferencias de masas de pocas milésimas de dalton. Por ejemplo, considere las relaciones masa-carga de los siguientes compuestos: purina, $C_5H_4N_4$ ($M = 120.044$); benzamidina, $C_7H_8N_2$ ($M = 120.069$); etil tolueno, C_9H_{12} ($M = 120.096$); y acetofenona, C_8H_8O ($M = 120.058$). Si la masa medida del pico del ion molecular es $120.070 (\pm 0.005)$, entonces todos, excepto la $C_7H_8N_2$ deben excluirse como fórmulas posibles. Observe que la precisión en este ejemplo es de alrededor de 40 ppm. Con instrumentos de doble enfoque de alta resolución se consiguen de forma rutinaria incertidumbres de algunas partes por millón. Se han compilado tablas que enlistan todas las combinaciones razonables de C, H, N y O por masa molecular hasta la tercera o cuarta cifra decimal.²³ En la quinta columna de la tabla 20.6 se presenta una pequeña muestra de una compilación de este tipo.

Fórmulas moleculares a partir de relaciones isotópicas

Los datos de un instrumento de baja resolución que sólo puede discriminar entre iones cuyas masas difie-

²³J. H. Beynon y A. E. Williams, *Mass and Abundance Tables for Use in Mass Spectrometry*, Nueva York: Elsevier, 1963.

TABLA 20.5 Aplicaciones de la espectrometría de masas molecular.

1. Elucidación de la estructura de moléculas orgánicas y biológicas.
2. Determinación de la masas molecular de péptidos, proteínas y oligonucleótidos.
3. Identificación de los componentes en cromatogramas en capa fina y papel.
4. Determinación de sucesiones de aminoácidos en muestras de polipéptidos y proteínas.
5. Detección e identificación de especies separadas por cromatografía y electroforesis capilar.
6. Identificación de drogas y sus metabolitos en sangre, orina y saliva.
7. Control de gases en el aliento del paciente durante procesos quirúrgicos.
8. Pruebas para confirmar la presencia de drogas en sangre de caballos de carreras y en atletas olímpicos.
9. Datación de especímenes arqueológicos.
10. Análisis de las partículas de los aerosoles.
11. Determinación de residuos de plaguicidas en alimentos.
12. Control de compuestos orgánicos volátiles en el suministro de agua.

TABLA 20.6 Porcentajes de abundancia isotópica y masas moleculares de diversas combinaciones de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno.

Abundancia, % M de la altura del pico				
	Fórmula	$\mathcal{M} + 1$	$\mathcal{M} + 2$	Masas molecular
$\mathcal{M} = 83$	$\text{C}_2\text{HN}_3\text{O}$	3.36	0.24	83.0120
	$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_4$	3.74	0.06	83.0359
	C_3HNO_2	3.72	0.45	83.0007
	$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2\text{O}$	4.09	0.27	83.0246
	$\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_3$	4.47	0.08	83.0484
	$\text{C}_4\text{H}_3\text{O}_2$	4.45	0.48	83.0133
	$\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}$	4.82	0.29	83.0371
	$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_2$	5.20	0.11	83.0610
	$\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$	5.55	0.33	83.0497
	$\text{C}_5\text{H}_9\text{N}$	5.93	0.15	83.0736
	C_6H_{11}	6.66	0.19	83.0861
$\mathcal{M} = 84$	CN_4O	2.65	0.23	84.0073
	$\text{C}_2\text{N}_2\text{O}_2$	3.00	0.43	83.9960
	$\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3\text{O}$	3.38	0.24	84.0198
	$\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$	3.75	0.06	84.0437
	C_3O_3	3.36	0.64	83.9847
	$\text{C}_3\text{H}_2\text{NO}_2$	3.73	0.45	84.0085
	$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$	4.11	0.27	84.0324
	$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_3$	4.48	0.08	84.0563
	$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2$	4.46	0.48	84.0211
	$\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}$	4.84	0.29	84.0449
	$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2$	5.21	0.11	84.0688
	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$	5.57	0.33	84.0575
	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}$	5.94	0.15	84.0814
	C_6H_{12}	6.68	0.19	84.0939
	C_7	7.56	0.25	84.0000

Tomado de R. M. Silverstein, G. C. Bassler y T. C. Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 4a. ed., p. 49, Nueva York: Wiley, 1981.

ren en un número entero de masas pueden dar información útil sobre la fórmula de un compuesto, siempre que el pico del ion molecular sea suficientemente intenso para que su altura y las alturas de los picos de los isótopos $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ puedan determinarse con exactitud. Con el ejemplo 20.5 se ilustra este tipo de análisis.

El uso de las alturas relativas de los picos de isótopos para determinar las fórmulas moleculares se facilita mucho con las tablas a que se refiere la nota 21 y por las compilaciones disponible para análisis por computadora. En la tabla 20.6 se proporciona una lista de todas las combinaciones razonables de C, H, O y N para los números de masas 83 y 84 (las tablas originales llegan hasta el número de masas 500). Están tabuladas las alturas de los picos $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ dadas como porcentajes de la altura del pico M^+ . Si se puede llevar a cabo una determinación experimental de esos porcentajes con una exactitud razonable se puede deducir con facilidad una fórmula probable. Por ejemplo, un pico de ion molecular a una masas de 84 con valores de $(M + 1)^+$ y $(M + 2)^+$ de 5.6 y 0.3% de M^+ sugiere un compuesto que tenga la fórmula C_5H_8O .

EJEMPLO 20.5

Calcule las relaciones entre las alturas de los picos $(M + 1)^+$ a M^+ para los dos compuestos siguientes: dinitrobenceno, $C_6H_4N_2O_4$ ($M = 168$), y una olefina, $C_{12}H_{24}$ ($M = 168$).

Solución

En la tabla 20.3 se puede ver que por cada 100 átomos de ^{12}C hay 1.08 átomos de ^{13}C . Como hay seis átomos de carbono en el nitrobenceno, se podría esperar que hubiese $6.48 = 6 \times 1.08$ moléculas de nitrobenceno con un átomo de ^{13}C por cada 100 moléculas que no tengan ninguno. Por consiguiente, sólo debido a este efecto, el pico $(M + 1)^+$ será el 6.48% del pico M^+ . Los isótopos de los otros elementos también afectan a este pico, por lo que se pueden tabular los efectos como sigue:

$C_6H_4N_2O_4$	
^{13}C	$6 \times 1.08 = 6.48\%$
^2H	$4 \times 0.015 = 0.060\%$
^{15}N	$2 \times 0.37 = 0.74\%$
^{17}O	$4 \times 0.04 = 0.16\%$
$(M + 1)^+/M^+ = 7.44\%$	
$C_{12}H_{24}$	
^{13}C	$12 \times 1.08 = 12.96\%$
^2H	$24 \times 0.015 = 0.36\%$
$(M + 1)^+/M^+ = 13.32\%$	

Por tanto, si se pueden medir las alturas de los picos M^+ y $(M + 1)^+$ es posible distinguir entre estos dos compuestos que tienen masas moleculares de número entero idénticas.

La relación isotópica es particularmente útil para la detección y determinación del número de átomos de azufre, cloro y bromo que hay en una molécula debido a que contribuye en gran medida a la formación de $(M + 2)^+$ (véase tabla 20.3). Por ejemplo, la presencia de un $(M + 2)^+$ que es alrededor de 65% del pico M^+ es evidencia de que la molécula tiene dos átomos de cloro; por otro lado, un pico $(M + 2)^+$ de 4% sugiere la presencia de un átomo de azufre.

Información estructural a partir de modelos de fragmentación

Los estudios sistemáticos de modelos de fragmentación de sustancias puras dieron origen al establecimiento de ciertas guías racionales para predecir los mecanismos de fragmentación y una serie de reglas generales que son de utilidad para la interpretación de espectros.²⁴ Rara vez es posible, o deseable, explicar todos los picos del espectro. Lo que se busca en lugar de eso son los patrones característicos. Por ejemplo, el espectro de la figura 20.26 se caracteriza por grupos de picos que difieren en una masas de 14 unidades. Un patrón así es característico de las parafinas de cadena lineal, en las que la rotura de los enlaces carbono-carbono adyacentes da lugar a la pérdida de grupos sucesivos de CH_2 que tienen esta masas. Por lo regular, los fragmentos de hidrocarburos más estables contienen tres o cuatro átomos de carbono y los picos correspondientes son por consiguiente los más grandes.

En general, los alcoholes tienen un pico de ion molecular muy débil o inexistente, pero, a menudo, pierden agua y producen un pico intenso a $(M - 18)^+$. También es frecuente la escisión del enlace $C-C$ próximo a un oxígeno, y los alcoholes primarios tienen siempre un pico intenso a una masas de 31 debido al CH_2OH^+ . Hay extensas compilaciones de generalizaciones relacionadas con el uso de los datos espectrales de masas para la identificación de compuestos orgánicos. El lector interesado puede consultar las referencias de la nota 22.

Identificación de compuestos por comparación de espectros

En general, después de determinar la masas molecular del analito y estudiar su distribución isotópica y los patrones de fragmentación, el espectroscopista con expe-

²⁴Por ejemplo, véase R. M. Silverstein, F. X. Webster y D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a. ed., Nueva York: Wiley, 2004.

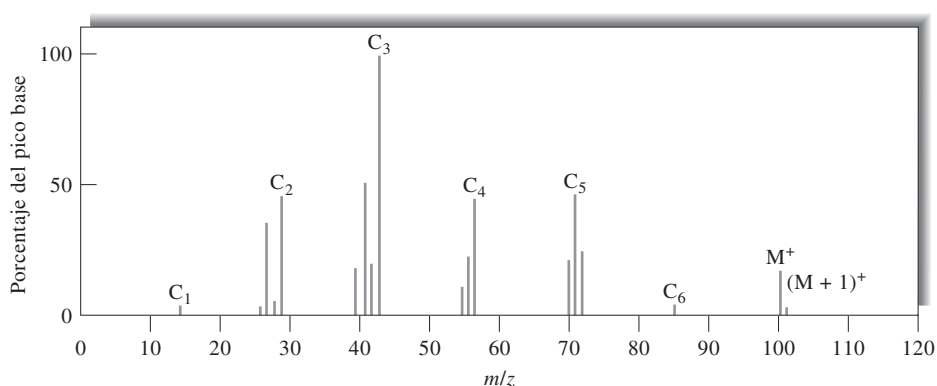


FIGURA 20.26 Espectro por impacto de electrones del *n*-heptanal. Los picos marcados con C_6 , C_5 , . . . , C_1 corresponden a las pérdidas sucesivas de un grupo CH_2 .

riencia es capaz de limitar las posibles estructuras a unas pocas. Cuando hay compuestos de referencia disponibles, la identificación final se basa en una comparación de los espectros de masas del analito con los espectros de muestras auténticas de los compuestos esperados. El procedimiento se establece con las hipótesis: 1) que los modelos de fragmentación son únicos y 2) que las condiciones experimentales se pueden controlar lo suficiente como para conseguir espectros reproducibles. A menudo, la primera suposición no es válida para los espectros de estereoisómeros y de isómeros geométricos y, a veces, tampoco es válida para ciertos tipos de compuestos muy relacionados entre sí. La probabilidad de que compuestos diferentes puedan tener el mismo espectro se hace cada vez menor a medida que aumenta el número de picos espectrales. La hipótesis 2 también puede ser problemática. Los espectros obtenidos por choque de electrones son reproducibles sin duda de laboratorio en laboratorio. No obstante, los espectros de otros orígenes pueden variar de manera importante. Por esta razón, la ionización por impacto de electrones es el método de elección para la comparación de espectros y para formar bibliotecas de ellos.

Por desgracia, las alturas de los picos de los espectros de masas dependen en gran medida de variables como la energía del haz de electrones, la ubicación de la muestra respecto al haz, la presión y la temperatura de la muestra y la configuración general del espectrómetro de masas. Como consecuencia, se observan variaciones importantes en la abundancia relativa para espectros obtenidos en diferentes laboratorios y con distintos instrumentos. Sin embargo, en numerosas ocasiones se ha demostrado que es posible identificar analitos desconocidos mediante los espectros de colecciones obtenidos con diversos instrumentos y distintas condiciones de trabajo. Por lo regular, lo mejor es con-

firmar la identidad de un compuesto comparando su espectro con el de un compuesto auténtico obtenido con el mismo instrumento y en idénticas condiciones.

Sistemas computarizados de comparación de espectros. A pesar de que las colecciones de espectros de masas están disponibles en forma de textos,²⁵ los espectrómetros de masas más modernos están equipados con eficaces sistemas de búsqueda computarizados de colecciones de espectros. Por lo regular, se dispone de dos tipos de colecciones de espectros: unas muy extensas y otras más pequeñas pero muy específicas. Las colecciones de espectros de masas más extensas (>300 000 espectros) son comercializadas por John Wiley & Sons.²⁶ Una característica especial de esta compilación es que está disponible en disco compacto y que la comparación puede efectuarse en una computadora personal. Por lo regular, las colecciones de espectros pequeñas contienen de unos cientos a algunos miles de espectros aplicables a un área determinada, como residuos de plaguicidas, drogas o muestras forenses. A menudo, las colecciones pequeñas forman parte de los programas para el equipo que ofrecen los fabricantes de instrumentos, y casi siempre es posible que el usuario del instrumento genere una colección de espectros o añada más a la ya existente. Hay espectros de masas para alrededor de 15 000 compuestos en el National Institute of Standards and Technology (NIST) en Internet.²⁷

Para un gran número de espectros, como los que se obtienen con un espectrómetro de masas acoplado a un cromatógrafo para identificar los compuestos de una mezcla, el sistema computarizado del instrumento se puede adaptar para efectuar una búsqueda en los



Simulación: aprenda más acerca de la **interpretación espectral de espectrometría de masas**.

²⁵F. W. McLafferty y D. A. Stauffer, *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, 7 vols., Nueva York: Wiley, 1989.

²⁶F. W. McLafferty, *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 7a. ed., Nueva York: Wiley, 2000. También está disponible combinado con *NIST Mass Spectral Library* en disco compacto.

²⁷<http://webbook.nist.gov/>.

archivos de todos los espectros de masas, o de cualquier subgrupo de ellos, asociados con una determinada muestra. Los resultados se muestran al usuario y, si éste lo desea, los espectros de referencia se pueden desplegar en una pantalla o se pueden imprimir para hacer una comparación visual.

20D.2 Análisis de mezclas por métodos espectrales de masas acoplados

Aunque la espectrometría de masas es una poderosa herramienta para la identificación de compuestos puros, es insuficiente para el análisis de mezclas, incluso de las más simples, debido al gran número de fragmentos con diferentes valores de m/z que se producen en cada caso. La interpretación del complejo espectro resultante es a menudo imposible. Por esta razón, los químicos han perfeccionado métodos en los que el espectrómetro de masas está acoplado a varios dispositivos efectivos con los llamados *métodos acoplados*.

Cromatografía-espectrometría de masas

La cromatografía de gases-espectrometría de masas se convirtió en una de las más poderosas herramientas para el análisis de mezclas orgánicas y bioquímicas complejas. En este caso, los espectros de los compuestos se recolectan a medida que salen de la columna cromatográfica. Estos espectros se almacenan en una computadora para el siguiente proceso. La espectrometría de masas se puede acoplar también a la cromatografía de líquidos para analizar muestras que tienen componentes no volátiles. El principal problema que se debe superar en el desarrollo de ambos métodos acoplados es que la muestra que está en la columna cromatográfica está muy diluida por el gas o el líquido portador que atraviesa la columna. Por tanto, se han tenido que perfeccionar métodos para eliminar el diluyente antes de introducir la muestra en el espectrómetro de masas. En las secciones 27B.4 y 28C.6 se describen los instrumentos y las aplicaciones de la cromatografía de gases-espectrometría de masas y cromatografía de líquidos-espectrometría de masas.

Electroforesis capilar-espectrometría de masas

La primera información sobre un acoplamiento de electroforesis capilar con espectrometría de masas se publicó en 1987.²⁸ Desde entonces fue evidente que este método acoplado se convertiría en una poderosa e importante herramienta para el análisis de grandes biopolímeros, como especies de proteínas, polipéptidos y de ADN. En la mayoría de las aplicaciones publicadas hasta el momento, el efuente del capilar pasa directamente a un dispositivo de ionización por elec-

tronebulización y después los productos entran en el filtro de masas cuadrupolar para su análisis. En algunas aplicaciones se utiliza también el bombardeo con átomos rápidos en flujo continuo para la ionización. En la sección 30B.4 se estudia con detalle la electroforesis capilar-espectrometría de masas.

Aplicaciones de la espectrometría de masas en tándem

El impresionante avance en el análisis de mezclas complejas orgánicas y biológicas se inició cuando los espectrómetros de masas se combinaron primero con la cromatografía de gases y después con la cromatografía de líquidos. La espectrometría de masas en tándem puede ofrecer algunas de las mismas ventajas que la cromatografía de gases-espectrometría de masas y la cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, pero es significativamente más rápida. Las separaciones en una columna cromatográfica se realizan en un tiempo que va de pocos minutos a horas, y las separaciones que se realizan en los espectrómetros de masas en tándem tardan milisegundos y son igualmente satisfactorias. Además, las técnicas cromatográficas requieren la dilución de la muestra con una gran cantidad de fase móvil y la eliminación posterior de ésta, lo que incrementa en gran medida la probabilidad de introducir interferencias. Por consiguiente, la espectrometría de masas en tándem es potencialmente más sensible que cualquiera de las técnicas cromatográficas acopladas porque el ruido químico que se produce es generalmente menor. Una desventaja actual de la espectrometría de masas en tándem respecto a los otros dos procedimientos cromatográficos es el elevado costo del equipo; esta dificultad parece disminuir a medida que los espectrómetros de masas en tándem tienen mayores aplicaciones.

En el caso de algunas mezclas complejas, la combinación de cromatografía de gases (CG) o cromatografía de líquidos (CL) y espectrometría de masas no proporciona suficiente resolución. En los años recientes ya es posible acoplar métodos cromatográficos con espectrómetros de masas en tándem para formar sistemas de CG-EM-EM y CL-EM-EM.²⁹ También se han dado a conocer instrumentos de CL-EM.³⁰

Hasta ahora, la espectrometría de masas en tándem se aplicó a la determinación cualitativa y cuantitativa de los componentes de una amplia variedad de materiales complejos que se hallan en la naturaleza y en la industria. Algunos ejemplos son la identificación y de-

²⁹Si desea un panorama de los adelantos en CL-EM-EM consulte R. Thomas, *Spectroscopy*, **2001**, 16, p. 28.

³⁰Por ejemplo, véase, J. C. A. Wuilloud, S. R. Gratz, B. M. Gamble y K. A. Wolnik, *Analyst*, **2004**, 129, p. 150; E. W. Taylor, W. Jia, M. Bush y G. D. Dollinger, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 3232; L. Howells y M. J. Sauer, *Analyst*, **2001**, 126, p. 155.

²⁸J. A. Olivares, N. T. Nguyen, N. T. Yonker y R. D. Smith, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1230. Véase también R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Hudseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 436.

terminación de metabolitos de drogas, feromonas de insectos, alcaloides en plantas, trazas de contaminantes en el aire, secuencias de polímeros, compuestos petroquímicos, bifenilos policlorados, prostaglandinas, gases de escape de motores diesel y olores en el aire. Uno de los campos de aplicación más promisorio es el de la proteómica, el estudio de las proteínas producidas por una célula o por una especie.³¹

20E APLICACIONES CUANTITATIVAS DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Las aplicaciones de la espectrometría de masas para análisis cuantitativo son de dos tipos. El primero está relacionado con la determinación cuantitativa de especies moleculares o tipos de especies moleculares en muestras orgánicas, biológicas y, en ocasiones, inorgánicas. El segundo tiene que ver con la determinación de la concentración de elementos en muestras inorgánicas y, en menor medida, en muestras orgánicas y biológicas. En el primer tipo de análisis se utilizan todas las fuentes de ionización que se enumeran en la tabla 20.1. En los análisis elementales por espectrometría de masas que se estudiaron con detalle en el capítulo 11, se utilizan mucho las fuentes de plasma de acoplamiento inductivo, así como las fuentes de descarga luminiscente, chispa de radiofrecuencia, de rayo láser, térmicas y de iones secundarios.

20E.1 Determinación cuantitativa de especies moleculares

La espectrometría de masas es muy utilizada para la determinación cuantitativa de uno o más componentes de sistemas complejos orgánicos, y a veces inorgánicos, como los que existen en las industrias farmacéuticas o del petróleo, así como en estudios de problemas ambientales. En la actualidad tales análisis se llevan a cabo haciendo pasar la muestra a través de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar y luego por el espectrómetro. Con el espectrómetro fijo en un valor adecuado de m/z se registra la corriente de iones en función del tiempo. Esta técnica se denomina *control selectivo de iones*. En algunos casos se controlan de forma cíclica corrientes de tres o cuatro veces el valor m/z mediante un cambio rápido de un pico a otro. La representación gráfica de los datos consiste en una serie de picos, cada uno de los cuales aparece a un tiempo que es característico de uno de los diversos componentes de la muestra que produce iones del valor o valores elegidos de m/z . En general, las áreas bajo los picos son directamente proporcionales a las concentraciones del componente y se usan para las determinaciones. En este tipo de procedimiento, el espectrómetro de masas

actúa sólo como un complejo detector selectivo para *análisis cromatográficos o electroforéticos cuantitativos*. Más detalles de la cromatografía de gases y de líquidos cuantitativa se dan en las secciones 27B.4 y 28C.6. El uso del espectrómetro de masas como detector en electroforesis capilar se explica en la sección 30B.4.

En el segundo tipo de espectrometría de masas cuantitativa para especies moleculares, las concentraciones de analito se obtienen de manera directa a partir de las alturas de los picos de los espectros de masas. Para mezclas sencillas a veces es posible encontrar picos a un valor m/z único para cada componente. En estas condiciones se pueden preparar curvas de calibración de las alturas de los picos contra concentración y utilizarlas para el análisis de muestras desconocidas. Sin embargo, por lo común se pueden obtener resultados más exactos añadiendo una cantidad fija de una sustancia patrón interno tanto a las muestras como a los patrones de calibración. La relación entre la intensidad de pico de las especies de analito y los patrones internos se grafica en función de la concentración de analito. El patrón interno tiende a reducir las incertidumbres que surgen en la preparación de la muestra y en su introducción. A menudo, dichas incertidumbres son la principal fuente de errores indeterminados dadas las pequeñas cantidades de muestra que se requieren en espectrometría de masas. Los patrones internos se utilizan también en CG-EM y CL-EM. En el caso de estas técnicas, la relación entre las áreas de los picos sirve como variable analítica.

Un tipo de patrón interno adecuado es un análogo estable del analito marcado isotópicamente. Por lo regular, para el marcaje se requiere la preparación de muestras del analito en la que se han incorporado uno o más átomos de deuterio, carbono 13 o nitrógeno 15. Se supone que durante el análisis las moléculas marcadas se comportan de la misma forma que las no marcadas. El espectrómetro de masas distingue con facilidad entre las dos. Otro tipo de patrón interno es un homólogo del analito que produzca un pico de ion de intensidad razonable para un fragmento que sea químicamente similar al componente del analito que se desea medir.

Con instrumentos de baja resolución rara vez se pueden localizar picos que sean únicos para cada componente de una mezcla. En este caso también es posible efectuar el análisis recogiendo datos de intensidad a un número de valores de m/z que igualen o excedan el número de componentes de la muestra. Entonces se establecen sistemas de ecuaciones simultáneas que relacionan la intensidad de cada valor de m/z con la

³¹ Véase N. L. Kelleher, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 196A; F. W. McLafferty, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2001**, 212, p. 81.



Clase interactiva: aprenda más acerca de las **aplicaciones cuantitativas de la espectrometría de masas**.

aportación que hace cada componente a la intensidad. Al resolver dichas ecuaciones se obtiene la información cuantitativa que se desea. Otra opción es aplicar métodos quimiométricos, como los mínimos cuadrados parciales o el análisis del componente principal.

Precisión y exactitud

La precisión de las medidas cuantitativas de los espectros de masas realizadas por el procedimiento descrito apenas está en el intervalo de 2 a 10% relativo. La exactitud analítica varía en forma considerable dependiendo de la complejidad de la mezcla por analizar y de la naturaleza de sus componentes. En mezclas de hidrocarburos gaseosos que contengan de 5 a 10 componentes son característicos los errores de 0.2 a 0.8 moles por ciento.

Aplicaciones

Las primeras aplicaciones cuantitativas de la espectrometría de masas tendían a enfocarse en los productos del petróleo y en la caracterización de materiales industriales. En años recientes la espectrometría de masas cuantitativa se aplicó en muchos campos, como los polímeros industriales, muestras ambientales y forenses, y cada vez más a los materiales biológicos.

La espectrometría de masas ha sido también muy utilizada para la caracterización y análisis de materiales poliméricos de elevada masas molecular. En las aplicaciones recientes, la espectrometría de masas con MALDI es el método de elección.³² Las técnicas acopladas, como la combinación de exclusión de tamaño y cromatografía de líquidos con MALDI, son muy efectivas para conocer las características de sustancias poliméricas complejas. Los métodos de pirólisis combinados con CG-EM son muy populares para la identificación de polímeros. En este caso la muestra se piroliza primero y los productos volátiles se introducen en la CG-EM para su análisis. Otra posibilidad es que el calentamiento se puede llevar a cabo en la sonda de un sistema de entrada directo. Algunos polímeros dan en esencia un fragmento único, por ejemplo, el isopreno que proviene del caucho natural, el estireno del poliestireno, el etileno del polietileno y el $\text{CF}_2=\text{CFCl}$ del Kel-F. Otros polímeros dan dos o más productos, lo cual depende de la cantidad y de la temperatura de la pirólisis. Los estudios sobre los efectos de la temperatura pueden proporcionar información sobre la estabilidad de los diversos enlaces, así como sobre la distribución aproximada de masas molecular.

En el análisis ambiental se ha incrementado el uso de los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo con cuadrupolos, trampa de iones y de transformada de Fourier, además de los métodos de ionización por desorción como MALDI.³³ La detección y la determinación cuantitativa de contaminantes ampliamente diversos, como los perfluoroorgánicos, éteres de difenilo polibrominados, productos farmacéuticos, subproductos de la desinfección del agua, plaguicidas, toxinas de algas, tensoactivos, éter metil-*t*-butílico, arsénico y varios microorganismos se pueden efectuar mediante métodos espectrométricos de masas. La espectrometría de masas también se utiliza para determinar compuestos de interés para la seguridad de una región geográfica.³⁴

En las ciencias forenses, la espectrometría de masas y la CG-EM se utilizan ampliamente para detectar explosivos y materiales que usan los pirómanos para iniciar incendios, para analizar fluidos corporales y cabellos, para verificar si los atletas usan fármacos prohibidos, para saber si los caballos de carreras consumieron sustancias prohibidas, para examinar materiales de evidencia como pinturas y fibras.³⁵ Los espectrómetros de masas ya son indispensables en el laboratorio forense.

En el laboratorio clínico, la CG-EM, CL-EM y la espectrometría de masas en tándem están aumentando sus aplicaciones.³⁶ La técnica de CG-EM se usa ampliamente para analizar los perfiles urinarios de pacientes en los que se sospechan trastornos metabólicos. Los métodos de espectrometría en tándem ya se están volviendo normales para detectar en los recién nacidos alguna enfermedad metabólica.³⁷ Los métodos de CL-EM y de espectrometría de masas en tándem están reemplazando algunos métodos tradicionales inmunológicos y fluorométricos para la determinación cuantitativa relacionada con el control de fármacos y la toxicología.

Hay muchas otras aplicaciones biológicas de la espectrometría de masas que están surgiendo. La espectrometría de masas siempre ha sido importante para identificar proteínas, sobre todo en el análisis de péptidos que provienen de la digestión con enzimas proteolíticas como la tripsina. Recientemente se analizaron en forma directa proteínas intactas y fragmentos de proteínas grandes mediante espectrometría de masas en tándem.³⁸ Al parecer, la ionización por electronebulización junto con EM-EM de transformada de

³³ S. D. Richardson, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3337.

³⁴ W. D. Smith, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 462A.

³⁵ Véase J. Yinon, *Forensic Applications of Mass Spectrometry*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.

³⁶ Véase D. H. Chace, *Chem. Rev.*, **2001**, 101, p. 445.

³⁷ K. C. Kooley, *Clin. Biochem.*, **2003**, 36, p. 471.

³⁸ G. E. Reid y S. A. McLuckey, *J. Mass Spectrom.*, **2002**, 37, p. 663.

³² Véase P. M. Peacock y C. N. McEwen, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3417; H. Pasch y W. Schreppe, *MALDI-TOF Mass Spectrometry of Synthetic Polymers*, Berlin: Springer-Verlag, 2003.

Fourier con elevado campo magnético es útil en particular para tales determinaciones. La espectrometría

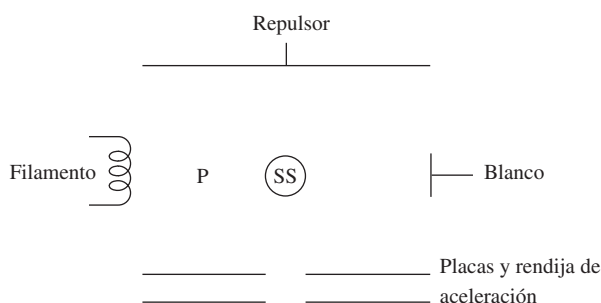
de masas ahora desempeña un papel principal en el campo de la proteómica.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor mediante hojas de cálculo.

- 20.1** ¿En qué difieren las fuentes gaseosas y las de desorción? ¿Cuáles son las ventajas de cada una de ellas?
- 20.2** ¿En qué difieren los espectros obtenidos por impacto de electrones, ionización por campo y ionización química?
- 20.3** Describa las diferencias entre las fuentes de ionización gaseosa por campo y por desorción por campo.
- 20.4** La siguiente figura es un diagrama simplificado de una fuente de impacto de electrones disponible en el comercio.



- a) ¿Qué potencial se debe aplicar entre el filamento y el blanco para que los electrones que interaccionan con las moléculas en el punto marcado como SS (fuente de la muestra) tengan una energía cinética de 70 eV?
- b) ¿Qué le sucede a una molécula que se difunde hacia el filamento y se ioniza en el punto P?
- *20.5** Cuando un instrumento de sector magnético funciona con un potencial de aceleración de 3.00×10^3 V, se requiere un campo de 0.126 T para enfocar el CH_4^+ en el detector.
- a) ¿Qué intervalo de valores de intensidad de campo se necesita para barrer el intervalo de masas comprendido entre 16 y 250 para iones con una sola carga si el potencial de aceleración se mantiene constante?
- b) ¿Qué intervalo de potenciales de aceleración se necesita para barrer el intervalo de masas comprendido entre 16 y 250 para iones con una carga única si la fuerza del campo se mantiene constante?
- *20.6** Calcule el potencial de aceleración que sería necesario para dirigir iones con una carga única y masas de 7500 a través de un instrumento que es idéntico al que se describió en el ejemplo 20.4.
- *20.7** El voltaje de aceleración de iones en un espectrómetro de masas de cuadrupolo es de 5.00 V. ¿Cuánto tiempo tardará un ion de ciclohexano con una sola carga

en recorrer la longitud de 15.0 cm del conjunto de barras? Suponga que la velocidad inicial del ion en la dirección z es cero.

- 20.8** En el capítulo 11, en la sección “Trayectorias de los iones en un cuadrupolo” se realiza un estudio cualitativo que describe cómo se comporta un ion positivo en el plano xz (plano de potencial de cd positivo) de un filtro de masas de cuadrupolo. Elabore un razonamiento similar para explicar el comportamiento de los iones positivos en el plano yz (plano de potencial de cd negativo).
- 20.9** ¿Por qué los espectrómetros de masas de doble enfoque dan picos más estrechos y tienen una resolución más alta que los instrumentos de enfoque sencillo?
- 20.10** Analice las diferencias entre los espectrómetros de masas de cuadrupolo y trampa de iones y los espectrómetros de masas de resonancia iónica ciclotrónica de transformada de Fourier.
- *20.11** Calcule la resolución necesaria para distinguir picos para
- CH_2N ($M = 28.0187$) y; N_2^+ ($M = 28.0061$).
 - C_2H_4^+ ($M = 28.0313$) y; CO^+ ($M = 27.9949$).
 - $\text{C}_3\text{H}_7\text{N}_3^+$ ($M = 85.0641$) y; $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}^+$ ($M = 85.0653$).
 - androst-4-en-3,17,diona (M^+) y $m/z = 286.1930$ y una impureza a 286.1240.
-  **20.12** ¿Qué diferencias de masas se pueden distinguir justo a valores de m de 100, 500, 1500, 3000 y 5000 si el espectrómetro de masas tiene una resolución de
- 500, b) 1000, c) 3000, d) 5000?
- *20.13** Calcule la relación de las alturas de pico entre $(M + 2)^+$ y M^+ y entre $(M + 4)^+$ y M^+ para
- $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Br}_2$, b) $\text{C}_3\text{H}_7\text{ClBr}$, c) $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$.
- 20.14** En un espectrómetro de masas de sector magnético (enfoque simple), podría ser conveniente en algunos casos controlar un determinado valor m/z , a continuación controlar un segundo valor m/z y repetir este control en forma cíclica. El cambio rápido entre dos voltajes de aceleración mientras se mantienen las otras condiciones constantes se conoce como *igualación de picos*.
- Deduzca una expresión general que vincule la relación entre los voltajes de aceleración y la relación de los valores de m/z correspondientes.
 - Utilice esta ecuación para calcular la m/z de un pico de un analito si la m/z del ion que se utiliza como patrón, CF_3^+ , es de 69.00 y la relación $V_{\text{analito}}/V_{\text{patrón}}$ es 0.965035.
 - Con base en la respuesta del inciso b) y suponiendo que el analito es un compuesto orgánico cuya masas es 143, establezca algunas conclusiones sobre la respuesta del inciso b) y sobre el compuesto.
- 20.15** Si se desea medir la masas aproximada de un ion sin utilizar un patrón, se puede lograr con la variante siguiente de la técnica de igualación de picos descrita en el problema 20.14. Esta técnica se utiliza para conseguir que el ion P^+ y el $(P + 1)^+$ alcancen alternativamente el detector. Se supone que la diferencia de masas entre P^+ y $(P + 1)^+$ se debe a que se reemplaza un átomo de ^{13}C con uno de ^{12}C .
- Si el voltaje de aceleración para $(P + 1)^+$ se denomina V_2 y para P^+ es V_1 , deduzca una ecuación que relacione el cociente de los voltajes V_2/V_1 con la masas de P^+ .
 - Si $V_2/V_1 = 0.987753$, calcule la masas del ion P^+ .
- 20.16** Analice las principales diferencias entre un espectrómetro de masas en tándem en el espacio y un espectrómetro de masas en tándem en el tiempo. Mencione las ventajas y desventajas de cada tipo de instrumento.

20.17 Identifique los iones que ocasionan los picos del espectro de masas de la figura 20.20b.

20.18 Identifique los iones causantes de los cuatro picos que tienen relaciones de masas-carga mayores que el pico M^+ de la figura 20.4a.

Problema de reto

20.19 En la figura 20.27 se ilustra un espectro de masas del mismo compuesto proveniente de una fuente de ionización por impacto de electrones y de una fuente de ionización.

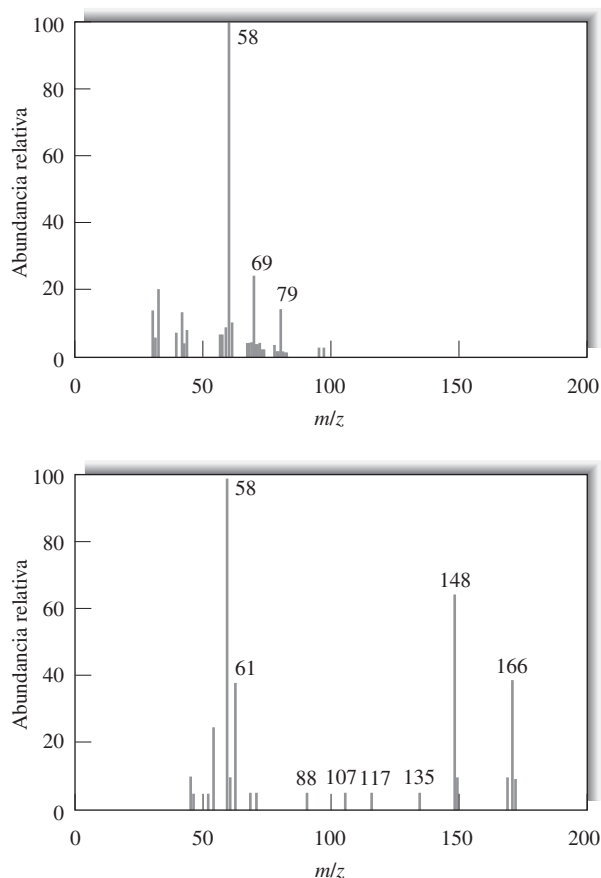


FIGURA 20.27 Espectro obtenido por impacto de electrones a) y espectro por ionización química b) del mismo compuesto biológicamente importante. (Tomado de H. M. Fales, H. A. Lloyd y G. A. W. Milne, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1970**, 92, pp. 1590-1597. American Chemical Society.)

- ¿Cuál espectro de masas podría ser mejor para determinar la masas molecular del compuesto? ¿Por qué?
- ¿Cuál espectro de masas podría ser mejor para determinar la estructura química? ¿Por qué?
- La fuente de impacto por electrones era una fuente de pulsos que usaba un analizador de masas de tiempo de vuelo. Si el tubo de vuelo fuera de 1.0 m de longitud y el voltaje de aceleración fuera de 3000 V, ¿cuál sería el tiempo de vuelo para el ion a $m/z = 58$?

- d) Para dos iones con valores de m/z de m_1/z y m_2/z , deduzca una ecuación para la diferencia en tiempos de vuelo Δt_F en función de las dos masas, las cargas y el voltaje de aceleración.
- e) En el caso del mismo analizador de tiempo de vuelo del inciso c), calcule la diferencia en los tiempos de vuelo entre los iones de $m/z = 59$ y $m/z = 58$.
- f) Con el fin de obtener mayor información acerca de la estructura, el compuesto de la figura 20.27 se sometió a una espectrometría de masas en tándem. ¿Cuál fuente de ionización, por impacto de electrones o ionización química, sería la más apropiada para este fin? ¿Por qué?
- g) Si se usa la fuente de ionización que escogió en el inciso f), describa los tipos de espectros de masas que se podrían obtener a partir de un experimento EM-EM si:
 - 1) se mantiene constante el primer analizador de masas y se barre con el segundo analizador.
 - 2) se barre con ambos analizadores con una pequeña diferencia de m/z entre ellos.
 - 3) si se barre con el primer analizador y se mantiene constante el segundo analizador.
 - 4) si se barre con el segundo analizador de masas por cada masas que selecciona el primer analizador.

En sus respuestas utilice las características del espectro de masas de la figura 20.27 para ilustrar su descripción.

Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía

Por lo regular, la superficie de un sólido en contacto con una fase líquida o gaseosa difiere sustancialmente del interior del sólido tanto en composición química como en sus propiedades físicas. A menudo la caracterización de estas propiedades de la superficie es de vital importancia en numerosos campos, como la catálisis heterogénea, el perfeccionamiento y las aplicaciones de los sensores y la tecnología de las delgadas películas semiconductoras. Dicha caracterización ayuda también a entender los mecanismos de corrosión y de adhesión, la actividad de las superficies metálicas, las propiedades de fragilidad y los estudios sobre el comportamiento y las funciones de las membranas biológicas. Este capítulo trata de la investigación sobre las superficies sólidas mediante métodos espectroscópicos y microscópicos. Aunque se pone el énfasis en las superficies sólidas, algunas de las técnicas también se aplican a otras interfases, como las de líquido-líquido y líquido-gas.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog> encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

21A INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LAS SUPERFICIES

Antes de considerar cuáles son las características de las superficies, es necesario definir primero qué es la superficie de un sólido que está en contacto con una segunda fase líquida o gaseosa.

21A.1 Definición de una superficie sólida

Considere que una *superficie* es la capa límite entre un sólido y el vacío, un gas o un líquido. En general se piensa que la superficie es una parte del sólido cuya composición promedio difiere del resto. De acuerdo con esta definición, la superficie comprende no sólo la capa superior de átomos o moléculas de un sólido, sino también la capa de transición con una composición no uniforme y que varía continuamente desde la capa más externa hasta alcanzar el volumen del sólido. Por consiguiente, el espesor de una superficie puede estar constituido por sólo algunas o varias decenas de capas atómicas. Sin embargo, la diferencia en la composición de las capas superficiales no afecta en forma importante la composición promedio total medida del conjunto, porque la capa superficial constituye casi siempre sólo una pequeña fracción del total del sólido. Desde un punto de vista práctico, parece más correcto aceptar como definición operacional de superficie la de aquel volumen de un sólido del que se sacan muestras mediante una técnica específica de medición. Esta definición admite el hecho de que si se usan varias técnicas de superficie, de hecho se podrían estar tomando muestras de distintas superficies y obtener por tanto diferentes resultados, aunque útiles.

21A.2 Tipos de mediciones de superficies

A lo largo del último siglo se desarrolló una extensa variedad de métodos para caracterizar las superficies. Los métodos clásicos, que todavía son de gran importancia, proporcionan valiosa información acerca de la naturaleza física de las superficies, pero no mucha sobre su naturaleza química. Estos métodos involucran la obtención de imágenes de las superficies por microscopía óptica y electrónica, así como mediciones de las isothermas de adsorción, el área y la rugosidad de la superficie, el tamaño de los poros y la flexibilidad. A comienzos de los años cincuenta del siglo pasado, los métodos espectroscópicos de superficies que empezaron a aparecer proporcionaron información acerca de su naturaleza química.

Este capítulo está dividido en dos grandes apartados. Después de una introducción a los métodos de superficies en la sección 21B, se estudian las técnicas espectroscópicas de electrones, de iones y de fotones para identificar las especies químicas que conforman las superficies de los sólidos y para determinar sus con-

centraciones. En las secciones 21F y 21G se estudian los métodos microscópicos para obtener imágenes de las superficies y determinar su morfología y sus características físicas.

21B MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS PARA SUPERFICIES

En general, la composición química de la superficie de un sólido difiere con frecuencia en forma importante de la del interior del sólido. La mayor parte de este texto se ha centrado en los métodos analíticos que proporcionan sólo información sobre la composición de todo el sólido. En ciertas áreas de la ingeniería y de la ciencia, conocer la composición química de la capa superficial de un sólido es mucho más importante que conocer la composición general del material.

Los métodos espectroscópicos para superficies proporcionan información *química* tanto cualitativa como cuantitativa sobre la composición de la capa superficial de un sólido que mide desde unas cuantas decenas de nanómetros (unos pocos angstroms) hasta unos pocos nanómetros (unas pocas décimas de angstrom) de espesor. En este apartado se describen algunas de las técnicas espectroscópicas que más se utilizan.¹

21B.1 Experimentos espectroscópicos con superficies

En la figura 21.1 se muestra la manera general de llevar a cabo el examen espectroscópico de una superficie. Una muestra sólida se irradia con un *haz primario* de fotones, electrones, iones o moléculas neutras. El impacto de este haz contra la superficie da como resultado un *haz secundario* que también está formado de fotones, electrones, moléculas o iones de la superficie del sólido. El espectrómetro detecta el haz secundario. Hay que señalar que el tipo de partícula que forma el haz primario no tiene necesariamente que ser el mismo que forme el haz secundario. Este último, que es el resultado de un proceso de dispersión, de evaporación por bombardeo o de emisión, se estudia entonces por diversos métodos espectroscópicos.

Los métodos más eficaces para las superficies son aquellos en los que el haz primario, el haz secundario o ambos están constituidos por electrones, iones o moléculas, pero no por fotones, debido a que esta limitación asegura que las mediciones se ciñan a las superficies de las muestras y no a su totalidad. Por ejemplo, la máxima penetración en profundidad de un haz de

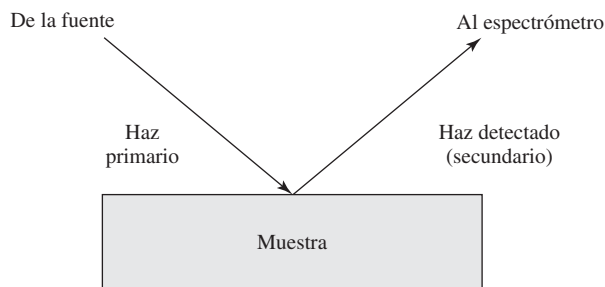


FIGURA 21.1 Esquema general de la espectroscopía para superficies. Los haces pueden ser de fotones, electrones, iones o moléculas neutras.

iones o electrones de 1 keV es aproximadamente 2.5 nm (25 Å), mientras que la penetración de un haz de fotones de la misma energía es de 1000 nm (10^4 Å). Por consiguiente, debe tenerse precaución especial con los métodos en los que se utilizan dos rayos de fotones, como la fluorescencia de rayos X (véase capítulo 12), espectroscopía de reflexión en el infrarrojo (véase capítulo 17), elipsometría o espectroscopía Raman de resonancia (véase capítulo 18) para limitar la medición a la capa superficial. Las técnicas que utilizan haces primarios y secundarios de fotones y que se estudian en esta sección son resonancia de superficie de plasmones, espectroscopía óptica no lineal y elipsometría.

Las técnicas para superficies se clasifican de diversas maneras. Muchas se basan en la naturaleza de los haces primario y secundario. En la tabla 21.1 se enlistan las técnicas espectroscópicas más utilizadas y se tratan más adelante en esta misma sección.

21B.2 Muestreo de las superficies

Se emplean tres tipos de métodos de muestreo independientemente del tipo de técnica espectroscópica de superficie que se utilice. En el primero de ellos, el haz primario se enfoca en una pequeña área de la muestra y se observa el haz secundario. Con frecuencia, la zona se elige visualmente con la ayuda de un microscopio óptico. El segundo método supone hacer un mapa de la superficie, para lo cual se barre una región de ella desplazando el haz primario de lado a lado de la misma en un *patrón de rastreo* o exploración en incrementos medidos y se observan los cambios que se originan en el haz secundario. El trazo del mapa puede ser lineal o en dos dimensiones. La tercera técnica se conoce con el nombre de perfil de profundidad. En este caso, un haz de iones procedentes de un cañón horada la superficie mediante erosión por bombardeo. Durante este proceso un haz primario más fino origina un haz secundario procedente del centro del orificio, el cual proporciona datos analíticos de la composición de la superficie en función de la profundidad.

¹Para una descripción de las distintas técnicas espectroscópicas para superficies, véase *Surface Analysis — The Principal Techniques*, J. C. Vickerman, ed., Chichester, UK: Wiley, 1997; *Spectroscopy of Surfaces*, R. G. H. Clark y R. E. Hester, eds., Nueva York: Wiley, 1988.

TABLA 21.1 Algunas técnicas espectroscópicas para el análisis de superficies.

Método y acrónimo	Haz primario	Haz secundario	Observaciones
Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) o espectroscopía de electrones para análisis químico (ESCA)	Fotones de rayos X	Electrones	Composición química Estructura química
Espectroscopía de electrones Auger (AES)	Electrones o fotones de rayos X	Electrones	Composición química
Espectroscopía de electrones con pérdida de energía (EELS)	Electrones	Electrones	Estructura química Enlace del adsorbato
Microsonda de electrones (EM)	Electrones	Fotones de rayos X	Composición química
Espectrometría de masas de ion secundario (SIMS)	Iones	Iones	Composición química Estructura química
Espectroscopía por dispersión de iones (ISS) y de Rutherford por retrodispersión	Iones	Iones	Composición química Estructura atómica
Espectrometría de masas con microsonda láser (LMMS)	Fotones	Iones	Composición química Estructura química
Resonancia de plasmones en superficie (RSP)	Fotones	Fotones	Composición y concentración de películas finas
Generación de frecuencia resultante (SFG)	Fotones	Fotones	Estructura de la interfase, enlace del adsorbato
Elipsometría	Fotones	Fotones	Espesor de la película fina

21B.3 Entorno de la superficie

Casi todas las técnicas espectroscópicas de superficies requieren un ambiente “al vacío”. Las condiciones de alto vacío aseguran que las partículas utilizadas tengan trayectorias libres, largas y promedio para interactuar con las superficies de interés. El ambiente de vacío también mantiene a la superficie libre de gases adsorbidos durante el experimento de análisis de la misma. Las excepciones al requisito de alto vacío son las técnicas fotón-fotón que se dan en los tres últimos renglones de la tabla 21.1. Éstas facilitan el examen de las superficies en condiciones más análogas a las usadas en aplicaciones como los estudios de catálisis, sensores y corrosión.

Un problema que se presenta con frecuencia en los análisis de superficies es la contaminación de las mismas por adsorción de los componentes de la atmósfera, como oxígeno, agua o dióxido de carbono. Incluso en el vacío, este tipo de contaminación se produce en un tiempo relativamente corto. Por ejemplo, a una presión de 10^{-6} torr (1 torr = 133 Pa), una superficie limpia llegará a cubrirse con una monocapa de moléculas gaseosas en sólo 3 s. A 10^{-8} torr se cubre en casi una hora. A 10^{-10} torr se necesitan 10 horas.² Como consecuencia de los problemas de adsorción, a menudo

deben tomarse medidas para limpiar la superficie de la muestra, normalmente en la cámara donde se le irradia. La limpieza se puede efectuar mediante el horneado a alta temperatura de la muestra, bombardeo de la muestra con un haz de iones de un gas inerte procedentes de un cañón de electrones, raspado mecánico o pulido de la superficie de la muestra con un abrasivo, lavado ultrasónico de la muestra con varios solventes y lavado de la muestra en atmósfera reductora para eliminar los óxidos.

Además de la contaminación atmosférica, el haz primario tiene la aptitud de modificar la superficie a medida que avanza la medición. Los daños causados por el haz primario dependen de la cantidad de movimiento de las partículas que lo componen. Por consiguiente, de los distintos tipos de haces que se enlistan en la tabla 21.1, los iones son los más dañinos y los fotones los menos.

21C ESPECTROSCOPÍA DE ELECTRONES

Los tres primeros métodos mencionados en la tabla 21.1 están basados en el análisis de los electrones emitidos, producidos por varios haces incidentes. La señal del analito está formada más por haces de electrones que de fotones. Las mediciones espectrométricas consisten en determinar la potencia de este haz en función de la energía $h\nu$ o de la frecuencia ν de los electrones. Este tipo de espectroscopía se denomina *espectroscopía de electrones o electrónica*.

²D. M. Hercules y S. H. Hercules, *J. Chem. Educ.*, **1984**, 61, p. 403.



Clase interactiva: aprenda más acerca de los **métodos de superficie**.

A pesar de que los principios básicos de la espectroscopía de electrones se comprenden bien desde hace un siglo, la aplicación generalizada de esta técnica a problemas químicos no había tenido lugar hasta hace relativamente poco. Un factor importante que frenó los estudios en este campo fue la falta de tecnología para llevar a cabo mediciones de alta resolución de los espectros de los electrones, los cuales tienen energías que varían desde unas pocas décimas hasta varios miles de electronvolts. A finales de los años sesenta se desarrolló esta técnica y empezaron a aparecer en el mercado espectrómetros de electrones comerciales. Con su aparición tuvo lugar un crecimiento explosivo en la cantidad de publicaciones en este campo.³

Se pueden diferenciar tres tipos de espectroscopía de electrones para el estudio de las superficies. El tipo más común, que se basa en la irradiación de la superficie de la muestra con radiación X monocromática, se llama *espectroscopía fotoelectrónica de rayos X*, (XPS, por sus siglas en inglés). También se le denomina espectroscopía de electrones para el análisis químico, XPS (ESCA, por sus siglas en inglés). Una gran parte de este capítulo se refiere a la XPS. El haz primario de la espectroscopía fotoelectrónica también puede constar de fotones ultravioleta, en cuyo caso la técnica se llama *espectroscopía fotoelectrónica ultravioleta*, (UPS, por sus siglas en inglés). En este caso, un haz monocromático de radiación ultravioleta causa la expulsión de electrones del analito. Este tipo de espectroscopía electrónica no es tan común como las otras dos, por lo que no se le tratará en adelante. El segundo tipo de espectroscopía de electrones es la llamada *espectroscopía de electrones Auger*, (AES, por sus siglas en inglés). Lo más frecuente es que el espectro Auger se obtenga por excitación con un haz de electrones, aunque también se utilizan los rayos X. La espectroscopía Auger se trata en la sección 21C.2. El tercer tipo de espectroscopía de electrones es la espectroscopía electrónica con pérdida de energía, (EELS, por sus siglas en inglés), en la cual un haz de electrones de baja energía choca contra la superficie y ocasiona vibraciones. La pérdida de energía resultante se detecta entonces y se relaciona con las vibraciones ocasionadas. En la sección 21C.3 se describirá brevemente esta técnica.

La espectroscopía de electrones es una herramienta poderosa para la identificación de todos los elementos de la tabla periódica, con excepción del hidrógeno y del helio. Y lo que es aún más importante es que el método permite determinar el estado de oxidación de

un elemento y el tipo de las especies a las que está unido. Por último, la técnica proporciona información valiosa sobre la estructura electrónica de las moléculas.

La espectroscopía de electrones se ha aplicado con éxito a gases y a sólidos y más recientemente a soluciones y líquidos. Sin embargo, debido al poco poder de penetración de los electrones estos métodos proporcionan sólo información sobre una capa superficial del sólido que tiene un grosor de unas pocas capas atómicas (2 a 5 nm). Por lo regular, la composición de estas capas superficiales es muy diferente de la composición promedio de la totalidad de la muestra. De hecho, la aplicación más importante y valiosa de la espectroscopía de electrones es el análisis cualitativo de las superficies de sólidos, como metales, aleaciones, semiconductores y catalizadores heterogéneos. El análisis cuantitativo por espectroscopía de electrones tiene aún aplicaciones limitadas.

21C.1 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

Es importante resaltar la diferencia fundamental entre la espectroscopía de electrones (en XPS y AES) y los otros tipos de espectroscopía que se han estudiado hasta ahora. En espectroscopía de electrones se registra la energía cinética de los electrones emitidos. Por consiguiente, el espectro es una gráfica de la cantidad de electrones emitidos o de la potencia del haz de electrones en función de la energía (o de la frecuencia o de la longitud de onda) de los electrones emitidos (véase figura 21.2).

Fundamentos de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

La utilización de esta técnica fue introducida por el físico sueco K. Siegbahn, quien recibió el Premio Nobel en Física en 1981 por su trabajo.⁴ Siegbahn decidió llamar a esta técnica espectroscopía de electrones para análisis químico ESCA porque, en comparación con los otros dos tipos de espectroscopías de electrones, proporciona información no sólo relacionada con la composición atómica de la muestra, sino también de la estructura y el estado de oxidación de los compuestos que están siendo estudiados. La figura 21.3 es una representación esquemática del proceso físico de la ESCA. Las tres líneas más bajas designadas por E_b , E'_b y E''_b representan las energías de los electrones de las capas internas K y L de un átomo. Las tres líneas su-

³Información adicional se encuentra en J. F. Watts y J. Wolstenholme, *An Introduction to Surface Analysis by XPS and AES*, Chichester, UK: Wiley, 2003; D. Briggs y M. P. Seah, *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, 2a. ed., Chichester, UK: Wiley, 1990.

⁴Para una breve narración de la historia de la EFRX véase K. Siegbahn, *Science*, **1981**, 217, p. 111; D. M. Hercules, *J. Chem. Educ.*, **2004**, 81, p. 1751. Si desea monografías consulte S. Hüfner, *Photoelectron Spectroscopy: Principles and Applications*, Berlín: Springer-Verlag, 1995; T. L. Barr, *Modern ESCA: The Principles and Practice of X-Ray Photoelectron Spectroscopy*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1994.

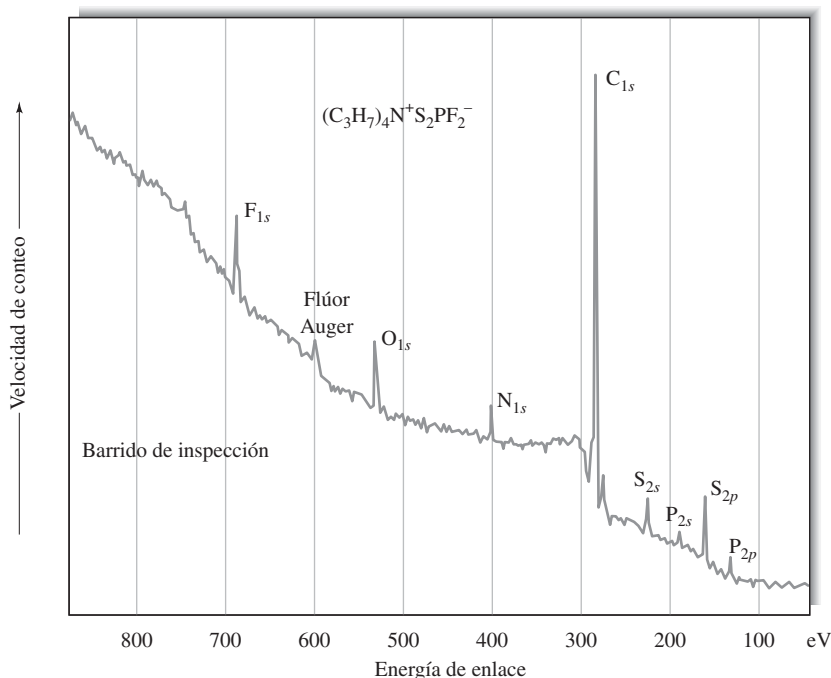
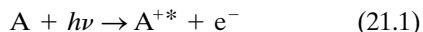


FIGURA 21.2 Espectro del difluorotiofosfato de tetrapropilamonio obtenido por espectrometría fotoelectrónica de rayos X. Los picos se designan de acuerdo con el elemento y el orbital a partir del cual se originan los electrones emitidos.

periores representan algunos de los niveles de energía de los electrones de la capa más externa o de valencia. Como se muestra en la figura, uno de los fotones de un haz monocrómico de rayos X de energía conocida $h\nu$ desplaza a un electrón e^- de un orbital K de energía E_b . El proceso se puede representar mediante



donde A puede ser un átomo, una molécula o un ion y A^{+*} es un ion electrónicamente excitado con una carga positiva mayor que la de A.

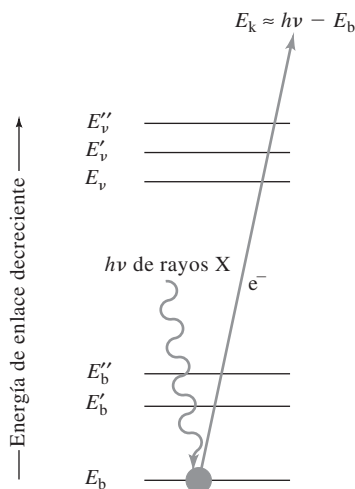


FIGURA 21.3 Esquema del proceso ESCA. El haz incidente está constituido por rayos X monoenergéticos. El haz emitido se compone de electrones.

La energía cinética del electrón emitido E_k se mide en un espectrómetro de electrones. La *energía de enlace* del electrón E_b se puede calcular mediante la ecuación

$$E_b = h\nu - E_k - w \quad (21.2)$$

En esta ecuación, w es la *función trabajo* del espectrómetro, un factor corrector del entorno electrostático en el cual el electrón se forma y se mide. Existen varios métodos para determinar el valor de w . La energía de enlace de un electrón es característica del átomo y del orbital que lo expulsa.

En la figura 21.2 se observa un espectro de baja resolución obtenido mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X que consiste en la representación de la velocidad de conteo de electrones en función de la energía de enlace E_b . El analito es un compuesto orgánico formado por seis elementos. Con la excepción del hidrógeno, se pueden observar picos bien separados para cada uno de los elementos. Además, está presente un pico para el oxígeno, lo que sugiere que ha tenido lugar alguna oxidación en la superficie del compuesto. Hay que señalar que, tal como era de esperarse, las energías de enlace de los electrones 1s se incrementan con el número atómico debido al aumento de carga positiva del núcleo. Observe también que se puede apreciar más de un pico para un elemento dado; por consiguiente, se pueden ver picos tanto para los electrones 2s y 2p del azufre y del fósforo. El alto conteo de fondo que se observa se produce porque hay una cola asociada a cada pico característico debida a los electrones expulsados que han perdido parte de su energía

en colisiones inelásticas dentro de la muestra sólida. Estos electrones tienen menos energía cinética que sus equivalentes no dispersados y, por tanto, aparecerán a energías cinéticas más bajas o a energías de enlace más altas (ecuación 21.2). Es evidente a partir de la figura 21.2 que la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X proporciona un medio para la identificación cualitativa de los elementos presentes en la superficie de los sólidos.

Instrumentación

Varias casas comerciales ofrecen instrumentos para espectroscopía de electrones. Estos productos difieren considerablemente en componentes, configuraciones y costos. Algunos están diseñados para un único tipo de aplicación, como espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, y otros pueden adaptarse para la espectroscopía Auger y espectroscopía fotoelectrónica ultravioleta, para la cual se adquieren también los accesorios adecuados. Todos son caros: su precio varía de 300 000 a $> 10^6$ dólares.

Los espectrómetros de electrones se fabrican con componentes cuyas funciones son análogas a las que hay en los instrumentos espectroscópicos ópticos. Entre las partes están 1) una fuente; 2) un portamuestra, 3) un analizador, que tiene la misma función que un monocromador; 4) un detector y 5) un procesador de señales y un dispositivo de lectura. En la figura 21.4 se muestra una configuración característica de estos componentes. En general, los espectrómetros de electrones requieren sistemas de vacío complejos para reducir la presión en todos los componentes entre 10^{-8} y 10^{-10} torr.⁵

Fuentes. Las fuentes de rayos X más sencillas para los espectrómetros de XPS son tubos equipados con blancos de magnesio o aluminio que actúan como filtros adecuados. Las líneas $K\alpha$ de estos dos elementos tienen unas anchuras de banda considerablemente más estrechas (de 0.8 a 0.9 eV) que las que se obtienen con blancos de número atómico superior. Hay que señalar que las bandas estrechas son deseables porque proporcionan una mejor resolución. Las fuentes monocromáticas iluminan por lo regular un punto de pocos centímetros de diámetro.

Los instrumentos relativamente complicados para espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, como el que se muestra en la figura 21.4, están equipados con un monocromador de cristal (sección 12B.3) para proporcionar un rayo X cuya anchura de banda es de casi 0.3 eV. Los monocromadores eliminan la radiación de

fondo, lo que mejora las relaciones señal-ruido. También permiten puntos mucho más pequeños sobre la superficie que se quiere estudiar (dimensiones de los puntos $\sim 50 \mu\text{m}$).

La creciente disponibilidad de la radiación sincrotrónica en los años recientes ocasionó que los investigadores de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X cuenten con otra fuente útil. El sincrotrón produce radiación de banda ancha que se puede colimar y polarizar de manera importante. Cuando dichas fuentes se utilizan con un monocromador son capaces de proporcionar una fuente de rayos X que es sintonizable para los experimentos fotoelectrónicos.

Portamuestras. Las muestras sólidas se colocan en una posición fija lo más cerca posible de la fuente de electrones o de fotones y de la rendija de entrada del espectrómetro (véase figura 21.4). Con el propósito de evitar la atenuación del haz de electrones, el compartimento de muestra debe mantenerse al vacío, a una presión de 10^{-5} torr o incluso menor. Sin embargo, se requieren a menudo vacíos mayores (de 10^{-9} a 10^{-10} torr) para evitar la contaminación de la superficie de la muestra por sustancias como oxígeno o agua, que pueden reaccionar o adsorberse en la superficie.

Las muestras de gases se introducen en el portamuestras a través de una rendija de un tamaño tal que pueda dar una presión de alrededor de unos 10^{-2} torr. Presiones mayores causan una atenuación excesiva del haz de electrones debido a colisiones inelásticas y, por otro lado, si la presión de la muestra es demasiado baja se obtienen señales muy débiles.

Analizadores. Este instrumento consta de la lente o lentes de recolección y el analizador de energía del electrón, el cual dispersa los electrones emitidos de acuerdo con su energía cinética. Por lo regular, el sistema de lentes facilita un ángulo amplio de recolección ($\sim 30^\circ$) para lograr una alta efectividad. En algunos de los experimentos resueltos con ángulo, una abertura reduce los ángulos recolectados. Dichos experimentos se aplican en los estudios de perfil de profundidad.

Por lo regular, los experimentos fotoelectrónicos se llevan a cabo en el modo de energía constante del analizador, en el cual los electrones son acelerados o retardados por el sistema de lentes a alguna energía definida por el usuario a medida que atraviesan el analizador (la energía de paso, E en la figura 21.4). A menudo, las energías de paso de 5 a 25 eV dan espectros de alta resolución, y las energías de paso de 100 a 200 eV se usan para el barrido de inspección. La intensidad de la señal disminuye cuando la energía de paso decrece.

La mayoría de los espectrómetros de electrones son del tipo que se ilustra en la figura 21.4; en ellos el haz

⁵Las especificaciones de varios instrumentos comerciales representativos se proporcionan en D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 675A. Un panorama de los instrumentos comerciales para espectroscopía fotoelectrónica de rayos X se presenta en M. A. Kelly, *J. Chem. Educ.*, **2004**, 81, p. 1726.

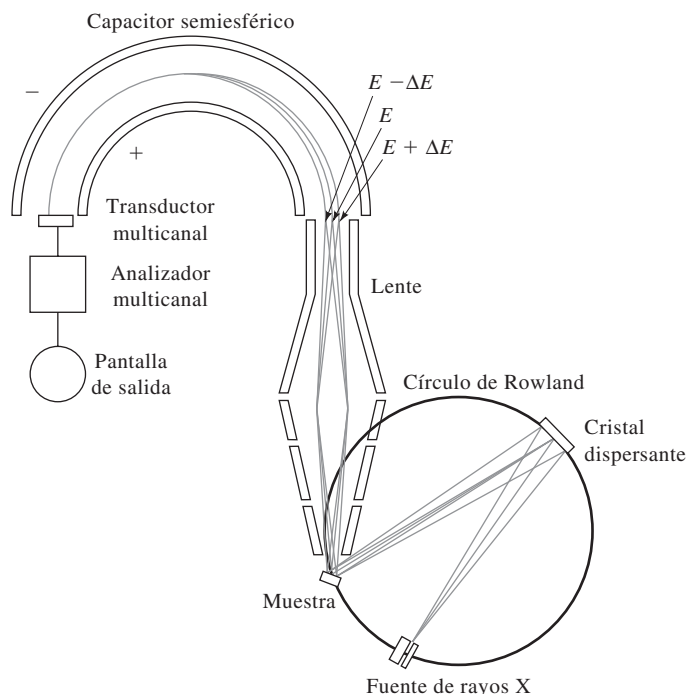


FIGURA 21.4 Principio de un instrumento moderno para ESCA que emplea una fuente monocrómica de rayos X y un espectrómetro de campo semiesférico.

de electrones es desviado por el campo electrostático de un capacitor semiesférico. Los electrones se mueven entonces siguiendo una trayectoria curva desde la lente hasta el transductor multicanal. El radio de curvatura depende de la energía cinética de los electrones y de la magnitud del campo electrostático. Se obtiene un espectro entero haciendo variar el campo para enfocar los electrones de varias energías cinéticas en el transductor.

Transductores. Los espectrómetros de electrones más modernos se basan en los multiplicadores de electrones de canal de estado sólido, que consisten en tubos de vidrio que han sido dopados o contaminados con plomo o vanadio. Al aplicar a estos materiales un potencial de varios kilovoltios se produce una cascada o pulso de 10^6 a 10^8 electrones por cada electrón incidente. Estos pulsos se cuentan a continuación electrónicamente (véase sección 4C). Varios fabricantes ofrecen en la actualidad detectores bidimensionales para electrones que cuentan con varios canales y son análogos en construcción y aplicación a los detectores multicanal para fotones que se describieron en la sección 7E.3. En estos detectores, todos los elementos relacionados con la resolución de un espectro de electrones se controlan de manera simultánea y los resultados se almacenan en una computadora para el análisis sub-

secuente. Las ventajas de un sistema como éste son similares a las obtenidas con los detectores de fotones multicanal.

Sistemas de información. Los instrumentos modernos de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X tienen casi todos sus componentes controlados por la computadora. Por tanto, los cañones de electrones, los cañones de iones, válvulas, voltajes de la lente, posición de la muestra y parámetros del analizador son seleccionados por el ordenador. Los programas actuales para los instrumentos de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X proveen diversas opciones para analizar la información, entre las que se incluyen: determinación de los picos, identificación de los mismos y medición de su intensidad. Muchos de los programas efectúan además análisis de datos quimiométricos, como el procesamiento estadístico de varias variables y el reconocimiento de modelos.

Aplicaciones de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

Esta técnica proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la composición elemental de la materia, en particular de superficies de sólidos. Además, proporciona a menudo información estructural de gran utilidad.⁶

Análisis cualitativo. En la figura 21.2 se ilustra un espectro obtenido por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X de amplio barrido y baja resolución, llamado a menudo *espectro de inspección*, que sirve como base para determinar la composición elemental de las muestras. Con una fuente $K\alpha$ de magnesio o aluminio, todos los elementos, excepto el hidrógeno y el helio, emiten electrones internos que tienen energías de enlace características. Por lo regular, un espectro de inspección abarca un intervalo de energías cinéticas de 250 a 1500 eV, lo cual corresponde a energías de enlace de entre 0 y 1250 eV. Cada elemento de la tabla periódica tiene uno o más niveles de energía que dan lugar a la aparición de picos en esta región. En muchos casos, los picos están bien resueltos y permiten identificaciones inequívocas, siempre y cuando el elemento esté presente en concentraciones superiores a 0.1%. A veces se encuentran picos superpuestos, por ejemplo O(1s) con Sb(3d) o Al(2s, 2p) con Cu(3s, 3p). Por lo regular, los problemas debidos al traslape espectral se pueden

⁶Para revisar las aplicaciones de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X y también de la EEA, véase J. F. Watts y J. Wolstenholme, *An Introduction to Surface Analysis by XPS and AES*, Chichester, UK: Wiley, 2003; N. H. Turner y J. A. Schreifels, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, pp. 99R; **1998**, 70, p. 229R; **1996**, 68, p. 309R. Véase también D. M. Hercules, *J. Chem. Educ.*, **2004**, 81, p. 1751.

TABLA 21.2 Desplazamientos químicos en función del estado de oxidación.^a

Elemento ^b	Estado de oxidación									
	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Nitrógeno (1s)	—	*0 ^c	—	+4.5 ^d	—	+5.1	—	+8.0	—	—
Azufre (1s)	-2.0	—	*0	—	—	—	+4.5	—	+5.8	—
Cloro (2p)	—	*0	—	—	—	+3.8	—	+7.1	—	+9.5
Cobre (1s)	—	—	*0	+0.7	+4.4	—	—	—	—	—
Iodo (4s)	—	*0	—	—	—	—	—	+5.3	—	+6.5
Europio (3d)	—	—	—	—	*0	+9.6	—	—	—	—

^aTodos los desplazamientos están medidos en electronvolts respecto a los estados de oxidación indicados por (*). (Reimpreso con autorización de D. M. Hercules, *Anal. Chem.*, **1970**, 42, p. 28A. Copyright 1970 American Chemical Society.)

^bTipo de electrones que aparecen entre paréntesis.

^cCero arbitrario para las mediciones, el nitrógeno final aparece en NaN_3 .

^dNitrógeno intermedio en NaN_3 .

resolver investigando otras regiones del espectro. Con frecuencia, los picos que resultan de los electrones Auger se encuentran en los espectros por espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (véase, por ejemplo, el pico en alrededor de 610 eV en la figura 21.2). Las líneas Auger se identifican con rapidez comparando los espectros producidos por dos fuentes de rayos X, de ordinario magnesio y aluminio $K\alpha$. Las líneas Auger permanecen inalteradas en la escala de energía cinética, pero los picos de los fotoelectrones se desplazan. La razón de tal comportamiento para los electrones Auger se explica en la siguiente sección.

Desplazamientos químicos y estados de oxidación.

Cuando uno de los picos de un espectro de inspección se examina en condiciones de elevada resolución de energía, la posición del máximo depende en alguna medida del entorno químico del átomo que causa el pico. Es decir, las variaciones en la cantidad de electrones de valencia y los tipos de enlace que forman influyen en las energías de enlace de los electrones más internos. El efecto del número de electrones de valencia y, por tanto, del estado de oxidación se pone de manifiesto en los datos de varios elementos que se muestran en la tabla 21.2. Hay que señalar que, en cada caso, las energías de enlace aumentan a medida que el estado de oxidación se hace más positivo. Este *desplazamiento químico* se puede explicar si se supone que la atracción del núcleo hacia un electrón interno disminuye por la presencia de electrones externos. Cuando uno de estos electrones es expulsado, aumenta la carga efectiva de los electrones internos, de modo que se incrementa la energía de enlace.

Una de las aplicaciones más importantes de la espectroscopia fotoelectrónica de rayos X es la identificación de los estados de oxidación de los elementos contenidos en diversos tipos de compuestos orgánicos.

Desplazamientos químicos y estructura. La figura 21.5 ilustra el efecto de la estructura en la posición de los picos de un elemento. Cada pico corresponde al electrón 1s del átomo de carbono indicado con guiones en la fórmula estructural. En este caso, el desplazamiento en las energías de enlace se puede explicar si se toma en cuenta el efecto de los diversos grupos funcionales sobre la carga nuclear efectiva que experimenta el electrón 1s interno. Por ejemplo, de todos los grupos unidos, los átomos de flúor tienen la mayor capacidad para atraer la densidad de carga electrónica del átomo de carbono. La carga nuclear efectiva que experimenta el electrón 1s del carbono es por tanto máxima, como lo es la energía de enlace.

En la figura 21.6 se indica la posición de los picos para el azufre en sus diversos estados de oxidación y en varios tipos de compuestos orgánicos. La información del renglón superior demuestra claramente el efecto del estado de oxidación. Observe también en los cuatro últimos renglones del cuadro que la espectroscopia fotoelectrónica de rayos X es capaz de discriminar entre dos átomos de azufre contenidos en un único ion o molécula. Por consiguiente, los dos picos que se observan para el ion tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sugieren diferentes estados de oxidación para los dos átomos de azufre que contiene.

Los espectros obtenidos mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X proporcionan no sólo información cualitativa sobre los tipos de átomos presentes en un compuesto, sino también sobre el número relativo de cada tipo. Por ejemplo, el espectro de 1s del nitrógeno para la azida sódica (Na^+N_3^-) está compuesto de dos picos que tienen áreas relativas en la proporción 2:1 que corresponden a los dos nitrógenos terminales y al nitrógeno del centro, respectivamente.

Es importante señalar de nuevo que los fotoelectrones producidos en espectroscopia fotoelectrónica

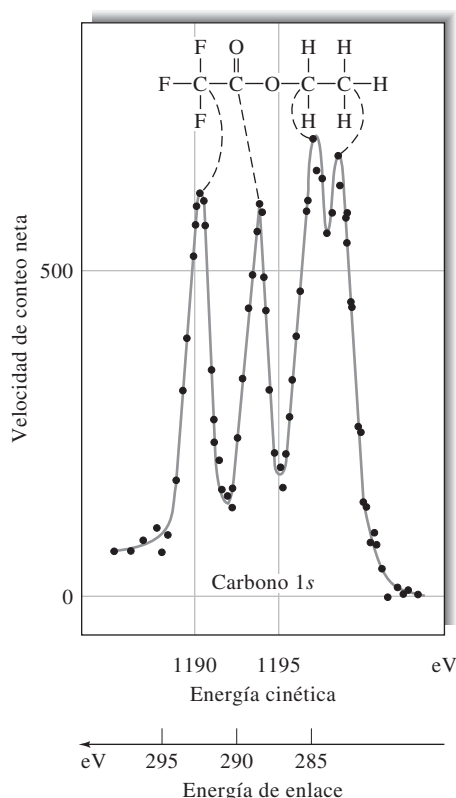


FIGURA 21.5 Espectro fotoelectrónico con rayos X del nivel 1s del carbono del trifluoroacetato de etilo. (Reproducción autorizada de K. Siegbahn y col., *ESCA: Atomic, Molecular, and Solid-State Studies by Means of Electron Spectroscopy*, p. 21, Upsala: Almquist and Wiksells, 1967.)

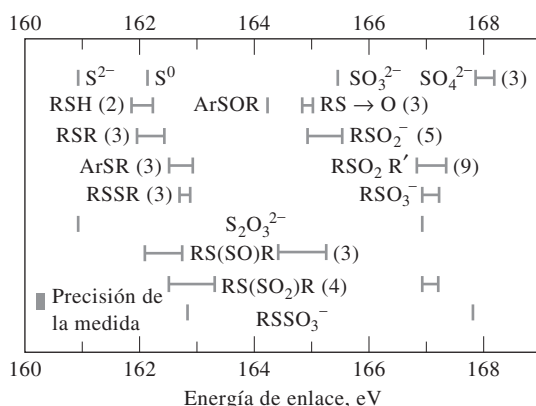


FIGURA 21.6 Cuadro de correlación para las energías de enlace de los electrones 2s del azufre. Los números entre paréntesis indican el número de compuestos examinados. (Reproducción autorizada de D. M. Hercules, *Anal. Chem.*, **1970**, 42, p. 35A. Copyright 1970, American Chemical Society.)

de rayos X son incapaces de pasar a través de más de 1 a 5 nm de un sólido. Por tanto, las aplicaciones más importantes de la espectroscopía de electrones, igual que en la espectroscopía de microsonda de rayos X, son para la obtención de información sobre las superficies. Ejemplos de algunos de los usos son la identificación de los sitios activos y el envenenamiento de superficies catalíticas, la determinación de contaminantes en las superficies de los semiconductores, el análisis de la composición de la piel humana y el estudio de las capas superficiales de óxido en metales y aleaciones.

Es también evidente que el método tiene un gran potencial en la elucidación de la estructura química (véanse figuras 21.5 y 21.6). La información que proporciona la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X es similar a la obtenida mediante la espectroscopía de resonancia magnética nuclear o de infrarrojo. Una cualidad que se debe resaltar de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X es su capacidad para distinguir entre los estados de oxidación de un elemento.

Es interesante señalar que la información que se obtiene con espectroscopía fotoelectrónica de rayos X también debe estar presente en el borde de absorción de un espectro de absorción de rayos X de un compuesto. Sin embargo, la mayor parte de los espectrómetros de rayos X no tienen suficiente resolución como para obtener con facilidad esta información estructural.

Aplicaciones cuantitativas. Alguna vez se consideró que la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X no sería muy útil como técnica cuantitativa. Sin embargo, se ha incrementado el uso de esta técnica en la determinación de la composición química de la superficie de sólidos.⁷ Si el sólido es homogéneo hasta una profundidad de varias trayectorias libres medias de los electrones es posible expresar la cantidad de fotoelectrones detectados cada segundo I como

$$I = n\phi\sigma\epsilon\eta ATl \quad (21.3)$$

donde n es la densidad numérica de átomos (átomos cm^{-3}) de la muestra, ϕ es el flujo del haz incidente de rayos X (fotones $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$), σ es la sección transversal fotoeléctrica para la transición ($\text{cm}^2/\text{átomo}$), ϵ es el factor de eficiencia angular del instrumento, η es la eficiencia de producción de fotoelectrones (fotoelectrones/fotón), A es el área de la muestra a partir de la cual los fotoelectrones son detectados (cm^2), T es la eficiencia de detección de los fotoelectrones e l es la trayectoria libre media de los fotoelectrones en la muestra (cm).

⁷ Algunas aplicaciones cuantitativas de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X y Auger se encuentran en K. W. Nebesny, B. L. Maschhoff y N. R. Armstrong, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 469A. Para un análisis de la confiabilidad de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X consulte C. J. Powell, *J. Chem. Educ.*, **2004**, 81, p. 1734.

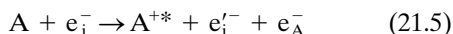
En el caso de una transición dada, los últimos seis términos son constantes y es factible expresar el factor atómico de sensibilidad S como

$$S = \sigma \epsilon \eta A T I \quad (2.4)$$

Para un espectrómetro dado, se puede desarrollar un conjunto de valores relativos de S para los elementos de interés. Observe que la relación I/S es directamente proporcional a la concentración n en la superficie. La cantidad I se suele tomar como el área máxima, aunque las alturas de los picos también se utilizan. A menudo, en el trabajo cuantitativo, se usan los patrones internos. La precisión relativa de alrededor de 5% es característica. En el caso del análisis de sólidos y líquidos, es necesario suponer que la composición de la superficie de la muestra es igual que la composición de toda la muestra. En muchas aplicaciones esta suposición origina errores importantes. La detección de un elemento mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X requiere que esté presente a una escala de por lo menos 0.1%. De ordinario, el análisis cuantitativo puede efectuarse si 5% del elemento está presente.

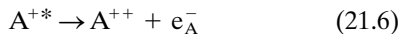
21C.2 Espectroscopía de electrones Auger

A diferencia de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, la espectroscopía de electrones Auger (AES)⁸ se basa en un proceso en dos etapas, en la primera de las cuales se forma un ion A^{+*} excitado electrónicamente por exposición del analito a un haz de electrones o, algunas veces, de rayos X. Con rayos X tiene lugar la reacción que muestra la ecuación 21.1. En el caso de un haz de electrones, el proceso de excitación se puede expresar como

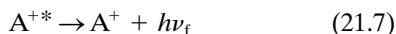


donde e_i^- representa un electrón incidente de la fuente, $e_i'^-$ representa el mismo electrón después de haber interactuado con A, por lo que perdió parte de su energía y e_A^- representa un electrón que es expulsado de uno de los orbitales internos de A.

Como se muestra en la figura 21.7a y b, la relajación del ion excitado A^{+*} puede tener lugar por dos vías, a saber:



o bien,



Aquí, e_A^- corresponde a un electrón Auger y $h\nu_f$ representa un fotón fluorescente.

⁸Véase J. F. Watts y J. Wolstenholme, *An Introduction to Surface Analysis by XPS y AES*, Chichester, UK: Wiley, 2003; M. Thompson, M. D. Baker, A. Christie y J. F. Tyson, *Auger Electron Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 1985; *Auger Electron Spectrometry Theory Tutorial*, Evans Analytical Group, <http://www.eaglabs.com/en-US/references/tutorial/augtheo/caiatheo.html>.

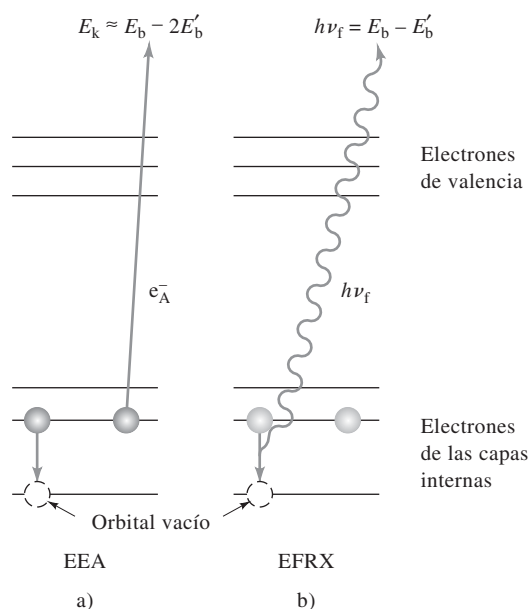


FIGURA 21.7 Esquema del origen de a) la emisión de electrones Auger y b) la fluorescencia de rayos X, que compite con la emisión Auger.

El proceso de relajación descrito mediante la ecuación 21.7 es la fluorescencia de rayos X que se trató en el capítulo 12. Hay que señalar que la energía de la radiación fluorescente $h\nu_f$ es independiente de la energía de excitación. Por tanto, se puede utilizar radiación policromática en la etapa de excitación. En la emisión Auger, expresada con la ecuación 21.6, la energía cedida en la relajación produce la expulsión de un electrón e_A^- de una energía cinética E_k . Hay que señalar que la energía del electrón Auger es independiente de la energía del fotón o del electrón que originalmente creó la vacante en el nivel de energía E_b . Por consiguiente, como ocurre en espectroscopía de fluorescencia, no se requiere una fuente de excitación monoenergética para la excitación. Puesto que las líneas Auger son independientes de la energía que entra, es posible distinguir entre dichas líneas en un espectro y los picos de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X.

La energía cinética del electrón Auger es la diferencia entre la energía liberada en la relajación del ion excitado ($E_b - E'_b$) y la energía necesaria para sacar al segundo electrón de su orbital (E'_b). Entonces,

$$E_k = (E_b - E'_b) - E'_b = E_b - 2E'_b \quad (21.8)$$

Las emisiones Auger se describen en función del tipo de transiciones orbitales involucradas en la producción del electrón. Por ejemplo, una transición Auger KLL incluye la separación inicial de un electrón K seguida de una transición de un electrón L al orbital K con la expulsión simultánea de un segundo electrón L. Otras transiciones comunes son la LMM y la MNN.

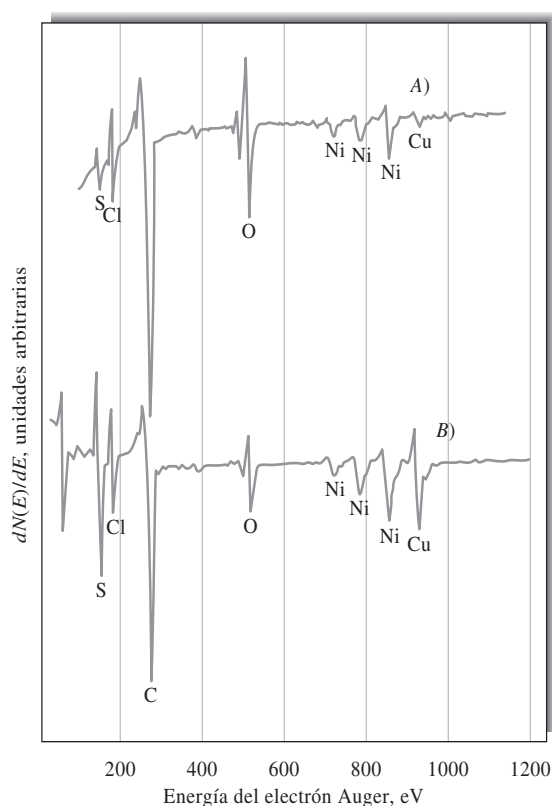


FIGURA 21.8 Espectros de electrones Auger de una aleación con 70% Cu y 30% Ni. A), pasivado por oxidación anódica; B), no pasivado. (Adaptación a partir de G. E. McGuire y col., *J. Electrochem. Soc.*, **1978**, 125, p. 1802. Reproducido con permiso del editor, la Electrochemical Society, Inc.)

Igual que los espectros obtenidos por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, los espectros Auger consisten en unos cuantos picos característicos en la región de 20 a 1000 eV. En la figura 21.8 se muestran unos espectros Auger típicos obtenidos para dos muestras de una aleación de cobre/níquel 70:30. Observe que la derivada de la velocidad de conteo en función de la energía cinética del electrón $dN(E)/dE$ se utiliza como ordenada. Los espectros derivados son corrientes en espectroscopía Auger, y tienen como objetivo intensificar los picos pequeños y disminuir el efecto de la gran, aunque lentamente variable, radiación de fondo de los electrones dispersados. También hay que señalar que los picos están bien separados, lo que facilita la identificación cualitativa.

La emisión de electrones Auger y la fluorescencia de rayos X (figura 21.7) son procesos competitivos, y sus velocidades relativas dependen del número atómico del elemento en estudio. Los números atómicos elevados favorecen la fluorescencia, y la emisión Auger predomina con átomos de números atómicos bajos. Como resultado, la fluorescencia de rayos X no es

un medio muy sensible de detección de elementos con números atómicos inferiores a 10.

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X y la Auger proporcionan información semejante acerca de la composición del material. Ambos métodos tienden a ser complementarios más que competitivos, pero la espectroscopía Auger resulta más confiable y eficaz para ciertas aplicaciones y la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X para otras. Como ya se mencionó, la mayoría de los fabricantes de estos instrumentos reconocen la naturaleza complementaria de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X y la Auger por lo que proporcionan dispositivos para ambos tipos de mediciones con un solo instrumento.

Las ventajas particulares de la espectroscopía Auger son su sensibilidad para átomos de bajo número atómico, sus mínimos efectos de matriz y sobre todo su elevada resolución espacial que permite examinar con detalle las superficies sólidas. La alta resolución espacial es consecuencia de que el haz primario está formado por electrones, los cuales pueden ser mejor enfocados en una zona más estrecha de la superficie que los rayos X. Hasta este momento, la espectroscopía Auger no ha sido tan ampliamente utilizada para obtener información estructural y sobre el estado de oxidación como la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X. Los análisis cuantitativos por esta técnica son también más difíciles que con la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X debido a la presentación de la información en forma de derivada y a la presencia de picos de estructura finos. A menudo, el área integrada es el parámetro preferido para el trabajo cuantitativo. Los métodos semicuantitativos están disponibles y son ampliamente utilizados.

Instrumentación

Los instrumentos que se utilizan en la espectroscopía de electrones Auger son similares a los de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, excepto que la fuente es un *cañón de electrones* en vez de un tubo de rayos X.⁹ En la figura 2.19 se muestra el esquema de un cañón de electrones del tipo común. Esta fuente consta de un filamento de tungsteno caliente que suele tener un diámetro de 0.1 mm y está doblado hacia dentro para darle la forma de una horquilla con forma de V en la punta. El filamento catódico se mantiene a un potencial de entre 1 y 50 kV respecto al ánodo en el interior del cañón de electrones. Rodeando al filamento está una rejilla o *cilindro de Wehnelt*, que está polarizado negativamente respecto al filamento. El campo eléctrico en el cañón de electrones causa la emisión de

⁹Un repaso de los espectrómetros Auger se encuentra en M. J. Felton, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 269A. Está disponible una clase interactiva en *Auger Electron Spectrometry Instrumentation Tutorial*, Evans Analytical Group, <http://www.eaglabs.com/en-US/references/tutorial/auginst/caiinst.html>.

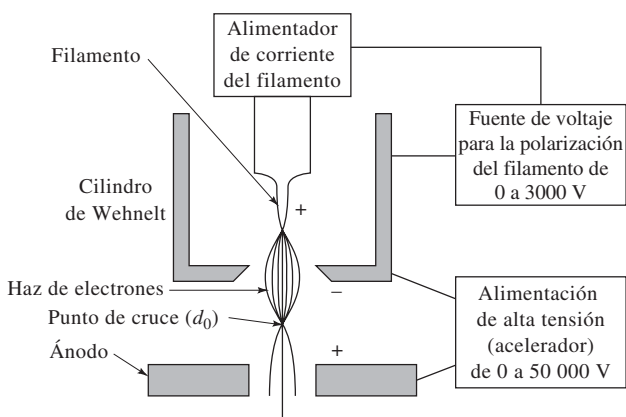


FIGURA 21.9 Diagrama de bloques de una fuente de filamento de tungsteno.

electrones que convergen en una zona minúscula llamada *punto de cruce* que tiene un diámetro d_0 .

Los cátodos, que se construyen en forma de varillas de hexaboruro de lantano (LaB_6) se utilizan también en los cañones de electrones cuando se desea un haz de mayor brillo. Este tipo de dispositivo es caro y necesita un sistema de vacío mejor para evitar la formación de óxidos, los cuales causarían un rápido deterioro de la efectividad de la fuente. El tipo más importante de fuente que se ha introducido en los años recientes se basa en la *emisión de campo*. En este caso, la fuente es un cátodo de tungsteno o carbono con una punta muy aguda (100 nm o menos). Cuando se le mantiene a un voltaje elevado, el campo eléctrico en la punta es tan intenso ($>10^7$ V/cm) que los electrones se originan por un *proceso de efecto túnel de la mecánica cuántica*¹⁰ en el que no se requiere energía térmica para liberar a los electrones de la barrera potencial que normalmente evita su emisión. Las fuentes de emisión de campo proporcionan un haz de electrones que tiene un diámetro de punto de cruce de sólo 10 nm comparados con los 10 μm que proporcionan las varillas de LaB_6 y los 50 μm de las horquillas de tungsteno. Las desventajas de esta fuente son su fragilidad y el hecho de que también requiere un vacío mejor que el necesario para una fuente de filamento ordinario.

Los cañones de electrones producen un haz con energías de 1 a 10 keV, que se pueden enfocar sobre la superficie de una muestra para estudiarla con electrones Auger. Una de las ventajas extraordinarias de la espectroscopía Auger es su capacidad para efectuar barridos de superficies de sólidos con una elevada resolución espacial. Por lo regular se utilizan para este fin haces de electrones con diámetros que varían entre

5 y 500 μm . Los cañones que producen haces de aproximadamente 5 μm se llaman *microsondas Auger* y se utilizan para examinar superficies sólidas con el propósito de detectar y determinar la composición elemental de las heterogeneidades.

Aplicaciones de la espectroscopía de electrones Auger

Análisis cualitativo de superficies de sólidos. Un espectro Auger se obtiene al bombardear un área pequeña de una superficie (diámetro de 5 a 500 μm) con el haz de electrones de un cañón. Se obtiene entonces un espectro de electrones derivado, tal como se ve en la figura 21.8, con un analizador. Una ventaja de la espectroscopía Auger para los estudios de superficies es que los electrones Auger de baja energía, de 20 a 1000 eV, tienen la capacidad de penetrar sólo unas pocas capas de átomos, de 0.3 a 2 nm (3 a 20 Å) del sólido. Por consiguiente, mientras los electrones de los cañones de electrones penetran hasta una mayor profundidad por debajo de la superficie de la muestra, sólo los electrones Auger de las cuatro o cinco primeras capas atómicas se escapan para alcanzar el analizador. Por tanto, un espectro Auger es más apropiado para reflejar la verdadera composición de la superficie de los sólidos.

Los dos espectros Auger de la figura 21.8 son de muestras de una aleación con 70% de cobre y con un 30% de níquel, que a menudo se utiliza para estructuras en las que se requiere una gran resistencia a la corrosión por agua salada. La resistencia a la corrosión de esta aleación aumenta en forma apreciable con una oxidación anódica preliminar en una solución concentrada de cloruro. En la figura 21.8A se ilustra el espectro de una superficie de aleación que ha sido *pasivada* de esta manera. El espectro B corresponde a otra muestra de la aleación en la que el potencial anódico de la oxidación no fue lo suficientemente grande como para ocasionar una pasivación importante. Los dos espectros revelan claramente las diferencias químicas entre las dos muestras y explican la mayor resistencia a la corrosión de la primera. En primer lugar, la relación entre el cobre y el níquel en la capa superficial de la muestra no pasivada es casi igual que la de la muestra global, en el caso del material pasivado, los picos del níquel eclipsan por completo el pico del cobre. Además, la relación oxígeno-níquel en la muestra pasivada se aproxima a la del níquel puro anodizado, que tiene también una elevada resistencia a la corrosión, la cual parece ser consecuencia de la creación de una superficie que contiene sobre todo óxido de níquel. La ventaja de la aleación sobre el níquel puro es su costo significativamente más bajo.

Perfil de profundidad de superficies. Para el perfil de profundidad se requiere determinar la composición

¹⁰En mecánica cuántica hay una probabilidad finita de que una partícula puede atravesar una barrera de energía potencial y aparecer en una región prohibida por la mecánica clásica. Este proceso se llama efecto túnel y puede ser importante para las partículas de luz, como los protones y los electrones.

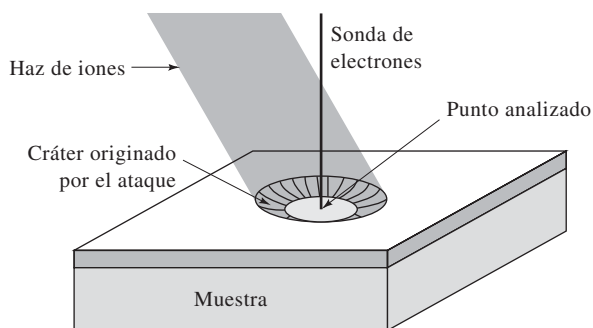


FIGURA 21.10 Representación esquemática del uso simultáneo del ataque por bombardeo de iones y de la espectroscopía Auger para determinar perfiles de profundidad. (Cortesía de Physical Electronics, USA, Chanhassen, MN.)

elemental de una superficie cuando está siendo erosionada o pulverizada por un haz de iones de argón. Tanto la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X como la espectroscopía Auger se pueden utilizar para la detección elemental, pero la última es la más común. En la figura 21.10 se muestra en forma esquemática cómo se lleva a cabo el proceso con una microsonda Auger muy bien enfocada; el diámetro del haz de la microsonda es de alrededor de 5 μm . El haz de la microsonda y el haz que erosiona funcionan de manera simultánea, y se registra la intensidad de uno o más de los picos Auger resultantes en función del tiempo. Debido a que la velocidad de erosión está relacionada con el tiempo, se obtiene un perfil en profundidad de la composición elemental. Esta información es de vital importancia en una gran variedad de estudios, como la química de la corrosión, el comportamiento

catalítico y las propiedades de las uniones de los semiconductores.

La figura 21.11 es un perfil de profundidad para la aleación de cobre-níquel que se describió en la sección anterior (figura 21.8). Las relaciones entre las intensidades pico para el cobre frente al níquel se registran en función del tiempo de bombardeo o ataque. La curva A es el perfil para la muestra que ha sido pasivada por oxidación anódica. En esta muestra, la relación cobre-níquel es prácticamente cero durante los diez primeros minutos de la pulverización, lo que corresponde a una profundidad de alrededor de 50 nm. La relación aumenta luego y se aproxima a la de una muestra de aleación que ha sido atacada químicamente, de modo que su superficie es aproximadamente la de toda la muestra (curva C). El perfil para la muestra no pasivada (curva B) se parece a la de la muestra atacada químicamente, aunque hay cierta evidencia de una capa delgada de óxido de níquel.

Barrido de líneas. Los barridos de líneas se utilizan para caracterizar la composición superficial de sólidos en función de la distancia a lo largo de una línea recta de 100 μm o más. Con este objetivo, se utiliza una microsonda Auger que produce un haz que puede moverse a través de una superficie con una trayectoria reproducible. La figura 21.12 muestra barridos de líneas Auger a lo largo de la superficie de un dispositivo semiconductor. En la figura de arriba, la amplitud de pico relativa de un pico del oxígeno se registra en función de la distancia a lo largo de la línea; la figura de abajo corresponde al mismo barrido cuando el analizador se coloca para detectar un pico del oro.

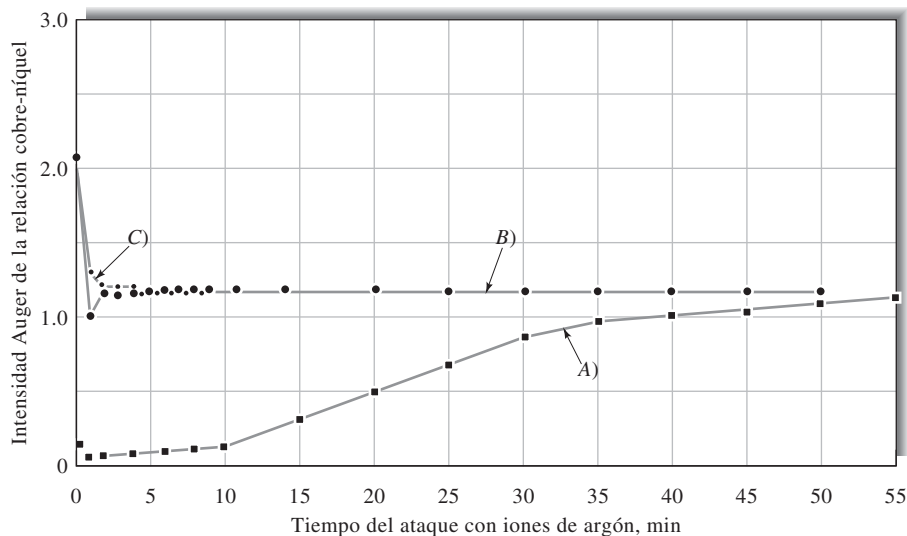


FIGURA 21.11 Perfiles de la pulverización por bombardeo Auger de las aleaciones de cobre-níquel que se muestran en la figura 21.8: A), muestra pasivada; B), muestra no pasivada; C), muestra atacada químicamente y que representa todo el material. (Adaptación a partir de G. E. McGuire y col. *J. Electrochem. Soc.*, 1978, 125, p. 1802. Reproducida con permiso del editor, la Electrochemical Society, Inc.)

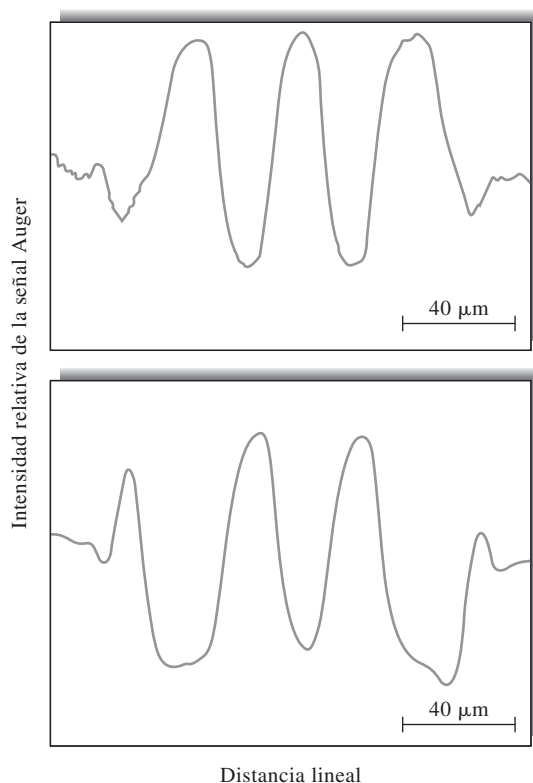


FIGURA 21.12 Barridos de líneas Auger para el oxígeno (arriba) y para el oro (abajo) en la superficie de un semiconductor. (Cortesía de Physical Electronics, USA, Chanhassen, MN.)

21C.3 Espectrometría de electrones con pérdida de energía

En la espectrometría de electrones con pérdida de energía, EELS,¹¹ un haz de electrones de baja energía (1 a 10 eV) se enfoca en la superficie de una muestra y los electrones dispersados se analizan de acuerdo con la energía de ataque y el ángulo de ataque. Algunos de los electrones dispersados sufren pérdidas de energía debido a la excitación vibracional de las moléculas de la superficie. En el caso de la espectrometría de electrones con pérdida de energía de alta resolución, se puede obtener un espectro vibracional al contar el número de electrones con cierta pérdida de energía en relación con los electrones dispersados elásticamente y dando a conocer este conteo en función de la energía. Dichos espectros se han usado para identificar grupos funcionales en la primera capa de una superficie, entre los que se incluyen los adsorbatos, y proporciona información acerca de los enlaces químicos, como estados de oxidación y números de coordinación.

En muchos casos, los espectros de EELS se obtienen junto con los experimentos de microscopía electrónica (véase sección 21G). Sin embargo, en el comercio hay

instrumentos especializados y otros combinados con otras técnicas de espectroscopía de electrones (XPS, AES). Por lo regular, la resolución de los instrumentos para espectrometría de electrones con pérdida de energía es $>10 \text{ cm}^{-1}$, lo cual es bajo comparado con los instrumentos IR y Raman, pero muy apropiados para identificar y caracterizar las especies de las superficies.

21D TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS CON IONES

Las técnicas mencionadas en los renglones 5 a 7 de la tabla 21.1 detectan un haz secundario de iones, y se les llama técnicas espectroscópicas con iones. Entre éstas están la *espectrometría de masas de ion secundario*, *espectroscopía por dispersión de iones*, *espectroscopía de Rutherford por retrodispersión* y *espectrometría de masa con microsonda*.

21D.1 Espectrometría de masas de ion secundario

La espectrometría de masas de ion secundario (SIMS, por sus siglas en inglés) es el más perfeccionado de los métodos de espectrometría de masas aplicados al análisis de superficies. Distintos fabricantes ofrecen instrumentos para esta técnica. La SIMS ha demostrado su utilidad en la determinación tanto de la composición atómica como molecular de superficies de sólidos.¹²

Básicamente hay tres variaciones del experimento SIMS. La *SIMS estática* se utiliza en el análisis elemental de submonocapas en las superficies. La espectrometría de masas de ion secundario es en esencia una técnica destructiva, las condiciones *estáticas* mantienen la integridad de la superficie durante la escala de tiempo del experimento. La *SIMS dinámica* se utiliza para obtener información de la composición en función de la profundidad por abajo de la superficie. El experimento de la SIMS dinámica aprovecha su naturaleza destructiva para obtener información de varias capas del material. Los estudios de imágenes que se obtienen mediante SIMS también se denominan *SIMS de barrido* y se usan para obtener imágenes espaciales de las superficies.

Hay dos tipos de instrumentos para la espectrometría de masas de ion secundario: los *analizadores de masas de ion secundario*, que se utilizan para la SIMS estática y dinámica, y los *analizadores de microsonda*, que se usan para obtener imágenes. Ambos se basan en el bombardeo o ataque de la superficie de la muestra con un haz de iones de 5 a 20 keV. Por lo regular, se

¹² J. C. Vickerman y A. J. Swift en *Surface Analysis — The Principal Techniques*, J. C. Vickerman, ed., Chichester, UK: Wiley, 1997, cap. 5; R. G. Wilson, F. A. Stevie y C. W. Magee, *Secondary Ion Mass Spectrometry: A Practical Handbook for Depth Profiling and Bulk Impurity Analysis*, Nueva York: Wiley, 1989; A. Benninghoven, F. G. Rudenauer y H. W. Werner, *Secondary Ion Mass Spectrometry: Basic Concepts, Instrumental Aspects, and Applications and Trends*, Nueva York: Wiley, 1987; *Secondary Ion Mass Spectrometry Theory Tutorial*, Evans Analytical Group, <http://www.eaglabs.com/en-US/references/tutorial/simstheo/caistheo.html>.

¹¹ Véase R. F. Egerton, *Electron Energy Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*, Nueva York: Plenum Press, 1986.

usan los iones de Ar^+ pero los de Cs^+ , N_2^+ , u O_2^+ también son comunes. El haz de iones se forma en un cañón en el que los átomos o moléculas gaseosas se ionizan por acción de una fuente de impacto por electrones. Los iones positivos se aceleran luego mediante la aplicación de un voltaje de cd elevado. El impacto de estos iones primarios causa que se desprenda la capa superficial de átomos de la muestra, en su mayoría como átomos neutros. Sin embargo, una pequeña fracción forma iones secundarios positivos o negativos que se desvían hacia el espectrómetro de masas para su análisis. En la espectrometría de masas de ion secundario estática, el ataque es tan lento que el consumo de la muestra es en esencia insignificante.

En los analizadores de masas de ion secundario, que sirven para el análisis de superficies en general y para la obtención del perfil de profundidad, el haz de iones primario tiene un diámetro que varía de 0.3 a 5 mm. Para las determinaciones de masas se utilizan espectrómetros de doble enfoque, de enfoque único, de tiempo de vuelo y cuadrupolares. Los transductores característicos para espectrometría de masas de ion secundario son multiplicadores de electrones, vasos de Faraday y detectores de imagen. Estos espectrómetros producen información cualitativa y cuantitativa relacionada con todos los isótopos, del hidrógeno al uranio, presentes en una superficie. Los factores de sensibilidad relativa varían de manera notable de ion a ion. Los límites de detección para la mayoría de los elementos traza varían desde 1×10^{12} átomos/cm³ a 1×10^{16} átomos/cm³. Al supervisar los picos de uno o de algunos isótopos en función del tiempo, se pueden obtener los perfiles de concentración con una resolución de profundidad de 5 nm a 10 nm (50 a 100 Å).

Los analizadores de microsonda de iones son instrumentos más complejos y más caros que se basan en un haz primario de iones que se enfoca en un diámetro de 200 nm a 1 µm. Este haz puede desplazarse por una superficie a casi 300 µm en las direcciones *x* y *y*. Un microscopio permite el ajuste visual de la posición del haz. El análisis de masas se ejecuta con ayuda de un espectrómetro de doble enfoque. En algunos instrumentos el haz primario de iones pasa por un espectrómetro de masas adicional de baja resolución de tal forma que un único tipo de ion primario bombardea la muestra. La modalidad de microsonda de iones para espectrometría de masas de ion secundario permite realizar estudios detallados de superficies de sólidos.

21D.2 Espectroscopía por dispersión de iones y espectroscopía de Rutherford por retrodispersión

Estas dos técnicas son similares en cuanto a que se utiliza un haz primario de iones para sondear una superficie.¹³ En ambas técnicas se mide la distribución de energía de los iones retrodispersados desde la mues-

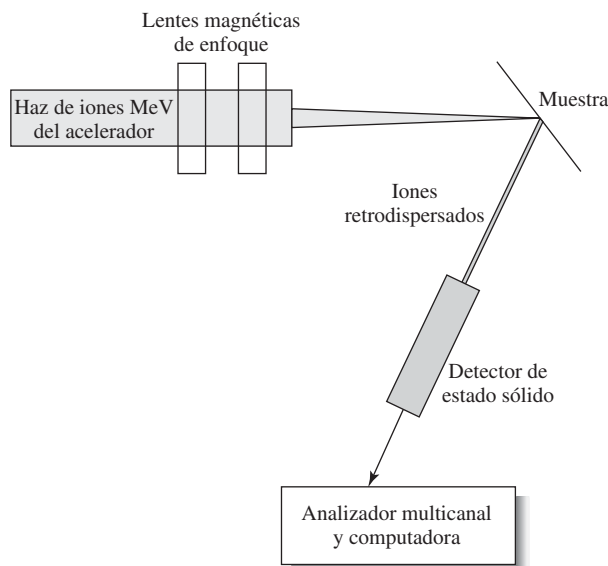


FIGURA 21.13 Aparato de Rutherford de retrodispersión. Un haz de iones procedente de un acelerador se enfoca en la muestra. Los iones retrodispersados son detectados mediante un detector de partículas de estado sólido.

tra. Los iones que chocan contra la superficie de un sólido tienen la capacidad de originar una variedad de procesos relacionados con las colisiones, así como excitaciones electrónicas. Los análisis de los espectros de energía de los iones dispersados proporcionan información respecto a los pesos atómicos, sus concentraciones y sus configuraciones geométricas en la superficie.

La principal diferencia entre las dos técnicas radica en las energías del haz de iones que entra. En la espectroscopía por dispersión de iones (ISS, por sus siglas en inglés), también llamada dispersión de iones de baja energía, las energías primarias del ion están en el intervalo de valores de 0.5 a 5 keV. Se usan los iones de los gases nobles, como He^+ , Ar^+ y Ne^+ , y los iones de álcalis, como Li^+ , Na^+ o K^+ . La fuente que más se utiliza es la de choque por electrones con un analizador de tiempo de vuelo o uno electrostático. En la técnica ISS la información se obtiene a partir de la capa atómica que esté más arriba o, en algunos casos, de una o dos capas directamente abajo.

En la espectroscopía de Rutherford por retrodispersión (RBS, por sus siglas en inglés), los valores de energía del haz primario de iones varían desde 100 keV para H^+ hasta varios MeV para He^+ , He^{2+} (partículas alfa) y iones más pesados. Las fuentes de iones energéticos son a menudo del tipo del generador de Van de Graaff. Como se observa en la figura 21.13, los instrumentos para la espectroscopía de Rutherford por retrodispersión están equipados con frecuencia con detectores de estado sólido para partículas y analizadores multicanal para la resolución de la energía. Los analizadores magnéticos y electrostáticos también se

¹³ Para mayor información véase E. Taglauer en *Surface Analysis — The Principal Techniques*, J. C. Vickerman, ed., Chichester, UK: Wiley, 1997, cap. 6.

utilizan en los estudios de alta resolución. La información en la RBS surge de un espesor de casi 100 nm, aunque con técnicas especiales también es posible el análisis de superficies. Asimismo, con esta técnica es posible determinar los pesos atómicos y las concentraciones de los elementos en función de la profundidad por debajo de la superficie.

Debido a su sensibilidad respecto a la capa superior de la superficie, está demostrado que la espectroscopia por dispersión de iones es muy útil para proporcionar un análisis de los materiales que componen la superficie como catalizadores y aleaciones. Proporciona también información estructural sobre superficies metálicas, de semiconductores, de óxidos metálicos y adsorbatos. Las principales limitaciones de esta técnica se relacionan con las dificultades para proporcionar resultados cuantitativos debido a las reacciones de neutralización y otras interacciones. Los procesos causados por los choques y las pérdidas de energía inelástica también dificultan las determinaciones de la masas absoluta. En cuanto al análisis de la composición, la espectroscopía por dispersión de iones se complementa con la espectroscopía de electrones Auger aunque en general no es aplicable.

La espectroscopía de Rutherford por retrodispersión tiene la capacidad de proporcionar un análisis cuantitativo absoluto de la composición de los elementos con una exactitud de casi 5%. Proporciona además información del perfil de profundidades desde las capas superficiales y películas finas hasta un espesor de casi 1 μm . En algunos casos, el haz de alta energía puede dañar la superficie. Esto es particularmente un problema con los materiales aislantes, como los polímeros, haluros alcalinos y óxidos. La misión del Pathfinder a Marte de 1997 llevó un espectrómetro de rayos X de protones alfa. En el modo de espectrometría de Rutherford por retrodispersión, el espectrómetro bombardeó muestras con partículas alfa y determinó la composición elemental mediante el análisis de energía de las partículas retrodispersadas. Además de la espectrometría de Rutherford por retrodispersión, el instrumento de rayos X de protones alfa se diseñó para efectuar experimentos de emisión de protones y de rayos X inducidos por partículas. La composición del suelo y de las rocas se determinó y comparó con la información de la misión *Viking* anterior.

21D.3 Espectrometría de masas con microsonda de láser

Los espectrómetros de masas con microsonda de láser se usan en el estudio de superficies de sólidos. La ablación de la superficie se consigue mediante un láser pulsante de alta potencia de Nd-YAG. Después de cuadruplicar la frecuencia, el láser de Nd-YAG puede producir una radiación de 266 nm enfocada en un punto de tan sólo 0.5 μm . La densidad de potencia de la radiación dentro de esta área es de 10^{10} a 10^{11} W/cm². Con la

ablación de la superficie se ioniza una pequeña fracción de los átomos. Los iones que se producen son acelerados y luego analizados, de ordinario mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo. En algunos casos, las microsondas láser están combinadas con trampas de iones cuadrupolares y con espectrómetros de masas de transformada de Fourier. En la actualidad, la espectrometría de masas en tándem con microsonda de rayo láser recibe mucha atención en la investigación. Además, la microsonda láser se utiliza para vaporizar muestras antes de introducir las en plasmas acoplados por inducción para lograr emisión o analizar los espectros de masas.¹⁴

La espectrometría de masas con microsonda de rayo láser posee una elevada sensibilidad poco frecuente (por debajo de 10^{-20} g), por lo que se puede aplicar tanto en muestras inorgánicas como orgánicas (incluidas las biológicas), tiene una resolución espacial de alrededor de 1 μm y proporciona datos a gran velocidad. Algunas aplicaciones características son: determinación de las relaciones de concentración de Na/K en la fibra nerviosa de una rana, determinación de la distribución de calcio en la retina, clasificación de los asbestos y del polvo de las minas de carbón, determinación de la distribución de fluoruro en el tejido óseo dental, análisis de aminoácidos y estudio de superficies de polímeros.¹⁵

21E MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE FOTONES PARA SUPERFICIES

En esta sección se tratan métodos en los cuales los fotones proporcionan tanto el haz primario como el haz detectado. Las técnicas que se estudian se enlistan en la tabla 21.1, a saber, *resonancia de plasmones en superficies, generación de frecuencia resultante y elipsometría*. Todas las técnicas espectroscópicas iónicas y electrónicas que se aplican en superficies y que se describieron antes tienen una desventaja: requieren un ultraalto vacío y no proporcionan acceso a interfases enterradas. Los métodos espectroscópicos de fotones que se analizan aquí son aplicables a superficies en contacto con líquidos y, en algunos casos, a superficies que yacen bajo capas transparentes.

21E.1 Resonancia de plasmones en superficie

Las *ondas de plasmones superficiales* son de naturaleza electromagnética, se propagan en el plano *xy* de una película metálica cuando los electrones libres interactúan con los fotones. Una manera fácil de lograr la condición de resonancia es hacer arreglos para que haya reflexión interna total en una interfase, como se ilustra en la figura 21.14. En este caso, un haz de luz

¹⁴ Por ejemplo, véase R. E. Russo, X. Mao y S. S. Mao, *Anal. Chem.*, **2002**, *74*, p. 70A; B. Hattendorf, C. Latkoczy y D. Gunther, *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, p. 341A.

¹⁵ Más detalles en L. Van Vaeck y R. Gijbels, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1990**, *336*, pp. 743 y 755.

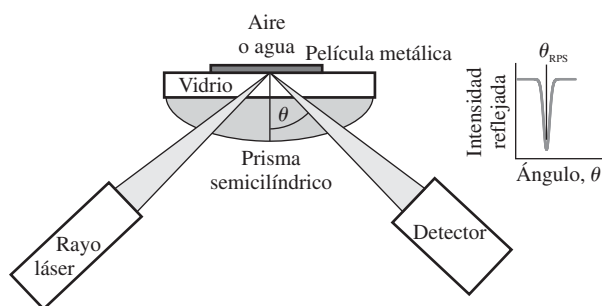


FIGURA 21.14 Resonancia de plasmones en superficie.

La radiación láser se acopla en un sustrato de vidrio revestido con una fina capa de metal mediante un prisma semicilíndrico. Si se produce una reflexión interna total, se genera una onda evanescente en el medio con índice de refracción menor. Esta onda tiene la capacidad de excitar ondas de plasmones superficiales. Si el ángulo es el apropiado para que haya resonancia de plasmones, se observa una disminución abrupta en la intensidad reflejada en el detector.

monocromática procedente de un láser se propaga en un medio cuyo índice de refracción es alto, como el vidrio. Si la radiación choca contra una interfase de un medio con índice de refracción más bajo, como el aire o el agua, puede ocurrir reflexión interna total si el ángulo de incidencia es mayor que el ángulo crítico. La radiación se enfoca y se acopla en la interfase mediante un acoplador de prisma o una red de difracción. Con una reflexión interna total se genera una *onda evanescente* (véase la sección 17B.3) en el medio cuyo índice de refracción es inferior, la cual disminuye en forma exponencial con la distancia desde la interfase. Como se vio en el capítulo 17, la onda evanescente es absorbida por el medio menos denso y el haz es atenuado por la *reflectancia atenuada total*.

Si la interfase de reflexión interna se reviste con un material conductor, como una película fina de metal, el componente polarizado p de la onda evanescente podría penetrar la capa metálica y provocar ondas de plasmones en la superficie. Si el metal no es magnético, como una capa de oro, la onda de plasmones superficiales también es polarizada p , con lo cual se crea una onda evanescente intensificada. Debido a la penetración del campo eléctrico en el medio con índice de refracción menor, la interacción es muy sensible al índice de refracción en la superficie de la película metálica. Cuando el ángulo es apropiado para la resonancia de plasmones en superficie, se observa una disminución abrupta en la intensidad reflejada, como se ve en la figura 21.14. La condición de resonancia se puede relacionar con el índice de refracción de la película metálica y se usa para medir esta cantidad y otras propiedades de la superficie.

La cuestión más interesante de la resonancia de plasmones en superficie es su sensibilidad respecto a

los materiales adsorbidos en la película metálica y a las interacciones de éstos, sobre todo cuando se trata de biomoléculas.¹⁶ Con frecuencia hay una relación lineal entre la energía resonante y la concentración de materiales importantes desde el punto de vista biológico, como el azúcar, moléculas de ADN y proteínas. A causa de esta sensibilidad, la técnica se ha vuelto importante para los biosensores. En este caso, las interacciones biomoleculares, como el enlace anticuerpo-antígeno o el de la enzima y el sustrato, se producen en la superficie del sensor. Dichas interacciones modifican el índice de refracción y cambian el ángulo de resonancia de los plasmones necesario para lograr la resonancia. El ángulo de resonancia de los plasmones, θ_{RPS} , se supervisa en función del tiempo para obtener información de las propiedades cinéticas de las reacciones de enlace en la superficie. Ya hay en el comercio instrumentos para esta técnica.¹⁷

Se vislumbran muchas otras aplicaciones de las ondas de plasmones en superficie, entre las que se incluyen dispositivos miniaturizados, tales como filtros, polarizadores y fuentes de luz. Este campo ha sido llamado *plasmónica molecular*.¹⁸

21E.2 Generación de frecuencia resultante

Es una técnica no lineal que se apoya en la interacción de dos fotones en una superficie.¹⁹ El resultado de la interacción de la mezcla de ondas es la producción de un solo fotón cuya frecuencia es la suma de las frecuencias incidentes. Si los dos fotones incidentes son de la misma frecuencia, la técnica se llama *generación de la segunda armónica* porque el fotón saliente tiene una frecuencia que es el doble de la de los fotones incidentes. Como se trata de un proceso débil de segundo orden, se tienen que usar rayos láser intensos.

La generación de frecuencia resultante (SFG, por sus siglas en inglés), se puede aplicar a interfases sólido-líquido, sólido-gas, líquido-gas o líquido-líquido. El proceso se vuelve muy efectivo cuando la frecuencia incidente o la frecuencia de salida corresponde a una transición electrónica o vibracional permitida. Por lo regular, una de las fuentes es un rayo láser sintonizable para facilitar la variación de la frecuencia incidente.

Una de las posibles técnicas de generación de frecuencia resultante más útiles es la espectroscopía vibracional de frecuencia resultante, en la cual uno de los rayos incidentes está en la región infrarroja del espectro y el otro se sitúa en la región visible.²⁰ En la figura 21.15 se pueden ver dos configuraciones que se pueden usar. En la figura 21.15a se ilustra la configu-

¹⁶ J. Homola, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, 377, p. 528.

¹⁷ Véase R. Mukhopadhyay, *Anal. Chem.*, **2005**, 77, p. 313A.

¹⁸ R. P. Van Duyne, *Science*, **2004**, 306, p. 985.

¹⁹ Véase M. E. Pemble en *Surface Analysis — The Principal Techniques*, J. C. Vickerman, ed., Chichester, UK: Wiley, 1997, cap. 7.

²⁰ M. R. Watry, M. G. Brown y G. L. Richmond, *Appl. Spectrosc.*, **2001**, 55, p. 321.

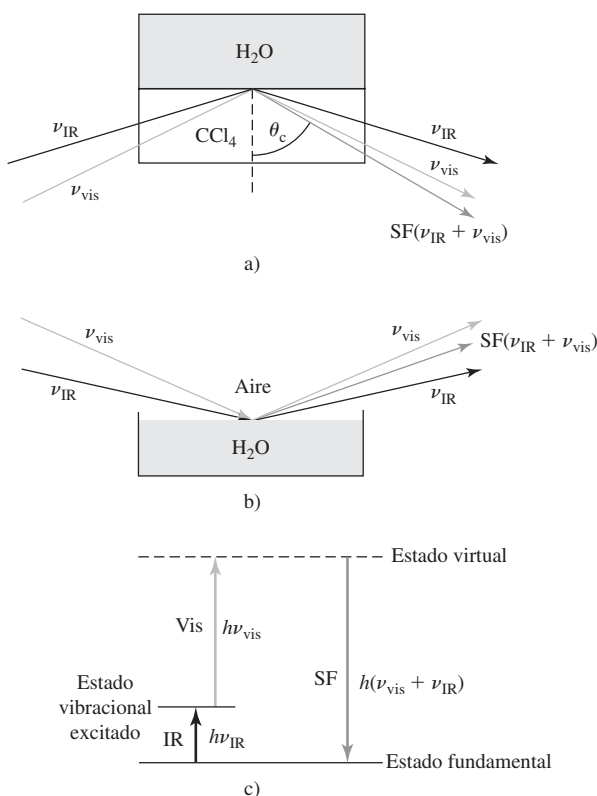


FIGURA 21.15 Generación de frecuencia resultante.

En a) se muestra una configuración de reflexión interna total para estudiar una interfase líquido-líquido. En b) se muestra una configuración de reflexión externa para estudiar una interfase líquido-gas. En ambos casos un fotón IR de frecuencia ν_{IR} coincide con un fotón visible de frecuencia ν_{vis} . La frecuencia resultante ($\nu_{\text{IR}} + \nu_{\text{vis}}$) se genera como se ve en c).

ración para estudiar la interfase entre dos líquidos inmiscibles como agua y CCl_4 . En este caso se aplica un acomodo de reflexión interna total. En la figura 21.15b se muestra una configuración de reflexión interna para estudiar una interfase aire-agua. La frecuencia resultante también se podría recolectar en el modo de transmisión y no en los modos de reflexión mostrados. En ambos casos se utilizan rayos láser de pulsos de alta intensidad. Los rayos láser más comunes para la SFG vibracional son Nd-YAG y zafiro-Ti. Se han utilizado varias combinaciones para proporcionar radiación sintonizable IR y radiación visible de frecuencia fija. Los impulsos tienen que traslaparse en forma temporal y espacial en la interfase. En la figura 21.15c se puede ver un diagrama del nivel de energía que ilustra el proceso.

La generación de frecuencia resultante se aplica a varios problemas analíticos. Se ha estudiado con ella la estructura y el comportamiento de los tensoactivos en interfases líquido-líquido, así como la estructura del agua en interfases líquido-líquido y líquido-gas. La técnica

también se utilizó para investigar los surfactantes biológicos, como las monocapas de fosfolípidos, en interfases líquidas y para estudiar la adsorción de moléculas procedentes de la atmósfera en superficies líquidas. La capacidad para sondear interfases enteradas y estudiar las propiedades dinámicas de los procesos que ocurren en ellas harán de esta técnica una herramienta muy útil en el futuro.

21E.3 Elipsometría

La elipsometría es una técnica en la que se usa luz polarizada para conocer las propiedades dieléctricas de las muestras.²¹ Es muy común aplicarla en el análisis de películas muy finas que están sobre superficies. En la elipsometría, un rayo incidente polarizado, a menudo procedente de un láser, se hace incidir en una película, y la luz reflejada se analiza con el fin de determinar un cambio en el estado de la polarización. El cambio en la amplitud y la fase de la luz reflejada se relacionan luego con propiedades como índice de refracción de la película, absorptividad, anisotropía óptica y espesor.

Las mediciones básicas en la elipsometría involucran la medición de los coeficientes de reflexión para luz polarizada paralela $R_{\parallel}$ y perpendicular $R_{\perp}$ (a veces denominada luz polarizada s y p , respectivamente). La relación entre estos valores, que es un número complejo, da el ángulo elíptico Ψ y el desplazamiento de fase Δ de acuerdo con

$$\frac{R_{\parallel}}{R_{\perp}} = \tan(\Psi)e^{i\Delta} \quad (21.9)$$

Los parámetros Ψ y Δ revelan el espesor de la capa reflectora y sus propiedades ópticas.

Hay varios tipos diferentes de elipsómetros en el comercio. El tipo más antiguo era el de tipo nulo, en el cual un haz incidente polarizado circularmente era reflejado por la superficie de la muestra hacia un analizador. El estado de polarización del rayo incidente era seleccionado por un polarizador y compensador de modo que se obtenía luz polarizada linealmente después de la reflexión. Entonces se hacía girar el analizador hasta quedar en posición perpendicular respecto al eje de polarización de la luz entrante procedente de la muestra como lo indicaba un mínimo en la intensidad de la luz. Algunos instrumentos todavía utilizan el principio de la nulidad, pero los controla una computadora y están equipados con cámaras con dispositivos de acoplamiento de carga que funcionan como detectores.

Otro tipo de elipsómetro se basa en una técnica de modulación de fase. En esta técnica, una plancha gira-

²¹ Para mayor información refiérase a H. G. Tompkins y E. A. Irene, *Handbook of Ellipsometry*, Norwich, NY: William Andrew Publishing, 2005; H. G. Tompkins y W. A. McGahan, *Spectroscopic Ellipsometry and Reflectometry: A User's Guide*, Nueva York: Wiley, 1999.

toria de un cuarto de onda o modulador acústico-óptico cambia con rapidez el estado de polarización del haz incidente. Se obtienen características de la luz reflejada a partir de un análisis de la señal modulada del detector y se usan para calcular el espesor de la película y otras cantidades.

La *elipsometría espectroscópica* adquiere los parámetros elipsométricos en función de la longitud de onda y, a menudo, del ángulo de incidencia. Los elipsómetros espectroscópicos modernos están equipados con cámaras con dispositivos de acoplamiento de carga para recolectar los datos de longitud de onda variable. Muchos de los instrumentos más recientes utilizan también técnicas de transformada de Fourier debido a las elevadas relaciones señal-ruido y a otras ventajas inherentes.

21F MÉTODOS DE MICROANÁLISIS ESTIMULADOS POR ELECTRONES

Varias técnicas de microanálisis detectan las partículas emitidas después de que un haz de electrones finamente enfocado choca contra la superficie de una muestra. En esta sección se trata el *análisis con microsonda de electrones* y la *microscopía electrónica de barrido*.

21F.1 Microsonda de electrones

Con la microsonda de electrones se estimula la emisión de rayos X de la superficie de la muestra al enfocar un haz fino de electrones. La emisión de rayos X así originada se detecta y analiza bien con un espectrómetro dispersivo de longitud de onda o de energía.²²

Instrumentos

En la figura 21.16 se proporciona el esquema de un sistema de microsonda de electrones. El instrumento emplea tres haces de radiación integrados, a saber: uno de electrones, uno de luz visible y uno de rayos X. Además es necesario un sistema de vacío que proporcione una presión inferior a 10^{-5} torr como en el caso de un espectrómetro de rayos X dispersivo de longitud de onda o de energía (en la figura 21.16 se muestra un sistema dispersivo de longitud de onda). El haz de electrones se origina por el calentamiento de un cátodo de tungsteno y un ánodo de aceleración (que no se muestra). Dos lentes electromagnéticas enfocan el haz sobre la muestra; el diámetro del haz está comprendido entre 0.1 y 1 μm . Se utiliza un microscopio óptico para

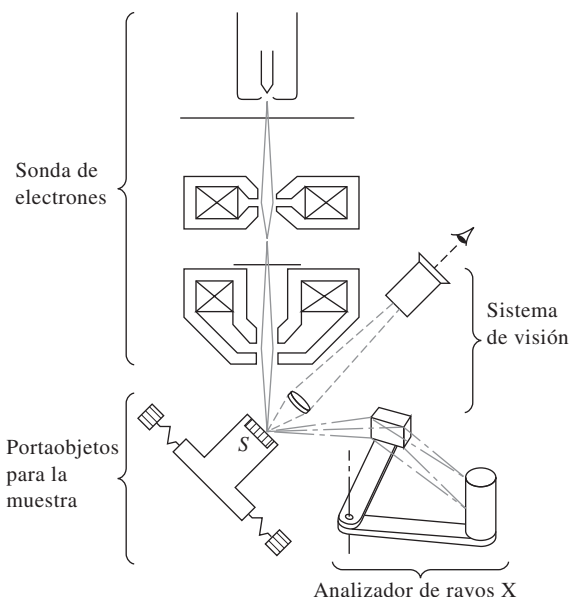


FIGURA 21.16 Vista esquemática de una microsonda de electrones. (Tomado de Witt, *Treatise on Analytical Chemistry*, Kolthoff y Elving, eds., vol. 5, parte 1, p. 317B, Nueva York: Interscience/Wiley, 1964.)

localizar el área que se quiere bombardear. Para finalizar, los fotones de fluorescencia de rayos X originados por el haz de electrones son colimados, dispersados por un monocristal y detectados por un transductor lleno de gas. Es necesario un esfuerzo considerable para diseñar la disposición espacial de los tres sistemas de tal manera que no interfieran entre sí.

Como se puede ver en la figura 21.16, el portaobjetos para la muestra contiene un mecanismo mediante el cual la muestra puede desplazarse en dos direcciones perpendiculares entre sí y girar también, lo cual facilita el barrido de la superficie.

Aplicaciones

La microsonda de electrones proporciona información abundante sobre la naturaleza física y química de las superficies. Tiene aplicaciones muy importantes en estudios de fase en metalurgia y cerámica, en la investigación de bordes de grano en aleaciones, en la medida de las velocidades de difusión de impurezas en los semiconductores, en la determinación de especies ocultas en cristales y en el estudio de los sitios activos en catalizadores heterogéneos. En todas estas aplicaciones se obtiene información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de las superficies.

En la figura 21.17 se muestra el uso de la microsonda de electrones para el análisis de una partícula de α -cohenita (Fe_3C) en una roca lunar. Los datos se obtuvieron mediante un barrido lineal de la partícula al observar directamente la superficie y se midió la intensidad de la línea de emisión característica de cada uno de los cuatro elementos.

²² Un análisis minucioso de este método aparece en S. J. B. Reed, *Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology*, 2a. ed., Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2005; S. J. B. Reed, *Electron Microprobe Analysis*, 2a. ed., Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1993; K. F. J. Heinrich, *Electron Beam X-Ray Microanalysis*, Nueva York: Van Nostrand, 1981; L. S. Birks, *Electron Probe Microanalysis*, 2a. ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 1971. Un panorama de la aplicación de la microsonda de electrones para barrido en el análisis elemental de superficies se encuentra en D. E. Newbury *et al.*, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, pp. 1159A y 1245A.

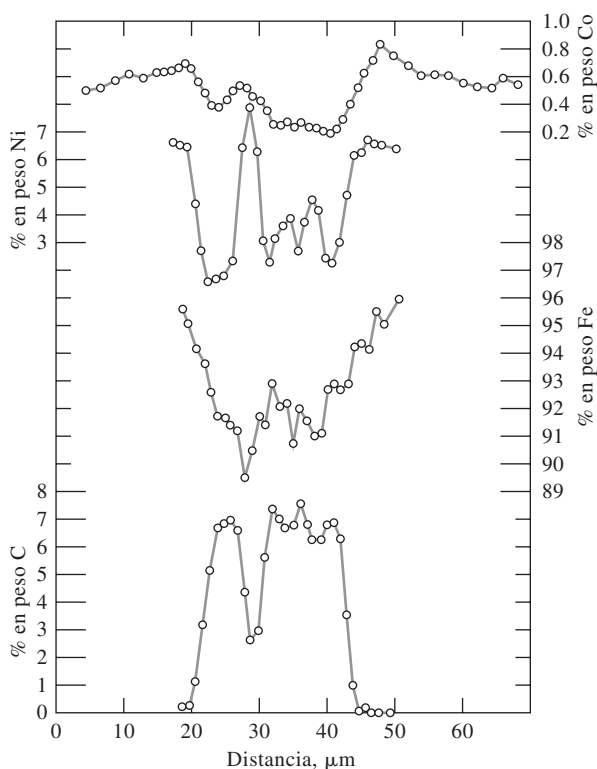


FIGURA 21.17 Resultados obtenidos mediante una microsonda de barrido de electrones al estudiar la superficie de una partícula de α -cohenita procedente de una roca lunar.

21F.2 Microscopía electrónica de barrido

El método clásico para obtener información minuciosa acerca de la naturaleza física de las superficies era el microscopio óptico, que todavía es un recurso importante. Sin embargo, la resolución de la microscopía óptica está limitada por los efectos de difracción respecto a la longitud de onda de la luz. La mayor parte de la información de resolución superior se obtiene al utilizar uno de los métodos de microscopía electrónica. Los dos más importantes son la *microscopía electrónica de barrido* y la *microscopía electrónica de transmisión*.²³ Los llamados métodos de *microscopía de sonda de barrido*, que ofrecen *microscopía de efecto túnel* y *microscopía de fuerzas atómicas*, se han vuelto métodos importantes para la caracterización de superficies y se analizan en la sección 21G.

Los métodos de microscopía electrónica de barrido y de transmisión tienen muchas similitudes, pero se puede pensar que la primera proporciona imágenes

de la morfología externa, similares a las que se ven con el ojo humano. En cambio, la segunda investiga la estructura interna de los sólidos y proporciona información sobre detalles microestructurales que no son tan familiares a la vista del ser humano. Se limitará el estudio a los métodos de microscopía electrónica de barrido, (SEM, por sus siglas en inglés).

Para obtener una imagen por microscopía electrónica de barrido, se enfoca un haz de electrones muy fino sobre la superficie de la muestra sólida. Con instrumentos análogos, el haz de electrones se pasa por la muestra en un barrido de trama mediante bobinas de barrido. El patrón de barrido de trama resultante es similar al que se usa en el tubo de rayos catódicos (CRT) de un televisor en el cual el haz de electrones 1) barre la superficie en línea recta en la dirección x , 2) vuelve a la posición inicial y 3) se desplaza hacia abajo en la dirección y y un incremento estándar. El proceso se repite hasta que el área deseada de la superficie ha sido barrida. En los instrumentos más recientes se consigue el mismo efecto mediante control digital para ubicar el haz sobre la muestra. En el caso del barrido analógico o en los sistemas digitales, se recibe una señal por encima de la superficie (dirección z), y se almacena en una computadora donde en última instancia se convierte en una imagen. En este proceso se producen varios tipos de señales desde la superficie, incluidos electrones retrodispersados, secundarios y Auger; fotones debidos a la fluorescencia de rayos X y otros fotones de diversas energías. Todas estas señales se han utilizado en estudios de superficies. En los instrumentos para microscopía electrónica de barrido los electrones retrodispersados y secundarios se detectan y se utilizan para construir la imagen. Para fines de análisis químico, muchos de los instrumentos también están equipados con detectores de rayos X que facilitan las determinaciones cualitativas y cuantitativas mediante fluorescencia de rayos X. Como se explica en la sección anterior, los analizadores de microsonda de electrones son instrumentos hechos específicamente para análisis de rayos X.

Instrumentación

En la figura 21.18 se muestra el esquema de un instrumento para microscopía electrónica de barrido combinado con una microsonda.²⁴ Tanto el detector de electrones como el detector de rayos X están presentes. Para simplificar la explicación se ilustra el sistema de barrido analógico.

Cañones de electrones y sistemas ópticos. La fuente de electrones es un filamento de tungsteno, pero tam-

²³ Si desea información adicional consulte S. J. B. Reed, *Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology*, 2a. ed., Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2005; P. J. Goodhew, J. Humphreys y R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*, 3a. ed., London: Taylor & Francis, 2001; L. Reimer, *Scanning Electron Microscopy*, Berlin: Springer-Verlag, 1998.

²⁴ Consulte E. Zubritsky, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 215A en donde se revisa la microscopía electrónica de barrido en la era de las computadoras personales.

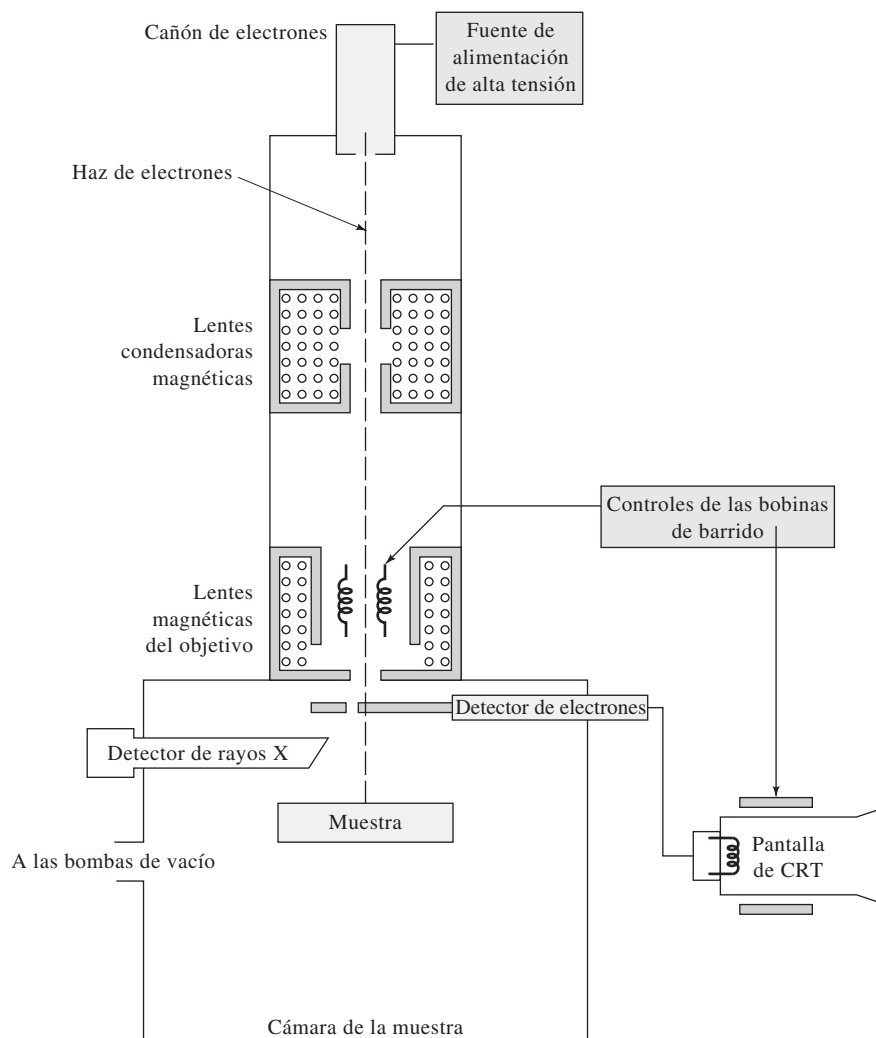


FIGURA 21.18 Esquema de un microscopio electrónico de barrido equipado con sistemas de detección de electrones y de rayos X.

bién se utilizan cañones de emisión de campo en los trabajos de alta resolución. Los electrones son acelerados hasta una energía de entre 1 y 30 keV. Los sistemas magnéticos de las lentes condensadoras y de las lentes del objetivo reducen las dimensiones del punto a un diámetro de 2 a 10 nm cuando llega a la muestra. El sistema de lentes condensadoras, que puede constar de una o más lentes, se encarga de que el haz de electrones llegue a la lente del objetivo, y ésta determina el tamaño del haz de electrones que incide sobre la superficie de la muestra.

El barrido con un microscopio electrónico se efectúa mediante los dos pares de bobinas electromagnéticas ubicadas dentro de la lente del objetivo (véase figura 21.18); un par desvía el haz en la dirección x de la muestra, y el otro par lo desvía en la dirección y . El barrido se controla aplicando una señal eléctrica a un par de las bobinas de barrido, de modo que el haz de

electrones choca contra la muestra a un lado del eje central del sistema de lentes. Si se hace variar la señal eléctrica de este par de bobinas, es decir, las bobinas x en función del tiempo, el haz de electrones se desplaza en una línea recta por la muestra y luego regresa a su posición original. Tras completar el barrido lineal, el otro conjunto de bobinas, las bobinas y en este caso, desvía ligeramente el haz y se repite el barrido con el haz que utiliza las bobinas x . Por consiguiente, al desplazar con rapidez el haz, la superficie completa de la muestra se irradia con el haz de electrones. Las señales de las bobinas de barrido pueden ser analógicas o digitales. El barrido digital tiene la ventaja de que se pueden reproducir el movimiento y la ubicación del haz de electrones. La señal procedente de la muestra se puede codificar y almacenar en forma digital junto con las representaciones digitales de las posiciones x y y del haz.

En la microscopía electrónica de barrido analógica las señales que se utilizan para mover el haz de electrones en las direcciones x y y también activan los barridos horizontal y vertical de un tubo de rayos catódicos. La imagen de la muestra se obtiene mediante la salida de un detector que permite controlar la intensidad en un punto determinado con el CRT. Por tanto, este método de barrido produce un mapa de la muestra en el que hay una relación uno a uno entre la señal producida en un lugar particular de la superficie de la muestra y el punto correspondiente de la pantalla de CRT. La amplificación (M) alcanzada en la imagen del microscopio electrónico de barrido viene dada por

$$M = W/w \quad (21.10)$$

donde W es la anchura de la pantalla de CRT y w es la anchura de una línea de barrido a lo largo de la muestra. Puesto que W es constante, la amplificación se logra al disminuir w . Por ejemplo, si el haz de electrones explora una trama de $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ en la muestra y la imagen se despliega en una pantalla de CRT de $100\text{ mm} \times 100\text{ mm}$, la amplificación lineal será $10\ 000\times$. La relación inversa entre amplificación y anchura de barrido en la muestra significa que un haz de electrones enfocado en un punto infinitamente pequeño podría proporcionar una amplificación infinita. Sin embargo, una variedad de factores limita la amplificación que se puede conseguir a valores que varían desde $10\times$ a $100\ 000\times$.

Muestras y portamuestras. Las cámaras para la muestra están diseñadas para permitir cambios rápidos de las mismas. Para ello se utilizan bombas de vacío de alta capacidad que permiten agilizar el cambio de presión ambiente a $\sim 10^{-6}$ torr o incluso menos en la microscopía electrónica de barrido ordinaria. En el caso de muchos instrumentos, el portamuestras o portaobjetos es capaz de sujetar por el borde muestras de varios centímetros. Además, se puede mover en las direcciones x , y y z , y girar alrededor de cada uno de los ejes. Por consiguiente, las superficies de la mayoría de las muestras pueden ser observadas desde casi cualquier perspectiva. En la microscopía electrónica de barrido ambiental, que se trata más adelante, se requieren presiones mucho más altas en la cámara de la muestra y permite variaciones de temperatura y composición de los gases.

Las muestras que conducen electricidad son las más fáciles de estudiar porque la libre circulación de los electrones a tierra permite minimizar los problemas asociados con la acumulación de carga. Además, las muestras que son buenas conductoras de la electricidad son casi siempre también buenas conductoras del calor, lo que tal vez disminuye la probabilidad de su degradación térmica. Por desgracia, la mayor parte de las muestras biológicas y muchas muestras minerales no son conductoras. Se ha perfeccionado una gran varie-

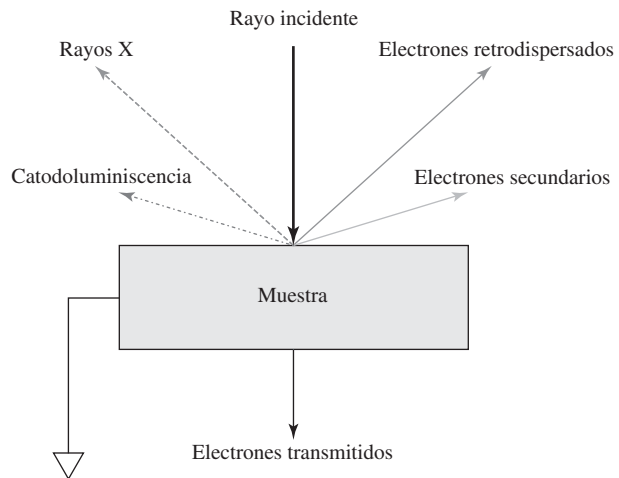


FIGURA 21.19 Diagrama de algunas de las señales que se generan con un microscopio electrónico de barrido.

dad de técnicas para obtener imágenes con microscopía electrónica de barrido de muestras no conductoras, pero las más comunes requieren que la superficie de la muestra se cubra con una película metálica fina ($\sim 10\text{ nm}$) producida por evaporación por bombardeo o por evaporación al vacío. Independientemente del método que se utilice para obtener un revestimiento conductor, se debe conseguir un equilibrio entre la obtención del revestimiento más fino y uniforme que se pueda conseguir y un grosor excesivo que enmascare los detalles de la superficie. Los revestimientos también podrían interferir con otros modos de detección, por ejemplo, la emisión de rayos X. La microscopía electrónica de barrido ambiental que se explica más adelante se puede usar directamente con muestras no conductoras.

Al examinar los materiales que no son conductores, sobre todo los polímeros y los materiales biológicos, se podrían presentar otras dificultades, como la degradación térmica, daños por la radiación y volatilidad de la muestra en un alto vacío.

Interacciones de los haces de electrones. La versatilidad de la microscopía electrónica de barrido y de la microsonda de electrones en el estudio de sólidos proviene de la amplia variedad de señales que se generan cuando el haz de electrones interacciona con el sólido. En la figura 21.19 se ilustran las señales que pueden resultar. Se consideran sólo tres de estas señales: los electrones retrodispersados, los electrones secundarios y la emisión de rayos X. Las interacciones de un sólido con un haz de electrones se pueden clasificar en dos categorías: interacciones *elásticas*, que afectan las trayectorias de los electrones en el haz sin que se alteren de manera significativa sus energías, e interacciones *inelásticas*, que resultan de la transferencia total o parcial de la energía de los electrones al sólido. El sólido excitado emite entonces electrones secundarios, electro-

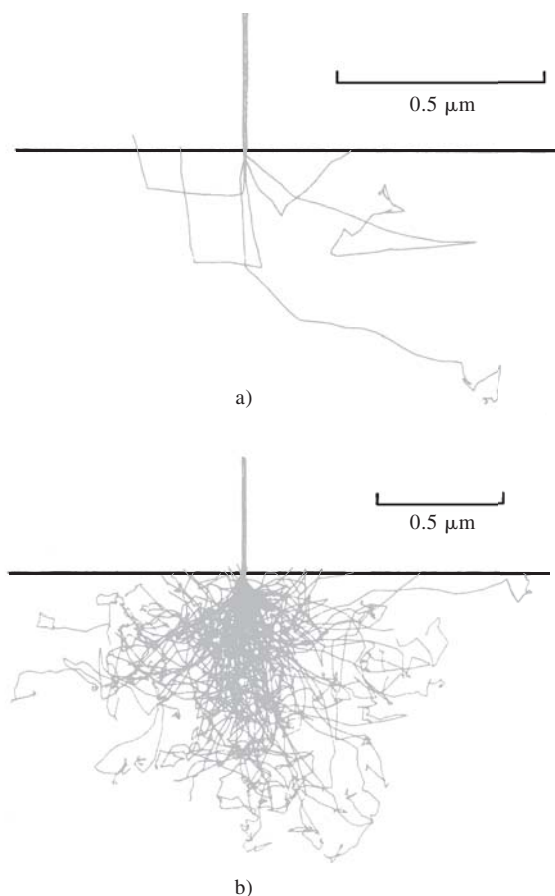


FIGURA 21.20 Simulación de las trayectorias de los electrones que muestra el volumen de dispersión de los electrones de 20 keV en una muestra de hierro. a) 5 electrones; b) 100 electrones. (Tomado de J. I. Goldstein *et al.*, *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, Nueva York: Plenum Press, 1981, p. 62. Con autorización.)

nes Auger, rayos X y, a veces, fotones de longitudes de onda más largas.

Cuando un electrón colisiona elásticamente con un átomo, cambia la dirección del electrón pero se mantiene intacta la velocidad del mismo, de modo que la energía cinética del electrón permanece en esencia constante. El ángulo de desviación para una colisión dada es aleatorio y puede variar desde 0° hasta 180° . La figura 21.20 muestra una simulación obtenida con computadora del comportamiento aleatorio de 5 y 100 electrones cuando penetran en forma perpendicular la superficie de un sólido. La energía que se le asigna al haz es de 20 keV, valor relativamente corriente. Hay que señalar que el haz penetra hasta una profundidad de $1.5 \mu\text{m}$ o más. Con el tiempo, algunos de los electrones pierden su energía por colisiones inelásticas y permanecen en el sólido; sin embargo, la mayoría experimenta numerosas colisiones y, como resultado, a la larga abandonan la superficie como electrones retro-

dispersados. Es importante señalar que el haz formado por estos electrones tiene un diámetro mucho mayor que el haz incidente, es decir, para un haz incidente de 5 nm, el haz retrodispersado puede tener un diámetro de varios micrómetros. Este diámetro es uno de los factores que limita la resolución de un microscopio electrónico. Los electrones retrodispersados tienen una distribución de energía ancha, que varía desde 50 eV hasta la energía del haz incidente.

Cuando la superficie de un sólido es bombardeada con un haz de electrones cuya energía es de varios keV, los electrones con energías de 50 eV o menos son emitidos desde la superficie junto con los electrones retrodispersados. La cantidad de estos *electrones secundarios* es generalmente del orden de la mitad a la quinta parte o menos de los electrones retrodispersados. Los electrones secundarios se producen como resultado de interacciones entre los electrones del haz, altamente energéticos, y los electrones de conducción del sólido, débilmente enlazados, lo que da lugar a su expulsión de la banda de conducción con energía de unos pocos electronvolts. Los electrones secundarios se pueden producir sólo a una profundidad de 50 a $500 \text{ \AA}$ y salen en un haz cuyo diámetro es ligeramente mayor que el del haz incidente. Puede evitarse que los electrones secundarios lleguen al detector aplicando una pequeña polarización negativa a la cubierta del transductor.

Un tercer producto del bombardeo de electrones sobre un sólido es la obtención de fotones de rayos X. Se producen las líneas características de los espectros y un continuo de rayos X. Esta radiación constituye el fundamento de la microsonda de electrones para el análisis con fluorescencia de rayos X de imágenes obtenidas con microscopía electrónica de barrido.

La región que penetran los electrones se conoce con el nombre de *volumen de interacción*. Aun cuando la radiación se genera dentro de este volumen, no será detectada a menos que escape de la muestra. Los rayos X no se absorben con facilidad, por lo que la mayoría escapa. El volumen de material que contribuye a la señal de rayos X se denomina *volumen de muestreo* y es del mismo orden que el volumen de interacción, como se puede ver en la figura 21.21. Los electrones retrodispersados no escapan si han penetrado más de una fracción de micrómetro. Por consiguiente, la señal retrodifundida se origina a partir de un volumen mucho más pequeño. La señal de electrones secundarios surge de una región que es del mismo orden que el diámetro del haz incidente de electrones. Por esta razón, las señales de los electrones secundarios son capaces de proporcionar resolución espacial mucho más alta que las otras señales, y son las más ampliamente usadas en el sistema de microscopía electrónica de barrido.

Transductores. Los electrones secundarios son los que detecta con más frecuencia el sistema fotomultiplicador de centelleo, conocido como detector de Ever-

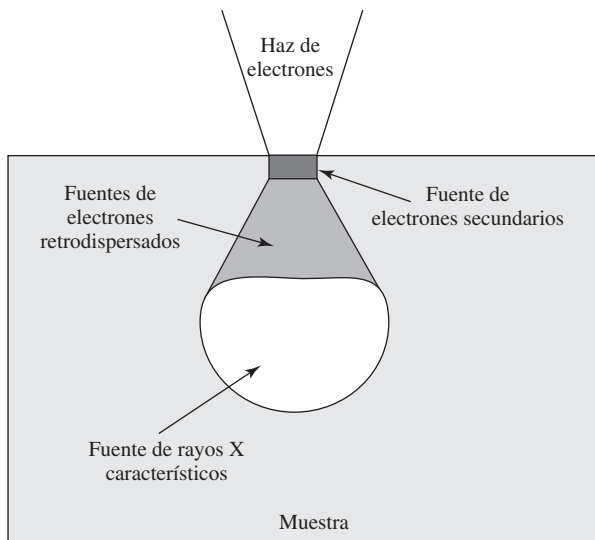


FIGURA 21.21 El volumen de interacción y los volúmenes a partir de los cuales se genera cada uno de los tipos de señales de microscopía electrónica de barrido.

Everhart-Thornley, que se ilustra en la figura 21.22. Los electrones secundarios chocan contra el centelleador que entonces emite luz. La radiación emitida es transportada por un tubo de luz hasta un tubo fotomultiplicador donde se le transforma en pulsos de electrones que se usan después para controlar la brillantez del haz de electrones en un CRT.

Puesto que la energía de los electrones secundarios es demasiado baja (< 50 eV) para excitar o activar en forma directa al centelleador, primero es necesario acelerar los electrones. La aceleración se logra aplicando un voltaje de polarización de alrededor de $+10$ keV a una película fina de aluminio que cubre el centelleador. Una rejilla colectora metálica, polarizada positivamente, rodea al centelleador y evita que la alta

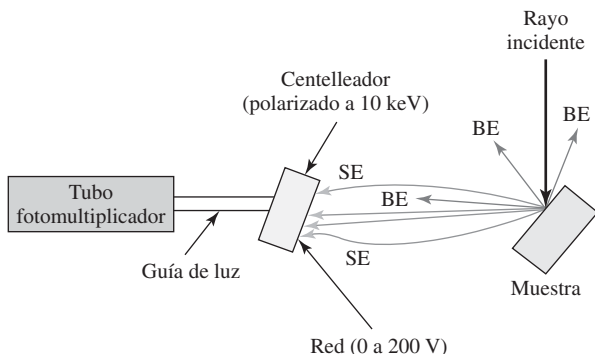


FIGURA 21.22 Diagrama del detector de electrones secundarios de Everhart-Thornley. Se muestran las trayectorias de los electrones secundarios (SE) y de los electrones retrodispersados (BE). El centelleador es un luminóforo que emite luz cuando es golpeado por partículas energéticas, como electrones, rayos gamma o partículas radiactivas.

tensión afecte al haz incidente de electrones. Además mejora la eficiencia en la recolección, ya que atrae a los electrones secundarios, incluso a los que no se mueven desde el inicio hacia al detector.

Una modificación de área grande del detector de centelleo se aprovecha para detectar los electrones retrodispersados. Este diseño aumenta al máximo el ángulo sólido de recolección. No se requiere rejilla de polarización debido a las altas energías de los electrones retrodispersados. Los detectores semiconductores se utilizan también ampliamente en el caso de los electrones retrodispersados. Cuando un electrón de alta energía alcanza el detector, se producen pares hueco-electrón que dan lugar a una corriente fotoeléctrica. Un detector semiconductor es tan pequeño que se puede colocar junto a la muestra, lo que permite conseguir una elevada eficacia de recolección. La principal desventaja en comparación con los centelleadores es el tiempo de respuesta relativamente bajo.

El análisis de rayos X en la mayor parte de los microscopios electrónicos de barrido se efectúa en el analizador dispersivo de energía que está equipado con un detector semiconductor, como el detector de *silicio dopado con litio*, Si(Li), o el detector de *germanio dopado con litio*, Ge(Li), los cuales se estudiaron en la sección 12B.4. Los sistemas dispersivos de longitud de onda también se han utilizado en los análisis de las sondas de electrones.

Organización y proceso de datos. Estas tareas dependen de si el microscopio electrónico de barrido es analógico o es un instrumento digital más reciente. En el caso de un microscopio analógico se usan dos monitores de imágenes. En el primero, el operador ve la imagen barrida para identificar las características de interés y para enfocar y mejorar el sistema. La inspección se lleva a cabo a velocidades de barrido de 50 cuadros por segundo de modo que la imagen aparece como en un televisor. El segundo monitor es un tubo de rayos catódicos de alta resolución para registro fotográfico. La velocidad de barrido es casi siempre lenta para obtener una imagen de alta calidad. Un cuadro podría requerir de 50 a 100 s. Por tanto, los requisitos para ver la imagen y obtener un registro fotográfico a menudo causan conflictos.

En el caso de los microscopios electrónicos de barrido, el haz permanece en cada punto de la muestra durante un lapso predeterminado en lugar de hacer el barrido de trama del sistema analógico. La imagen se construye entonces registrando cada pixel sobre un *elemento de memoria de trama*.²⁵ La imagen de la me-

²⁵ Algunas cámaras con dispositivo de acoplamiento de carga están subdivididas en dos zonas, a saber, una para capturar la imagen y la otra para almacenar cuadros de la imagen. La región de la memoria de trama está protegida contra fotones y sólo almacena información transferida desde la región de la imagen. Además, los dispositivos de almacenamiento separados se pueden usar como sistemas de memoria de trama.

moria de trama es persistente en comparación con la imagen del tubo de rayos catódicos. De aquí que el operador la pueda ver sin usar velocidades de barrido de televisión. Con un sistema de memoria de trama es posible emplear un *promedio de trama* en el cual la información proveniente de barridos sucesivos se promedia para cada pixel. Se obtiene un registro permanente de la imagen si se guarda el contenido de la memoria de trama como una imagen en mapa de bits. Las imágenes se pueden trabajar en una variedad de maneras para proporcionar intensificación del contraste, inversión, mezcla, sustracción y codificación del color.

Microscopía electrónica de barrido ambiental

La técnica ordinaria trabaja a un vacío de 10^{-6} torr o menos. Las muestras tienen que estar limpias, secas y ser conductoras de electricidad. Las muestras constituidas por componentes volátiles tienen que pasar por un tratamiento previo. A mediados de los años ochenta se perfeccionó la llamada microscopía electrónica de barrido *ambiental*. Esta técnica conserva un alto vacío en el cañón de electrones y en la columna del microscopio, pero permite que la muestra se coloque en una región de presión más alta (1 a 50 torr). El ambiente de la muestra puede variar si se modifica la presión, la temperatura y la composición del gas. En esta técnica hay tres cámaras: el cañón, la columna del microscopio y la cámara para la muestra. Las regiones están separadas por pequeñas aberturas. Cada una de las regiones tiene su propio sistema de bombeo.

Tanto los electrones secundarios como los retrodispersados pueden ser detectados con microscopía electrónica de barrido ambiental. El detector Everhart-Thornley que se muestra en la figura 21.22 no se puede usar porque el alto voltaje de polarización del centelleador ocasionaría una falla eléctrica a altas presiones. Por eso es mejor utilizar detectores de electrones secundarios de fase gaseosa, los cuales recurren a la amplificación en cascada. Éstos no sólo intensifican la señal de los electrones secundarios, sino que también producen iones positivos, los cuales son atraídos a la superficie de la muestra aislada e inhiben los artefactos de carga. Se pueden utilizar detectores de centelleo de grandes áreas para detectar electrones retrodispersados como en los sistemas ordinarios de microscopía electrónica de barrido.

La microscopía electrónica de barrido ambiental facilita la inspección de muestras en su estado natural sin las amplias modificaciones o preparaciones que requiere la microscopía electrónica de barrido ordinaria. Se pueden examinar muestras húmedas, sucias y no conductoras. No se necesitan los revestimientos conductores que ocultan información valiosa. La cámara ambiental para la muestra se vuelve una herramienta adicional que facilita las interacciones entre la muestra

y el ambiente que se desea estudiar mediante microscopía electrónica.²⁶

La única desventaja de los sistemas de microscopía electrónica de barrido ambiental comparados con los instrumentos de microscopía electrónica de barrido es una pequeña pérdida de resolución por las colisiones elásticas entre los electrones y las moléculas del gas a presiones más altas. No obstante, estos choques ayudan a disipar cualquier carga eléctrica que se haya acumulado, lo cual ayuda en el examen de muestras no conductoras.

Aplicaciones

La microscopía electrónica de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre una gran diversidad de superficies de sólidos. Varios ejemplos representativos se pueden ver en la figura 21.23, en la que se ilustra la clase de información que se obtiene mediante esta técnica.

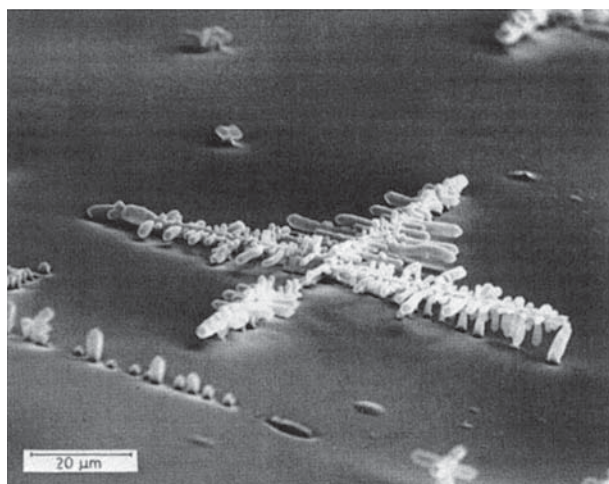
21G MICROSCOPIOS DE SONDA DE BARRIDO

Los microscopios de sonda de barrido, (SPM, por sus siglas en inglés) son capaces de distinguir detalles relativos a las superficies en el ámbito atómico. El primer ejemplo de este tipo, el microscopio de barrido por efecto túnel fue descrito en 1982. Apenas cuatro años más tarde, en 1986, sus inventores, G. Binnig y H. Rohrer fueron galardonados con el Premio Nobel de Física por este trabajo. En la actualidad, el uso principal de los microscopios de sonda de barrido es la determinación de las características topográficas de las superficies de las muestras.

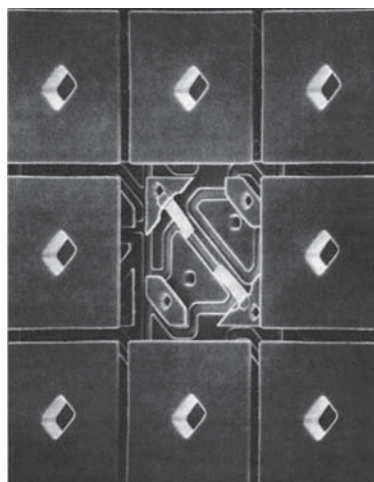
A diferencia de los microscopios ópticos y de electrones, los microscopios de sonda de barrido muestran detalles no sólo de los ejes x y y laterales de una muestra, sino también del eje z que es el perpendicular a la superficie. La resolución característica de los SPM es de alrededor de 2 nm (20 Å) en las direcciones x y y pero con muestras ideales y con los mejores instrumentos se logran resoluciones hasta de 0.1 nm (1 Å). En la dimensión z la resolución es generalmente mejor que 0.1 nm. En comparación, la resolución de un microscopio electrónico representativo es de alrededor de 5 nm.

En esta sección se analizan dos tipos de microscopios de sonda de barrido que son los que más se usan y que comercializan varias empresas, a saber, el *microscopio de efecto túnel* (STM) y el *microscopio de fuerza atómica* (AFM). Ambos se fundamentan en el barrido de la superficie de la muestra en un patrón de exploración xy con una punta muy aguda que se desplaza hacia arriba y hacia abajo a lo largo del eje z siguiendo los cambios de las características topográficas de la superficie. Una computadora mide y traduce el movimiento

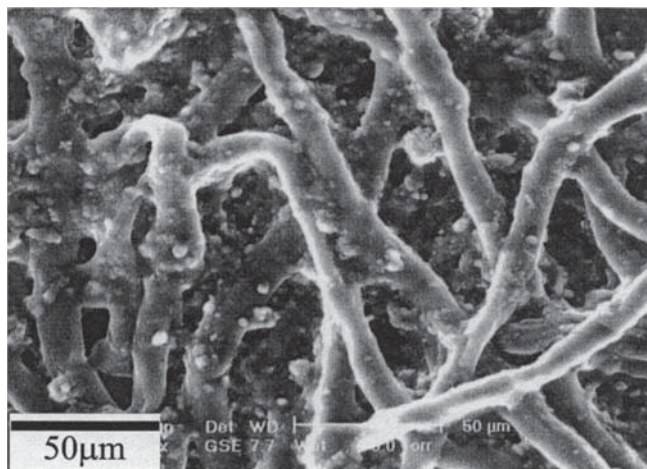
²⁶ En R. Mukhopadhyay, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 293A se encuentra un análisis sobre las cámaras para muestra en la microscopía electrónica de barrido para el caso de muestras húmedas.



a)



b)



c)

FIGURA 21.23 Ejemplos representativos de microfotografías obtenidas con un microscopio de sonda de barrido.

a) Superficie de una aleación de níquel. Observe las partículas de dendritas de sílice sobre la superficie. (Tomado de P. J. Goodhew, J. Humphreys y R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*, 3a. ed., Londres: Taylor and Francis, 2001, p. 123.) b) Un arreglo de nueve microespejos que se usó para perfeccionar un espectrómetro digital de microespejos para espectroscopía atómica. Los espejos miden $16 \times 16 \mu\text{m}$ en centros de $17 \mu\text{m}$. Al quitar el espejo del centro se ven los componentes que están debajo. (Tomado de J. D. Batchelor y B. T. Jones, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 4907. Copyright 1998 American Chemical Society.) c) Un lecho de algas tomado cuando estaba totalmente húmedo con un instrumento para microscopía electrónica de barrido ambiental equipado con un detector de electrones secundarios en fase gaseosa y amplificación en cascada. No se requirió preparación de la muestra. (Tomado de P. J. Goodhew, J. Humphreys y R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*, 3a. ed., Londres: Taylor and Francis, 2001, p. 167.)

en una imagen de las características de la superficie. A menudo esta imagen muestra detalles a una escala de tamaño atómico.²⁷ Un tercer tipo de microscopio de sonda de barrido, el *microscopio de barrido electroquí-*

mico, se trata en el capítulo 25 en el tema de electroquímica.

21G.1 Microscopio de barrido de efecto túnel

El microscopio Binnig-Rohrer por el cual los inventores recibieron el Premio Nobel era de efecto túnel. Este dispositivo fue capaz de distinguir las características, a escala atómica, de la superficie de un sólido conductor.²⁸ En la actualidad, estos instrumentos se

²⁷ Para referencias sobre las técnicas de sonda de barrido véase K. S. Birdi, *Scanning Probe Microscopes: Applications in Science and Technology*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2003; *Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy*, D. Bonnell, ed., Nueva York: Wiley-VCH, 2001; G. J. Leggett en *Surface Analysis — The Principal Techniques*, J. C. Vickerman, ed., Chichester, UK: Wiley, 1997, cap. 9; R. Weisendanger, *Scanning Probe Microanalysis and Spectroscopy*, Nueva York: Cambridge University Press, 1994.

²⁸ G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber y E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.*, **1982**, 49, p. 57.

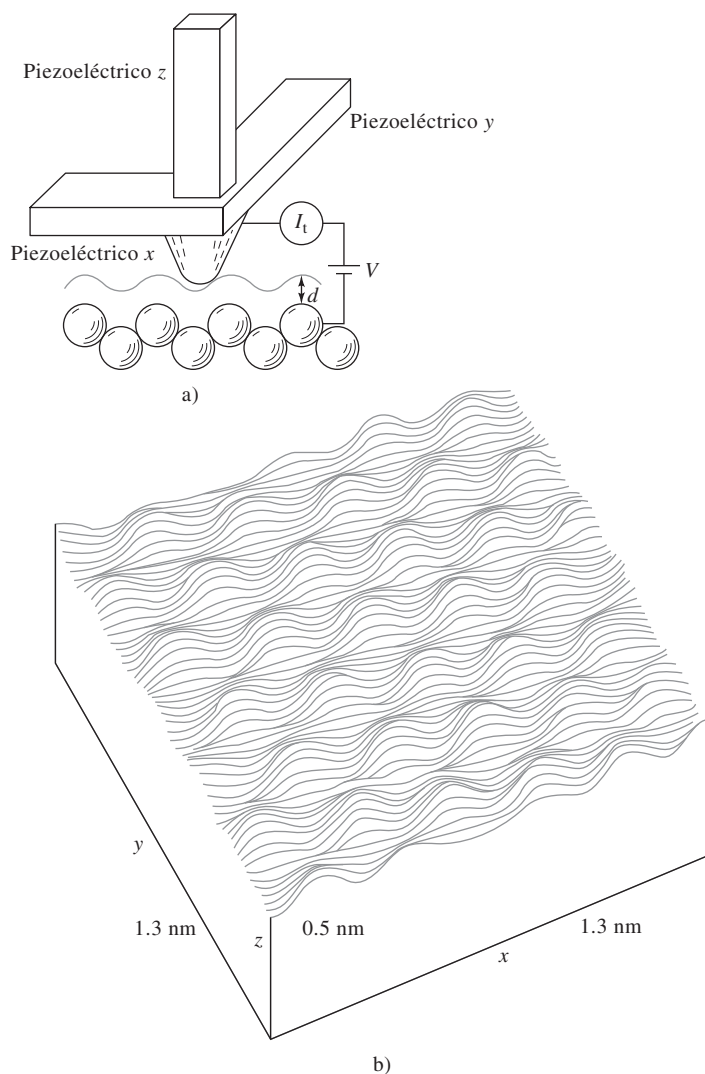


FIGURA 21.24 a) Vista esquemática de la punta del microscopio de efecto túnel al explorar una muestra en la dirección x . La línea ondulada gris representa la trayectoria de la punta sobre los átomos de carbono que aparecen representados como círculos regulares. b) Mapa de curvas de nivel de la superficie de la muestra. (Tomado de P. K. Hansma *et al.*, *Science*, **1988**, 242, p. 209. Con autorización.)

pueden adquirir con distintos fabricantes de instrumentos y se emplean en forma rutinaria en cientos de laboratorios esparcidos por todo el mundo. Su principal desventaja es el requisito de que la superficie objeto de estudio debe conducir electricidad. El microscopio de fuerza atómica que se trata en la siguiente sección no presenta esta limitación.

Principio de la microscopía de efecto túnel

En la microscopía de efecto túnel, STM, la superficie de la muestra se barre en un patrón o modelo de exploración mediante una punta metálica muy fina. Esta técnica se basa en el principio de efecto túnel de la mecánica cuántica, que se presenta cuando un pequeño voltaje de polarización (mV a 3 V) se aplica entre una punta aguda y una muestra conductora, mientras la punta está a unos pocos nanómetros de la superfi-

cie. La magnitud de la corriente de túnel I_t se expresa mediante

$$I_t = Ve^{-Cd} \quad (21.11)$$

donde V es el potencial de polarización, C es una constante y d es la distancia entre la sonda y la superficie. La microscopía de efecto túnel se ilustra en la figura 21.24a. Esta técnica puede trabajar en dos modos. En el *modo de altura constante*, la posición de la punta se mantiene constante en la dirección z mientras se controla la corriente de túnel I_t . En el *modo de corriente constante*, la corriente de túnel I_t se mantiene constante mientras cambia la posición z de la punta para conservar d constante, como se muestra en la figura 21.24a. En este caso, se controla la posición z de la punta. Los microscopios más modernos de barrido de efecto túnel trabajan en el modo de corriente constante. El movimiento hacia arriba y hacia abajo de la punta refleja entonces las características topográficas de la superficie. Las esferas de la figura representan los átomos de car-



Simulación: aprenda más acerca de las **técnicas de sonda de barrido**.

bono de una muestra de grafito pirolítico. Para mayor claridad, la punta se muestra como un cono con la punta redondeada y la trayectoria de la punta durante el barrido por la dirección x se muestra mediante la línea ondulada gris.

La ecuación 21.11 revela que la corriente de túnel disminuye en forma exponencial en función de la separación entre la punta y la muestra. Esta disminución rápida de la corriente en función de la distancia causa que la corriente de túnel sea significativa sólo para separaciones pequeñísimas entre la punta y la muestra, y es la razón de la alta resolución alcanzada en la dirección z .

Exploradores para la muestra

En los primeros microscopios de barrido de efecto túnel el movimiento tridimensional de la punta era controlado por tres transductores piezoeléctricos dispuestos en forma ortogonal tal y como se muestra en la figura 21.24a.²⁹ La longitud de cada uno de los transductores piezoeléctricos puede variar mediante la aplicación de un potencial de corriente continua a lo largo de toda su longitud, por lo que es posible que la punta se desplace en las tres dimensiones (véase en la sección 1C.4 un análisis de la composición y propiedades de los transductores piezoeléctricos). El grado de contracción o expansión puede llegar a ser de sólo 1 nm por cada voltio aplicado, lo cual depende de la composición del material cerámico piezoeléctrico y de las dimensiones del transductor, y proporciona una manera notablemente sensible de controlar la posición de la punta.

Los microscopios de barrido modernos ya no utilizan el diseño de trípode que se muestra en la figura 21.24a, y se basan ahora en un dispositivo piezoeléctrico que tiene forma de tubo hueco como el que se muestra en la figura 21.25. La superficie exterior del tubo, que mide entre 12 y 24 mm de longitud y entre 6 y 12 mm de diámetro, está revestida con una fina capa de metal. Esta capa conductora se divide a su vez en cuatro segmentos iguales separados por unas bandas verticales que no están revestidas con metal. La aplicación de voltajes a tiras opuestas de metal produce la flexión del tubo en las direcciones x y y tal y como se indica. Igualmente, la aplicación de un voltaje a lo largo del eje interior del cilindro alarga o acorta el tubo en la dirección z . Por tanto, se puede mover una punta situada en el centro de uno de los extremos del cilindro en las tres dimensiones aplicando potenciales adecuados.

En general, los microscopios de barrido emplean rastreadores con intervalos de barrido lateral que van desde unos nanómetros a más de 100 μm . Las diferen-

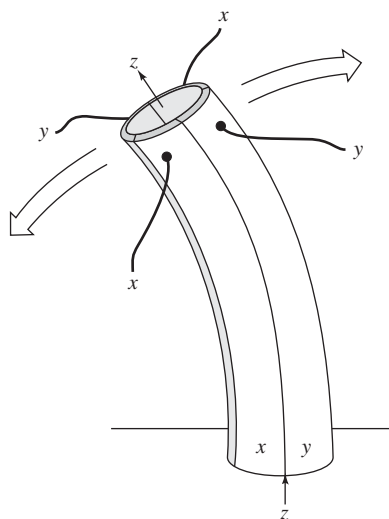


FIGURA 21.25 Rastreador piezoeléctrico de diseño de tubo segmentado.

cias de altura se encuentran en el intervalo de menos de 0.1 nm a quizá 10 μm . El tamaño máximo de barrido está determinado por la longitud, el diámetro y el espesor de la pared del cilindro, así como por el coeficiente de deformación del material cerámico con el cual está fabricado.

Interfase de la computadora

El control por computadora es una parte esencial de todos los microscopios de barrido de efecto túnel. La mayoría de los instrumentos comercializados utiliza un programa para computadora y convertidores analógico-digital para producir el barrido de trama xy . La computadora trabaja con los potenciales aplicados a los elementos piezoeléctricos x , y y z y los transforma en mapas de curvas de nivel tal y como el que se muestra en la figura 21.24b. En el caso de los instrumentos más complejos, las imágenes pueden tomar la forma de imágenes con tonalidades de gris o mapas de elevación pseudocoloreados.

La línea ondulada gris de la figura 21.24a muestra el recorrido de la punta cuando explora la dirección x sobre la superficie de una muestra de grafito pirolítico altamente orientado. Después de que se completa el barrido en la dirección x la punta vuelve a la posición original y luego se baja una línea para aplicar un potencial apropiado al transductor piezoeléctrico y . Este proceso se repite hasta que se obtiene una gráfica de la muestra como la de la figura 21.24b. En este caso, una serie de curvas de nivel muestran claramente la posición de la nube electrónica de cada átomo de carbono en la superficie de la muestra.

Debido a que la señal de salida del detector es tan sensible a la distancia entre la muestra y la punta, las diferencias en las distancias a lo largo de cierta curva de nivel en la figura se ponen de manifiesto en 1/100 de

²⁹Para una descripción de los rastreadores para la muestra, véase R. S. Howland en *Atomic Force/Scanning Tunneling Microscopy*, S. H. Cohen, M. T. Bray y M. L. Lightbody, eds., pp. 347-358, Nueva York: Plenum Press, 1994; S. Park y R. C. Barrett en *Scanning Tunneling Microscopy*, J. A. Stroscio y W. J. Kaiser, eds., pp. 51-58, Nueva York: Academic Press, 1993.

una dimensión atómica dada. La resolución lateral en una curva de nivel depende del radio de curvatura de la punta. Si este radio es el de un único átomo, como normalmente ocurre, se obtiene resolución atómica.

Puntas

Las puntas son un componente decisivo del microscopio de efecto túnel. Las mejores imágenes se obtienen cuando el efecto túnel está limitado a un único átomo metálico situado en el extremo de la punta. Por fortuna, con un poco de cuidado, es posible construir estas puntas cortando hilos de platino/iridio, o bien, por ataque electroquímico de un hilo de tungsteno. La razón por la que una punta con un único átomo en su extremo no es tan difícil de preparar como podría esperarse se debe al incremento exponencial de la corriente de túnel a medida que disminuye la distancia entre la punta y la muestra (ecuación 21.11). Por consiguiente, la corriente de túnel se incrementa por un factor de 10 cuando la distancia punta-muestra disminuye 0.1 nm (1 Å). Es decir, si hay un átomo en el extremo de la punta que esté más próximo a la superficie de la muestra por 0.1 nm más que cualquier otro, casi toda la corriente circulará a través de él hacia la muestra y se obtendrá una resolución atómica.

21G.2 El microscopio de fuerza atómica

El microscopio de fuerza atómica, que fue inventado en 1986,³⁰ facilita la resolución de átomos individuales tanto de superficies conductoras como *aislantes*. En este instrumento, un estilite con un elemento en voladizo, flexible y sensible a la fuerza, barre la superficie de la muestra de acuerdo con un patrón. La fuerza que actúa entre el voladizo y la superficie de la muestra causa diminutas desviaciones en aquél, que se detectan mediante un sistema óptico. Como en el microscopio de efecto túnel, el movimiento de la punta, o a veces de la muestra, se logra mediante un tubo piezoeléctrico. Durante un barrido se mantiene constante la fuerza sobre la punta en el movimiento hacia arriba y hacia abajo de la misma, que entonces proporciona la información topográfica. La ventaja del microscopio de fuerza atómica es que también funciona en muestras no conductoras.³¹

La figura 21.26 muestra en forma gráfica el método más común para detectar la desviación del elemento en voladizo que sujeta la punta. Un rayo láser es reflejado por dicho elemento hacia un fotodiodo segmen-

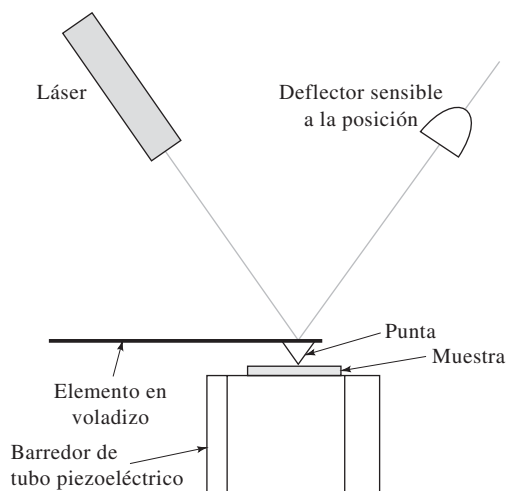


FIGURA 21.26 Vista lateral de un detector óptico de la deflexión del haz. Por lo regular, se pueden detectar deflexiones de 0.1 nm o menos cuando la punta barre la superficie de la muestra.

tado que detecta el movimiento de la sonda. La lectura de salida del fotodiodo controla entonces la fuerza que se aplica en la punta de tal manera que ésta permanezca constante. En otras palabras, el sistema de control óptico es análogo al sistema de control de la corriente de túnel en el microscopio de efecto túnel.

La figura 21.27 muestra el diseño típico de un microscopio de fuerza atómica.³² El sistema de movimiento es un dispositivo tubular piezoeléctrico que desplaza la muestra en las direcciones *x*, *y* y *z* bajo la punta. La

³² Una revisión de los instrumentos de la microscopía de fuerza atómica se encuentra en C. M. Harris, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 627A; A. Newman, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, p. 267A.

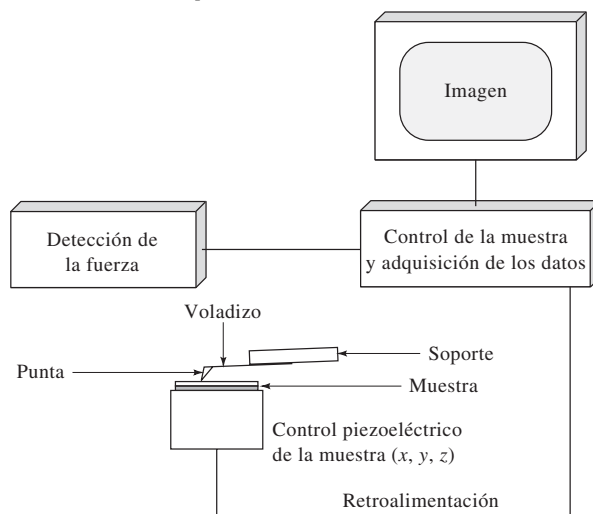


FIGURA 21.27 Diseño característico de un microscopio de fuerza atómica. (Tomado de D. R. Louder y B. A. Parkinson, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 298A. Con autorización.)

³⁰ G. Binnig, C. F. Quate y C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.*, **1986**, 56, p. 930.

³¹ En relación con libros que tratan la microscopía de fuerza atómica, véase la nota 27. Para consultar revisiones sobre el mismo tema véase F. J. Giessibl, *Rev. Mod. Phys.*, **2003**, 75, p. 949; H. Takano, J. R. Kenseth, S. Wong, J. C. O'Brien y M. D. Porter, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, p. 2845; D. R. Louder y B. A. Parkinson, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 297A. Para aplicaciones biológicas véase *Atomic Force Microscopy: Biomedical Methods and Applications*, P. C. Braga, D. Ricci, eds., Totowa, NJ: Humana Press, 2004.

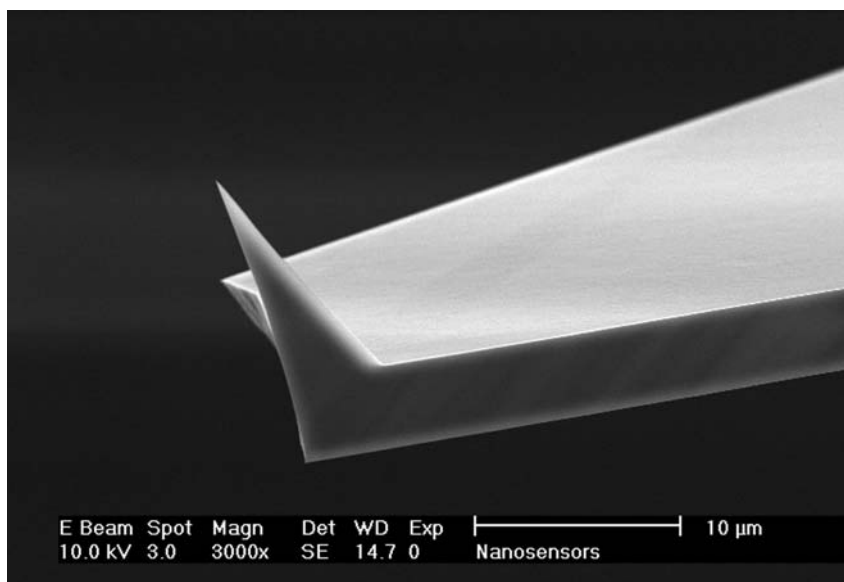


FIGURA 21.28 Microfotografía de un voladizo de silicio micromaquinado que contiene la punta. (Cortesía de NanoWorld AG, Neuchatel, Switzerland.)

señal proveniente del detector de rayo láser se retroalimenta entonces del transductor piezoeléctrico que está en contacto con la muestra, lo cual causa el movimiento de la muestra hacia arriba y hacia abajo para mantener constante la fuerza entre la punta y la muestra.

La punta y el voladizo

El rendimiento del microscopio de fuerza atómica depende definitivamente de las características físicas de la punta y del voladizo. En los primeros microscopios de este tipo, los voladizos se cortaban de láminas muy finas de metal y las puntas se fabricaban a partir de partículas de diamante pulverizado. Las puntas se pegaban en forma manual a los voladizos. Hoy en día este método rudimentario se ha reemplazado por los métodos de producción en masas de semiconductores, en los que los conjuntos punta-voladizo se obtienen por ataque químico a obleas de silicio, de óxido de silicio o de nitruro de silicio. Los conjuntos voladizo-punta más comunes que se utilizan en la actualidad se micromaquinan en piezas monolíticas de silicio como se muestra en la figura 21.28. Como se puede ver, las puntas y el voladizo son diminutos (lo ideal es que haya un solo átomo en la punta).

Modos de la microscopía de fuerza atómica

Los métodos más usados de los microscopios de fuerza atómica son tres: *modo de contacto*, *modo sin contacto* y *método de contacto intermitente*. El modo de contacto es el más común. En este caso, la punta mantiene un contacto constante con la superficie de la muestra.

La mayor parte de las mediciones con la microscopía de fuerza atómica se efectúa en condiciones de presión ambiente o en líquidos, y las fuerzas de tensión superficial que ejercen los gases adsorbidos o la capa líquida podrían jalar la punta hacia abajo. Estas fuerzas, a pesar de que son muy pequeñas, son lo suficientemente grandes como para dañar la superficie de la muestra y distorsionar la imagen. Este problema es en particular molesto con algunos materiales más suaves, como las muestras biológicas, polímeros e incluso con algunos materiales aparentemente más duros como las obleas de silicio. Además, muchas muestras pueden atrapar cargas electrostáticas, las cuales pueden incrementar la fuerza de atracción entre la sonda y la muestra. Esto tiene la capacidad de ocasionar fuerzas de fricción adicionales a medida que la punta se desplaza sobre la muestra, lo cual achata la punta y daña la muestra.

El problema del daño superficial se puede evitar en gran medida mediante un proceso en el que la punta está en contacto periódico con la superficie sólo en periodos cortos para luego retirarse de la superficie. En la modalidad de funcionamiento por contacto intermitente, el elemento que sostiene la punta oscila a una frecuencia de unos cientos de kilohertz. La oscilación se origina por una fuerza externa constante y su amplitud se mide en forma continua. El voladizo se sitúa de tal modo que la punta toca la superficie sólo en el mínimo de cada ciclo de oscilación. Esta técnica se ha utilizado con éxito para observar una gran variedad de materiales, de los cuales ha sido muy difícil o imposi-

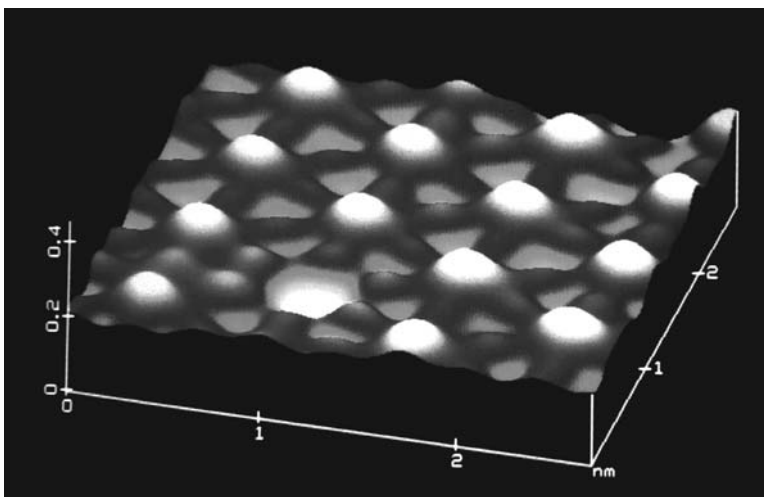


FIGURA 21.29 Barrido por microscopía de efecto túnel de átomos de yodo, en una configuración de $3\text{ nm} \times 3\text{ nm}$ adsorbidos en platino. Observe la pérdida de un átomo de yodo en el centro de la parte baja de la imagen. (Imagen proporcionada por Veeco Instruments.)

ble obtener imágenes en la modalidad común de contacto constante.

La modalidad menos común de operación es el modo sin contacto, en el cual la punta está suspendida a unos cuantos nanómetros por encima de la superficie de la muestra. Las fuerzas de atracción de van der Waals entre la punta y la muestra se detectan a medida que la punta explora la superficie. Dichas fuerzas son sustancialmente más débiles que las detectadas en la modalidad con contacto de los microscopios de fuerza atómica. Por esta razón la punta se hace oscilar y se usan las técnicas de detección de ca para recuperar las pequeñas señales.

Microscopios de sonda de barrido multimodales

Muchos de los microscopios comerciales de sonda de barrido son capaces de operar en varios modos. Se pueden utilizar como microscopios de fuerza atómica en las modalidades con contacto, contacto intermitente y sin contacto, y también como microscopios de barrido de efecto túnel. Otros modos de operación, como las modalidades de fuerza lateral, de torsión y de fuerza magnética también pueden ser posibles, pero dependen del fabricante y del modelo.

Algunas de las aplicaciones características de los microscopios de sonda de barrido

Estos microscopios han permitido que científicos e ingenieros observen las estructuras de superficies con una resolución sin precedentes. Por tanto, estos instrumentos han hallado un amplio uso en diversos campos. Por ejemplo, en el campo de los semiconductores se utilizan para caracterizar las superficies de silicio y encontrar los defectos de las mismas, así como para obte-

ner imágenes de dominios magnéticos en los materiales magnéticos; en biotecnología han logrado imágenes de materiales como ADN, cromatina, interacciones proteína-enzima, virus de membrana, etc. Una de las ventajas de la microscopía de fuerza atómica es que permite obtener imágenes bajo el agua de muestras biológicas en condiciones en las que es menor la distorsión de la imagen. En el caso de muestras más blandas, la distorsión, a menudo, es consecuencia de las microgotas de agua que se forman en la interfase superficie-punta. Las fuerzas capilares de estas gotas superan las fuerzas normales entre la muestra y la punta, y ocultan los detalles superficiales. Si la muestra está en un medio acuoso, el agua está por encima de la punta y por debajo, y se anulan las fuerzas capilares en dirección hacia arriba y hacia abajo.

Un ejemplo interesante del potencial de las mediciones con microscopía de efecto túnel se muestra en la figura 21.29. La imagen corresponde a la superficie de una muestra de átomos de yodo adsorbidos sobre platino. La red hexagonal de los átomos de yodo adsorbidos se interrumpe debido a un defecto donde falta un átomo, que aparece como un hueco en el centro de la parte baja de la imagen. El barrido que se muestra representa un área de la superficie del platino de $3\text{ nm} \times 3\text{ nm}$. Este ejemplo demuestra claramente cómo la microscopía de efecto túnel puede emplearse para revelar la estructura de superficies de sólidos a escala atómica.

La figura 21.30 es una imagen de dos moléculas entrelazadas de ADN sobre una superficie de mica obtenida mediante microscopía de fuerza atómica en la modalidad de contacto intermitente. Dichas mediciones permiten a los bioquímicos estudiar la estructura del ADN y otras biomoléculas con relativa facilidad.

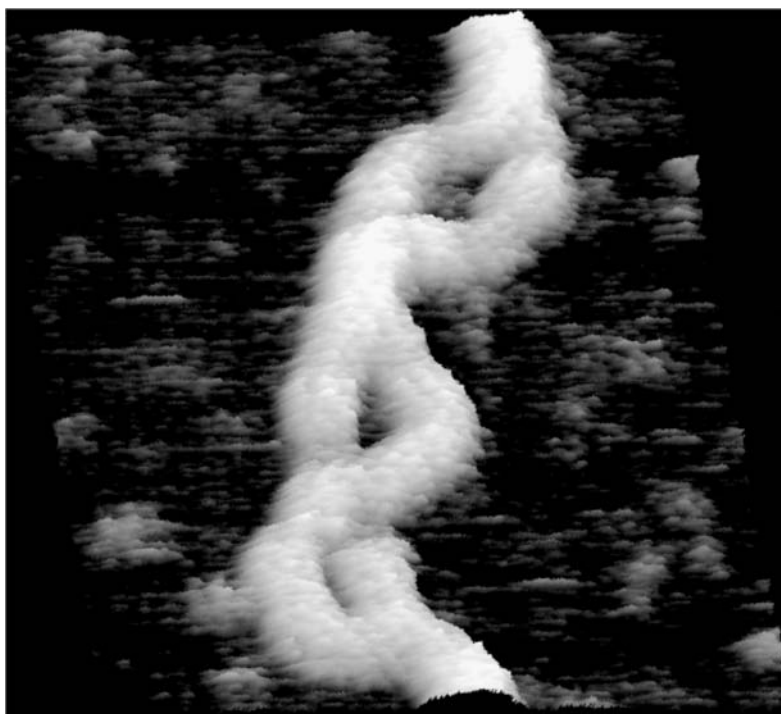
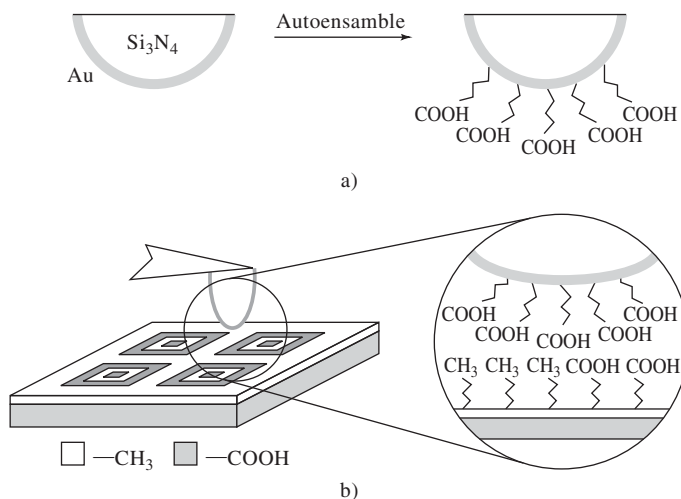


FIGURA 21.30 Imagen de las moléculas de doble hélice del ADN soportadas sobre mica, lo que demuestra la capacidad de la microscopía de fuerza atómica para distinguir moléculas que están traslapadas. (Cortesía de W. B. Stine, University of California, San Diego. Con autorización.)

En los años recientes ha sido posible modificar químicamente sondas para aumentar la selectividad y la aplicación a los problemas químicos. En la figura 21.31 se ilustra una fascinante aplicación de la microscopía de fuerza atómica. En este experimento, una punta de Si_3N_4 cubierta con oro se sumerge durante un tiempo en una solución que contiene un compuesto organoa-

zufrado como el ácido 11-tioundecanoico. El resultado es que los extremos de las moléculas de ácido opuestos al grupo del ácido carboxílico establecen enlaces covalentes con la punta de la sonda, de tal forma que la punta está eficazmente cubierta con grupos de ácido carboxílico, como se muestra en la figura 21.31a. Cuando la punta de la sonda barre una superficie que

FIGURA 21.31 Detección de grupos funcionales por microscopía de fuerza atómica. a) Los grupos de ácido carboxílico están enlazados químicamente al revestimiento de oro de la punta del microscopio de fuerza atómica. b) Vistas esquemáticas del experimento. (Recuadro amplificado) interacción entre la punta de oro cubierta con los grupos —COOH y la muestra cubierta con grupos —CH_3 y —COOH . Adaptación de C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton y C. M. Lieber, *Science*, **1994**, 265, p. 2072. Con autorización.)



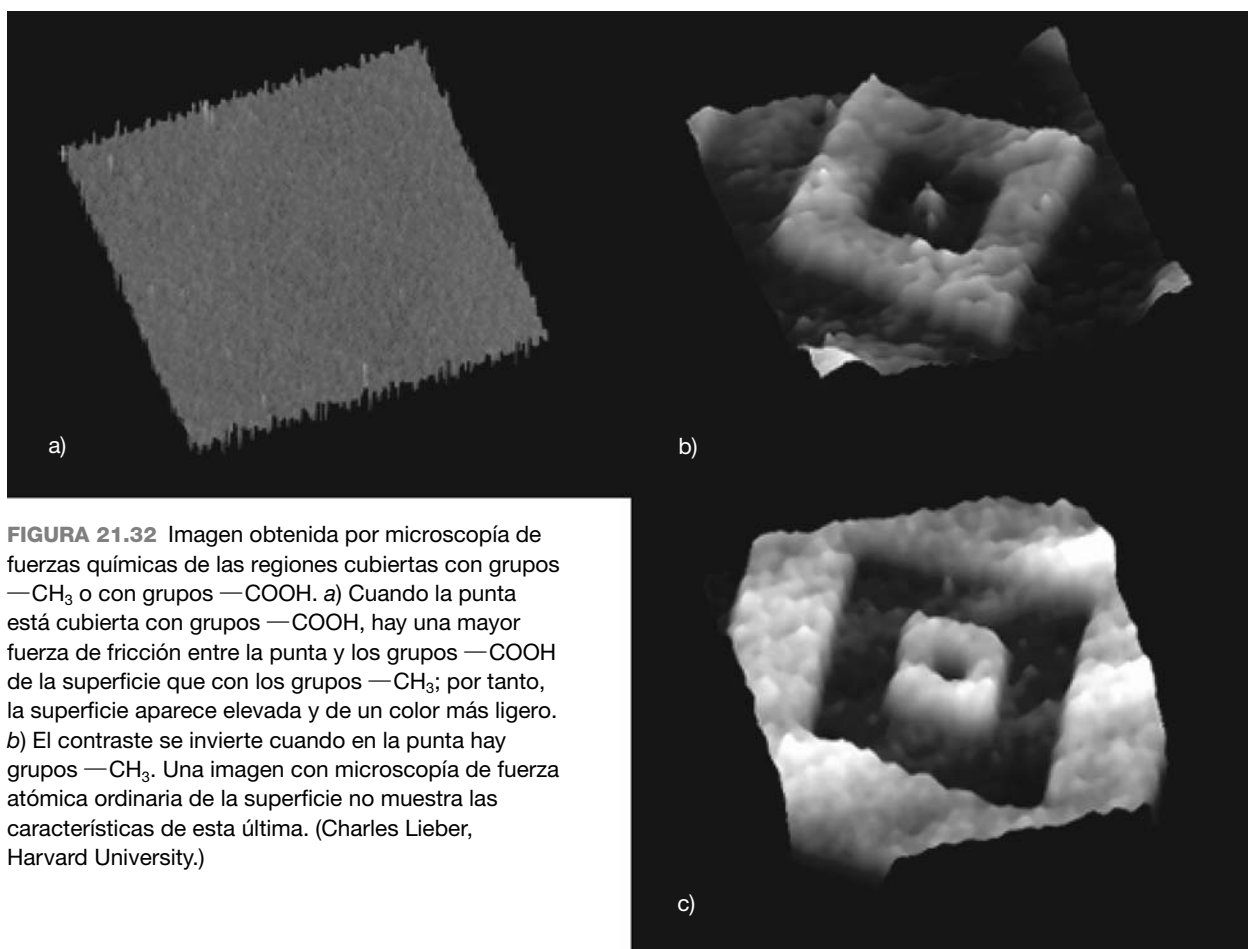


FIGURA 21.32 Imagen obtenida por microscopía de fuerzas químicas de las regiones cubiertas con grupos —CH_3 o con grupos —COOH . a) Cuando la punta está cubierta con grupos —COOH , hay una mayor fuerza de fricción entre la punta y los grupos —COOH de la superficie que con los grupos —CH_3 ; por tanto, la superficie aparece elevada y de un color más ligero. b) El contraste se invierte cuando en la punta hay grupos —CH_3 . Una imagen con microscopía de fuerza atómica ordinaria de la superficie no muestra las características de esta última. (Charles Lieber, Harvard University.)

tiene enlazados varios grupos funcionales orgánicos, como se muestra en la figura 21.31b, las diferencias en las fuerzas de fricción entre los grupos de ácido en la punta y los otros grupos funcionales situados en la superficie de la muestra dan como resultado una imagen que es un mapa de las posiciones de los grupos funcionales en la superficie. Esta técnica se denomina *microscopía de fuerzas químicas* (figura 21.32). Estudios como los mencionados ponen de manifiesto que la microscopía de sonda de barrido proporciona información analítica, cualitativa y específica, así como dis-

cernimiento acerca de la disposición espacial de los analitos sobre las superficies. Por esta razón, la microscopía de fuerza atómica y sus diversas modificaciones, sin olvidar el diseño invertido en el que la muestra se coloca en el extremo del voladizo, han sido propuestas como instrumentos de análisis general para resolver una variedad de problemas.³³

³³ J. B. D. Green, *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 496, p. 267.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 21.1** Describa el mecanismo de producción de un electrón Auger MNN.
- 21.2** Describa cómo es posible distinguir entre picos de XPS y picos de electrones Auger.
- 21.3** Explique por qué la información a partir de un desplazamiento químico de XPS debe estar contenida también en un borde de absorción de rayos X.
- *21.4** Se determinó que un electrón de XPS tenía una energía cinética de 1073.5 eV cuando se empleaba una fuente $K\alpha$ del Mg ($\lambda = 0.98900$ nm). El espectrómetro de electrones tenía una función de trabajo de 14.7 eV.
- Calcule la energía de enlace del electrón emitido.
 - Si la señal fuese de un electrón del azufre S(2s) ¿cuál sería el analito S^{2-} , S^0 , SO_3^{2-} o SO_4^{2-} ?
 - ¿Cuál hubiera sido la energía cinética si se hubiera utilizado como fuente $K\alpha$ del Al ($\lambda = 0.83393$ nm)?
 - Si el electrón expulsado con la fuente $K\alpha$ del Mg fuera un electrón Auger, ¿cuál sería la energía cinética del electrón expulsado si la fuente hubiera sido $K\alpha$ del Al?
- *21.5** Se determinó que un electrón de XPS tenía una energía cinética de 1052.6 eV cuando fue expulsado empleando la fuente $K\alpha$ de Al ($\lambda = 0.83393$ nm) y medido en un espectrómetro con una función de trabajo de 27.8 eV. Se supone que es un electrón N(1s) en $NaNO_3$.
- ¿Cuál era la energía de enlace del electrón?
 - ¿Cuál sería la energía cinética del electrón si se utilizara como fuente $K\alpha$ del Mg ($\lambda = 0.98900$ nm)?
 - ¿Cómo se puede estar seguro de que es un pico de XPS y no un pico de un electrón Auger?
 - ¿A qué energía de enlace y energía cinética se podría esperar un pico para el $NaNO_2$ si se utilizara la fuente $K\alpha$ del Al con el mismo espectrómetro?
- 21.6** Compare la EELS con la espectroscopía infrarroja ordinaria y la espectroscopía Raman. Enfóquese en qué se utiliza para provocar y detectar vibraciones. ¿Cuáles son las ventajas y las limitaciones de la EELS?
- 21.7** Compare la ISS con la RBS. En ambos casos dibuje unos diagramas de la preparación del equipo. Describa cualquier diferencia en la información que se obtiene mediante estas dos técnicas.
- 21.8** ¿Cuál es la diferencia entre SIMS estática y SIMS dinámica? ¿Cuál es la diferencia entre la información que se obtiene a partir de la SIMS estática y la SIMS dinámica? ¿Qué es la obtención de imágenes mediante SIMS? ¿Qué tipo de información se obtiene por medio de las imágenes logradas con la SIMS?
- 21.9** ¿Cuáles son las principales ventajas de las técnicas de fotones para superficies cuando se comparan con los métodos espectroscópicos de electrones y de iones? ¿Cuáles son las principales desventajas?

- 21.10** ¿Qué es una interfase enterrada y qué técnicas hay para estudiar los fenómenos entre fases enterrados?
- 21.11** Mencione tres fuentes posibles de señales con la microscopía electrónica de barrido. Enumere las diferencias entre dispersión de electrones elástica e inelástica.
- 21.12** Mencione dos de los tipos más comunes de microscopios de sonda de barrido.
- ¿Cuáles son sus diferencias?
 - ¿Cuáles son las ventajas de cada uno?
 - ¿Cuáles son las principales limitaciones de cada uno?
- 21.13** Si la corriente de túnel es 10.0 pA cuando una sonda para microscopía de efecto túnel está a 0.40 de la superficie y 18.0 pA cuando la sonda está a 0.50 nm de la superficie, calcule la corriente al mover la punta en etapas de 0.10 nm, desde 0.40 nm hasta 1.50 nm.

Problema de reto

- 21.14** La espectrometría fotoelectrónica de rayos X cuantitativa se volvió popular en años recientes. Los factores que relacionan la intensidad de la emisión con la concentración atómica (densidad) los proporciona la ecuación 21.3.
- De entre los factores que influyen en la emisión de la intensidad, identifique los relacionados con el analito.
 - Identifique los factores que influyen en la intensidad de la emisión relacionados con el espectrómetro.
 - La cantidad que se mide en la XPS es de ordinario I/S , en donde I es el área máxima y S es el factor de sensibilidad para el elemento de interés. Si esta cantidad se mide para el analito $(I/S)_a$ y se mide el valor correspondiente para un patrón interno con una transición diferente $(I/S)_s$, demuestre por medio de una ecuación de qué manera se relaciona $(I/S)_a/(I/S)_s$ con la relación de concentración atómica entre el analito y el patrón interno.
 - Si todos los elementos de una superficie se miden mediante XPS, demuestre que la concentración atómica fraccionaria f_A del elemento A está dado por

$$f_A = \frac{I_A/S_A}{\sum(I_n/S_n)}$$

- donde I_n es el área máxima medida para un elemento n , S_n es el factor de sensibilidad atómica para ese pico y la sumatoria se efectúa para todo valor de n .
- En el caso de una muestra de poliuretano en donde carbono, nitrógeno y oxígeno se detectaron mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, el factor de sensibilidad para C fue de 0.25 en el espectrómetro que se usó. El factor de sensibilidad de N fue 0.42 y el de O fue de 0.66 en el mismo espectrómetro. Si las áreas de los picos fueron $C(1s) = 26\,550$, $N(1s) = 4475$ y $O(1s) = 13\,222$, ¿cuáles fueron las concentraciones atómicas de los tres elementos?
 - ¿Cuáles son las limitaciones del análisis cuantitativo con espectroscopía fotoelectrónica de rayos X? ¿Por qué las concentraciones atómicas medidas no corresponden a la composición de toda la muestra?
 - En el caso del poliuretano, las concentraciones estequiométricas son $C = 76.0\%$, $N = 8.0\%$ y $O = 16.0\%$. Calcule el porcentaje de error en los valores obtenidos en el inciso e) para cada elemento.

Evaluación de la autenticidad del mapa de Vinland: los análisis de las superficies al servicio de la historia, el arte y las ciencias forenses

El mapa de Vinland

El polémico mapa de Vinland salió a la luz en los años cincuenta del siglo XX, cuando una biblioteca privada lo puso a la venta en Europa y con el tiempo lo compró un tratante de libros raros de New Haven, Connecticut. Fue donado a la Universidad de Yale en 1965 y su actual dueño es la Biblioteca de esta misma universidad. Como se puede ver en la figura IA3.1, el Vinland es un mapa al estilo medieval del Nuevo Mundo en el que se muestra una gran isla en el océano Atlántico llamada *Vinlandia Insula*, la cual se parece en general a la parte noreste de Norteamérica (Vinland). El mapa fue dado a conocer al mundo en 1965 junto con un documento desconocido que databa de alrededor de 1440 titulado *Tartar Relation*. Si fuera genuino, significaría que una gran parte de América del Norte era conocida para los europeos occidentales antes del descubrimiento de Cristóbal Colón.

El interés sobre la autenticidad del mapa aumentó cuando se descubrió que los agujeros hechos en el mapa se alineaban exactamente con aquellos abiertos en el *Tartar Relation* y con los de otro documento medieval auténtico, el *Speculum Historiale*. Se pensó que el mapa podría haber estado encuadrado con estos dos documentos alguna vez.

Durante mucho tiempo se creyó que el mapa era auténtico, hasta 1974, cuando la Biblioteca de Yale contrató a un grupo de análisis de superficies, McCrone Associates, para que efectuara un examen minucioso. Desde entonces, los científicos utilizaron una amplia variedad de técnicas para investigar el pergamino y la tinta que se utilizó en el mapa. Como se reflexiona en lo que sigue, muchas de las mediciones señalan que el mapa es un fraude. No obstante, no todos los científicos están de acuerdo, y todavía persisten varias preguntas.

Técnicas instrumentales

Para su investigación detallada sobre el mapa, McCrone Associates¹ efectuó un cuidadoso examen preliminar mediante un microscopio óptico. Dicho examen reveló que el dibujo consistía en un mapa al parecer trazado a mano con tinta negra sobre pergamino. El contorno está rodeado con una capa subyacente de color amarillo pálido, la cual es característica de los manuscritos antiguos. Una observación clave muy al principio fue que el contorno negro no tenía un registro perfecto con la capa subyacente de color amarillo.

Entonces el mapa fue sometido a un examen con microscopio de luz polarizada para buscar la probable presencia de partículas de calcita y dióxido de titanio (TiO₂), tal vez anatasa. Estas observaciones apuntaban también a que las partículas de anatasa podrían ser similares a las de los pigmentos blancos comerciales producidos desde el inicio del siglo XX. Luego del examen microscópico, las partículas de varias partes del mapa fueron sometidas a varios métodos ultramicroanalíticos.

Las mediciones del polvo por difracción de rayos X (sección 12D.1) se ejecutaron en muestras de subnanogramos de la capa del pigmento amarillo, lo cual confirmó la presencia tanto de calcita como de anatasa. Las partículas de los pigmentos fueron examinadas con un microscopio electrónico (sección 21F.2) equipado con un sistema de detección de fluorescencia de rayos X (sección 12A.3). Las partículas del pigmento amarillo mostraron una concentración relativamente alta de titanio, y las partículas negras mostraron altas concentraciones de hierro y de cromo. Mediante el microscopio de transmisión de electrones (sección 21F.2) se comparó la forma de las partículas y la distribución del tamaño de la anatasa proveniente del mapa de Vinland con las del producto comercial. Estos resultados también hicieron pensar que las partículas de anatasa tenían un origen moderno.

La microsonda de electrones (sección 21F.1), que tiene la capacidad de realizar análisis elementales de muestras en femtogramos con un diámetro de haz de 1 µm, se utilizó para mostrar que el pigmento amarillo tenía cantidades importantes de titanio, pero que ni el pergamino ni el pigmento negro lo contenían. El análisis con microsonda de iones (sección 21D.1) de muestras del pigmento proporcionó resultados consistentes con los de la microsonda de electrones. También se utilizó la microsonda de iones para comparar los pigmentos del mapa de Vinland con las tintas de la *Tartar Relation* y el *Speculum Historiale*. Los resultados obtenidos en el mapa no concuerdan con los de ambos documentos ni con ninguna tinta conocida. McCrone concluyó que el mapa era un astuto fraude producido al dibujarlo con el pigmento amarillo que contenía anatasa, y que después fue remarcado con una tinta negra hecha de carbón. Esta conclusión pareció haber sido desencadenada por la falta de registro o coincidencia de las capas amarilla y negra y fue consistente con todos los resultados ultramicroanalíticos.

Un grupo multidisciplinario encabezado por Cahill aplicó técnicas de emisión de rayos X inducida por partículas (sección 12C.1) para determinar que aunque, de hecho, el titanio estaba presente en el pigmento amarillo del mapa

¹ W. C. McCrone, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 1009.

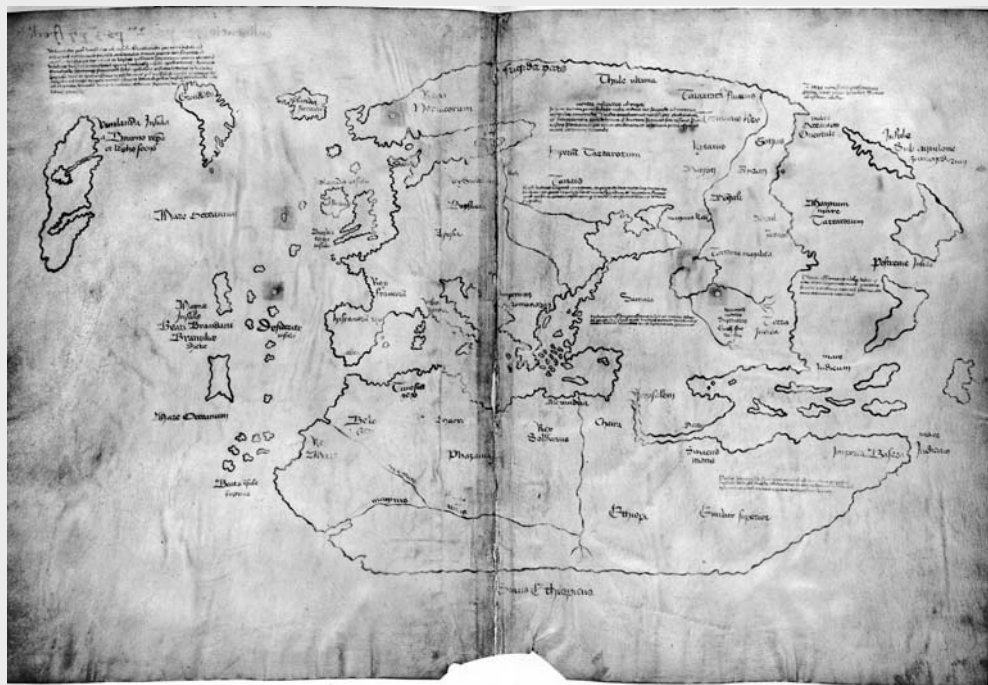


FIGURA IA3.1 Mapa de Vinland. (Manuscritos medievales y del Renacimiento. Colección general de libros y manuscritos raros, Beinecke Rare Book and Manuscript Library, Yale University.)

de Vinland, sólo había cantidades diminutas, mucho menos de lo que sería coherente con la impresión dada por los resultados iniciales del grupo de McCrone.² El grupo de Cahill, que ya antes había probado cientos de manuscritos antiguos, había detectado niveles similares de titanio en varios documentos indiscutiblemente medievales escritos en pergamino. En su informe, McCrone³ refutó el estudio de Cahill al plantear que aunque la técnica de emisión de rayos X inducida por partículas era un método para análisis de cantidades traza, era inapropiado para el ultramicroanálisis. En otras palabras, el área donde se realizó el muestreo con dicha técnica es considerablemente más grande que la que se usó con las técnicas microanalíticas que utilizó McCrone, lo cual origina concentraciones de titanio aparentemente más bajas en regiones significativas del mapa.

Las mediciones con la microsonda Raman (sección 18B.2) que Brown y Clark efectuaron en el mapa confirman que el pigmento amarillo contiene anatasa, el pigmento negro está hecho con carbón y que ambos son totalmente distintos de los de la tinta de la *Tartar Relation*.⁴ Estos resultados son consistentes con la conclusión de McCrone en lo que respecta a que el mapa es un timo. Para finalizar, la edad de la piel en la que está trazado el mapa de Vinland se determinó mediante la datación por radiocarbono y con la apli-

cación de la espectrometría de masas con acelerador (sección 11F.1); los resultados apuntan a que el pergamino se preparó en algún momento entre 1411 y 1468 de nuestra era (95% CL).⁵ Por tanto, si el mapa es un fraude moderno, el que lo preparó utilizó una pieza antigua de pergamino para elaborarlo.

El panorama analítico

La controversia alrededor del mapa de Vinland señala varios aspectos importantes de cualquier estudio analítico. El primero tiene que ver con la definición exacta de la muestra analítica y con tenerla en cuenta durante la determinación. En este caso específico se podrían definir varias muestras distintas: la piel sobre la que se trazó el mapa, una amplia área que contiene la tinta del mapa y el pergamino, o bien, partículas diminutas de tinta. En muchos estudios analíticos se busca homogeneizar una muestra o promediar los resultados sobre cierta zona. Pero en otros es importante buscar las heterogeneidades de la muestra. Este caso ilustra que los científicos que estudian partículas diminutas pueden llegar a conclusiones acerca de las concentraciones que son diferentes de las de quienes examinan una región espacial más amplia. La resolución espacial de las técnicas analíticas es también un aspecto importante de este estudio. No se

²T. A. Cahill et al., *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 829.

³Véase nota 1.

⁴K. L. Brown y R. J. H. Clark, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 3658.

⁵D. J. Donahue, J. S. Olin y G. Harbottle, *Radiocarbon*, **2002**, 44, p. 45.

puede tener la esperanza de determinar los efectos o las concentraciones locales mediante técnicas que observan o promedian a lo largo de grandes regiones espaciales. En este ejemplo, aunque la técnica de emisión de rayos X inducida por partículas es un método sensible de análisis de trazas no tiene la resolución espacial de muchas de las técnicas para superficies que se usaron para estudiar el mapa. Otro aspecto que se resalta es la diferencia entre una técnica que determina la composición elemental y otra que determina la composición molecular. En este caso específico, la difracción de rayos X y la microscopía Raman se aplicaron para determinar de manera concluyente la presencia de TiO_2 en la tinta. Las otras técnicas que se emplearon tienen la capacidad de establecer la presencia

de elementos específicos y determinar sus cantidades en el volumen de muestra. Finalmente, se debe hacer notar que, sin lugar a dudas, la polémica del mapa de Vinland no ha terminado. Si el mapa es un timo, quedan preguntas sobre cómo se obtuvo ese viejo pergamino. De igual manera, si el mapa es auténtico, es necesario explicar la presencia de TiO_2 en el tamaño de las partículas y en la distribución de las mismas. Sin duda, en el futuro se aplicarán técnicas analíticas nuevas y más efectivas para ayudar a resolver estas y otras preguntas restantes.⁶

⁶“The Viking Deception”, narrada por Gene Galusha, en *NOVA*, Granite Productions, PBS, WGBH, Boston, 8 de febrero de 2005.



Los sensores electroquímicos se usan en lugares inimaginables. En la fotografía se muestra el vehículo *Alvin* para aguas profundas cuando coloca un sensor electroquímico en un manantial hidrotérmico en el fondo del océano Pacífico. Estos sensores miden el pH, el hidrógeno y el ácido sulfhídrico disueltos, especies que son determinantes para entender las reacciones geoquímicas que se llevan a cabo en la profundidad en la corteza marina, así como los procesos biogeoquímicos en el entorno cercano a una salida de material incandescente en el fondo del mar. Los sensores efectúan de manera continua mediciones exactas en las extremas condiciones ambientales del suelo marino. La temperatura que se midió cuando el instrumento se colocó en posición fue de 365°C y la presión era de 250 bares. Los principios de operación de sensores como éstos se explican en los capítulos 23 y 25. (Fotografía de Woods Hole Oceanographic Institution.)

En esta sección se exploran la teoría y la metodología de la química electroanalítica. El capítulo 22 proporciona una base general para el estudio de los siguientes capítulos de esta sección. Se presenta también la terminología y las convenciones de la electroquímica, así como los aspectos teóricos y prácticos de la medición de los potenciales y las corrientes electroquímicas. El capítulo 23 trata sobre los métodos y aplicaciones de la potenciometría, la coulombimetría de potencial constante y la coulombimetría de corriente constante se estudian en el capítulo 24. Las principales facetas de la importante y ampliamente usada técnica de la voltamperometría se presentan en el capítulo 25, con el que concluye la sección.

SECCIÓN CUATRO

Química electroanalítica

22 Introducción a la química electroanalítica

23 Potenciometría

24 Coulombimetría

25 Voltametría

Análisis instrumental en acción:
Medición de las partes para
entender el todo: el microfisiómetro

Introducción a la química electroanalítica

La química electroanalítica abarca un grupo de métodos analíticos cuantitativos basados en las propiedades eléctricas de una solución de analito cuando forma parte de una celda electroquímica. Las técnicas electroanalíticas son capaces de proporcionar límites de detección bajos y una abundante información sobre las características que describen los sistemas susceptibles de ser tratados con la electroquímica. Entre esta información está la estequiometría y la velocidad de transferencia de carga interfacial, la velocidad de transferencia de masa, la extensión de la adsorción o quimiosorción y las constantes de velocidad y de equilibrio de reacciones químicas.

Los métodos electroanalíticos¹ tienen ciertas ventajas de carácter general sobre otros tipos de procedimientos que se tratan en este libro. En primer lugar, las mediciones electroquímicas son a menudo específicas para un estado de oxidación particular de un elemento. Por ejemplo, con los métodos electroquímicos es posible determinar la concentración de cada una de las especies en una mezcla de cerio(III) y cerio(IV), y con la mayor parte de los otros métodos analíticos sólo se puede conocer la concentración total de cerio. Una segunda ventaja importante de los métodos electroquímicos es que los instrumentos son relativamente baratos. La mayor parte de ellos cuesta menos de 30 000 dólares, y el precio de un instrumento comercial, típico, de uso múltiple está entre los 8000 y 10 000 dólares. En cambio, muchos instrumentos espectroscópicos cuestan de 50 000 a 250 000 dólares o más. Una tercera característica de ciertos métodos electroquímicos, que puede ser una ventaja o una desventaja, es que proporcionan información acerca de las actividades más que de las concentraciones de las especies químicas. En general, en estudios fisiológicos, las actividades de los iones, como calcio o potasio, son más importantes que las concentraciones.

La aplicación inteligente de los diversos métodos electroanalíticos que se describen en los capítulos 23, 24 y 25 requiere entender la teoría básica y los aspectos prácticos del funcionamiento de las celdas electroquímicas. Este capítulo se dedica en su mayor parte a estos temas.

22A CELDAS ELECTROQUÍMICAS

Una celda electroquímica de corriente continua consta de dos conductores eléctricos llamados *electrodos*, cada uno sumergido en una solución adecuada de electrolito. Para que circule una corriente en una celda es necesario 1) que los electrodos se conecten externamente mediante un conductor metálico, 2) que las dos soluciones de electrolito estén en contacto para permitir el movimiento de los iones de una a otra y 3) que pueda tener lugar una reacción de transferencia de electrones en cada uno de los electrodos. En la figura 22.1a se muestra un ejemplo de una celda electroquímica sencilla. Consiste en un electrodo de plata sumergido en

¹ Algunos trabajos de referencia en electroquímica y sus aplicaciones son A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001; V. S. Bagotsky y K. Mueller, *Fundamentals of Electrochemistry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2005; D. T. Sawyer, A. Sobkowiak y J. L. Roberts, *Electrochemistry for Chemists*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1995; J. Koryta y J. Dvorak, *Principles of Electrochemistry*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1993; *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, eds., Nueva York: Dekker, 1996. La clásica, pero todavía útil, monografía que trata sobre química electroanalítica es J. J. Lingane, *Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., Nueva York: Interscience, 1958.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

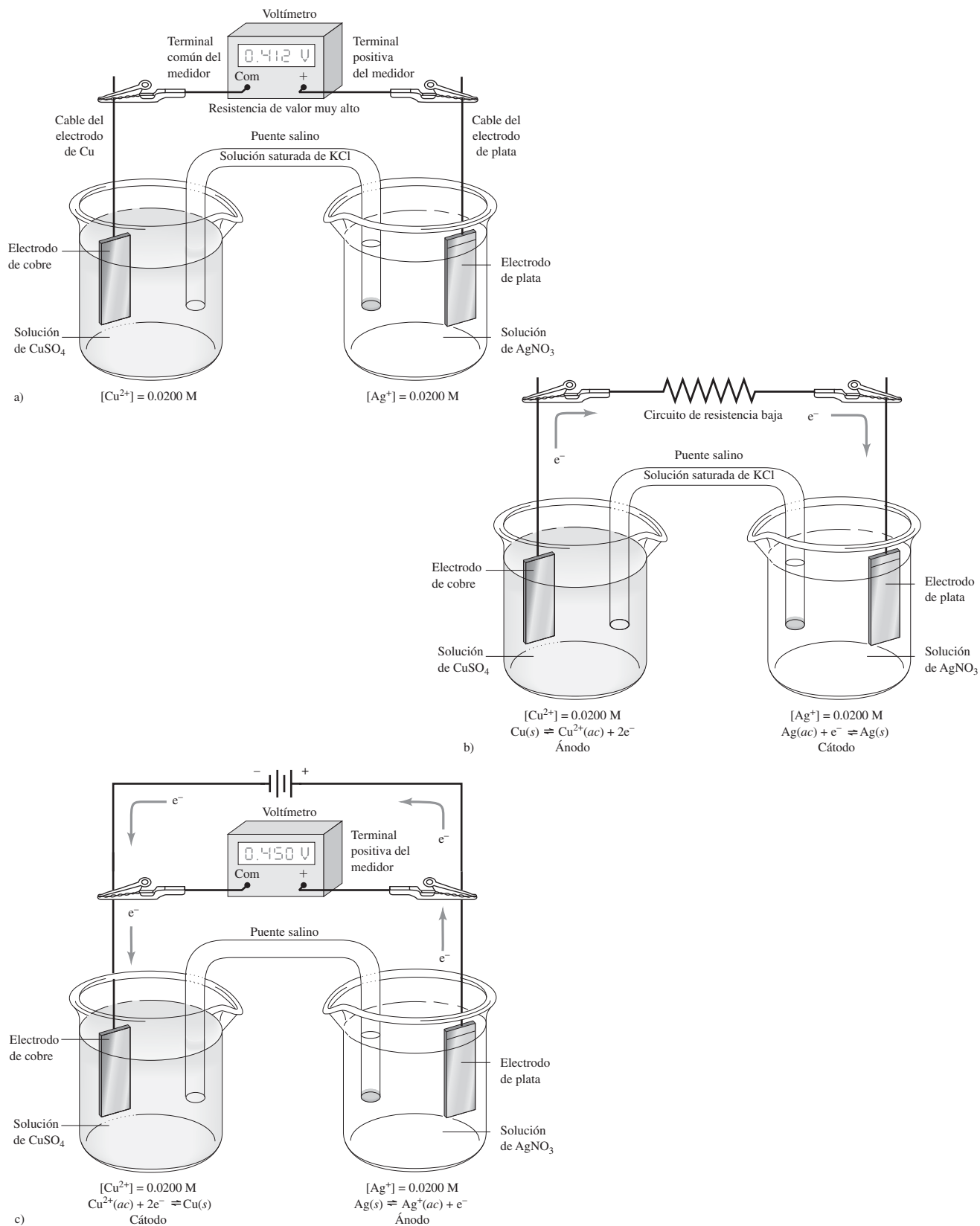


FIGURA 22.1 a) Celda electroquímica galvánica con un circuito abierto; b) celda galvánica que hace trabajo; c) celda electrolítica.

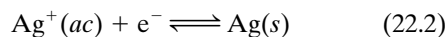
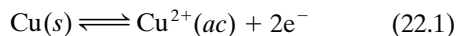
una solución de nitrato de plata y un electrodo de cobre en una solución de sulfato de cobre. Las dos soluciones están unidas por un *punto salino*, que consiste en un tubo lleno con una solución saturada de cloruro de potasio o, a veces, de algún otro electrolito. Los dos extremos del tubo están ocluidos con tapones o discos porosos que permiten el movimiento de iones a través de ellos, pero que evitan el paso de líquido desde una disolución de electrolito a la otra. La función del puente es aislar los contenidos de las dos mitades de la celda mientras se mantiene el contacto eléctrico entre ellas. El aislamiento es necesario para evitar la reacción directa entre los iones de plata y el electrodo de cobre. Las celdas de la figura 22.1 contienen dos de las llamadas *uniones líquidas*; una es la interfase entre la solución de nitrato de plata y el puente salino; la segunda está en el otro extremo del puente salino donde la solución de electrolito del puente está en contacto con la solución de sulfato de cobre. Como se explica en la sección 22B.2, un pequeño *potencial de unión* en cada una de esas interfases puede influir de manera importante en la exactitud de los análisis.

22A.1 Conducción en una celda

Si se reemplaza el medidor de alta impedancia de la figura 22.1a con un alambre de baja resistencia o una carga, como se muestra en la figura 22.1b, el circuito ya está completo y fluye la carga. La carga es conducida por tres procesos diferentes en las distintas partes de la celda que se observa en la figura 22.1b:

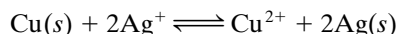
1. En los electrodos de plata y cobre, así como en el conductor externo, los electrones sirven de portadores de carga, moviéndose desde el electrodo de cobre, a través del conductor, hasta el electrodo de plata.
2. En las soluciones, el flujo de carga es el resultado de la migración tanto de cationes como de aniones. En la semicelda de la izquierda, los iones cobre migran alejándose del electrodo sumergido en la solución, y los iones sulfato y sulfato de hidrógeno se mueven hacia él; en la semicelda de la derecha, los iones de plata se mueven hacia el electrodo y los aniones se alejan de él. Dentro del puente salino, la carga es transportada por la migración de los iones potasio hacia la derecha y la de los iones cloruro hacia la izquierda. Por tanto, todos los iones, en las tres soluciones, participan en el flujo de cargas.
3. En las superficies de los dos electrodos tiene lugar un tercer proceso. En estas interfases, una reacción de oxidación o de reducción acopla la conducción iónica de la solución con la conducción de electrones

del electrodo para proporcionar un circuito completo para el flujo de carga. Los procesos de los dos electrodos se describen mediante las reacciones



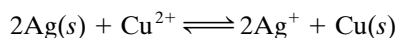
22A.2 Celdas galvánicas y electrolíticas

La reacción neta que tiene lugar en la celda que se observa en la figura 22.1b es la suma de dos reacciones representadas en las ecuaciones 22.1 y 22.2.² Es decir,



El voltaje de esta celda es una medida de la tendencia de esta reacción a evolucionar hacia el equilibrio. Por consiguiente, como se muestra en la figura 22.1, cuando las concentraciones (en realidad, actividades) de los iones cobre y plata son 0.0200 M, se desarrolla un potencial en la celda de 0.412 V que indica que la reacción está lejos del equilibrio. Si se conecta una resistencia u otra carga en el circuito externo, como se muestra en la figura 22.1b, se origina una corriente mensurable en el circuito y se efectúa la reacción en la celda. A medida que procede la reacción, el voltaje se hace cada vez más pequeño y alcanza en última instancia 0.000 V cuando el sistema llega al equilibrio.

Las celdas, como las de las figuras 22.1a y 22.1b, que producen energía eléctrica se llaman *celdas galvánicas*. Por el contrario, *las celdas electrolíticas* consumen energía eléctrica. Por ejemplo, la celda Cu-Ag trabaja en un modo electrolítico al conectar la terminal negativa de una batería o una fuente de alimentación de corriente continua al electrodo de cobre y la terminal positiva al electrodo de plata, como se ilustra en la figura 22.1c. Si la salida de esta fuente se ajusta para que sea un poco mayor que 0.412 V, como se ilustra, las dos reacciones del electrodo se invierten y la reacción neta en la celda es



Una celda en la que al invertir la dirección de la corriente se invierten las reacciones en los dos electrodos se llama *celda químicamente reversible*.

22A.3 Ánodos y cátodos

Por definición, el *cátodo* de una celda electroquímica es el electrodo en el que tiene lugar la reducción, y el *ánodo* es el electrodo en el que tiene lugar la oxidación. Estas definiciones se aplican tanto a las celdas



Simulación: aprenda más acerca de las **celdas electroquímicas**.

² Observe que la semirreacción de la plata se tiene que multiplicar por dos para conservar la carga y el equilibrio de la masa.

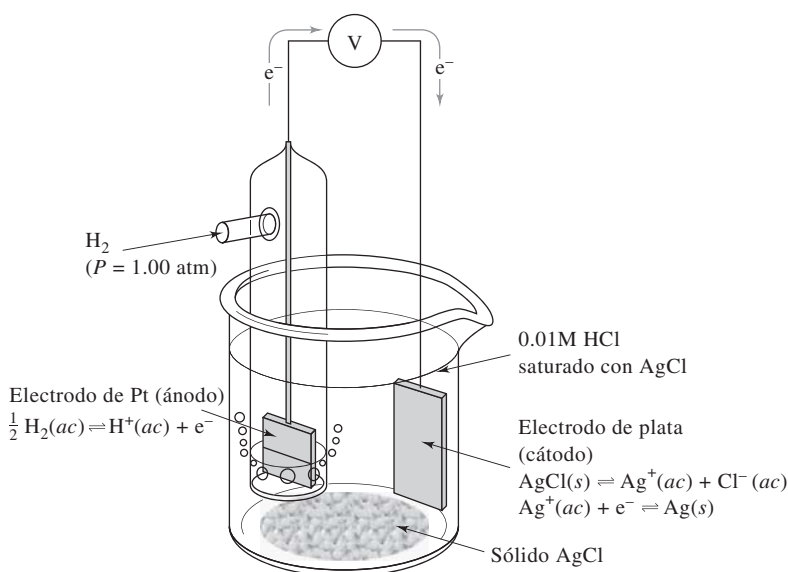
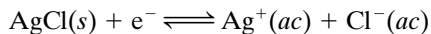


FIGURA 22.2 Celda galvánica sin unión líquida.

galvánicas en descarga como a las celdas electrolíticas. En cuanto a la celda galvánica de la figura 22.1b, el electrodo de plata es el cátodo y el electrodo de cobre es el ánodo. En cambio, en la celda electrolítica de la figura 22.1c, el electrodo de plata es el ánodo y el electrodo de cobre es el cátodo porque se invierten las reacciones de la semicelda.

22A.4 Celdas sin uniones líquidas

Como ya se mencionó, la celda de la figura 22.1 contiene dos uniones líquidas, una entre la solución de nitrato de plata y un extremo del puente salino, y la otra entre la solución de sulfato de cobre y el otro extremo del puente salino. A veces es posible y ventajoso construir celdas en las que los electrodos tengan un electrolito común y se elimina así el efecto de los potenciales de unión. Un ejemplo de una celda de este tipo se muestra en la figura 22.2. Si el voltímetro se eliminara y se reemplazara con un alambre, la plata se comportaría como el cátodo. La reacción en el cátodo sería



En descarga, se consume hidrógeno en el ánodo de platino:



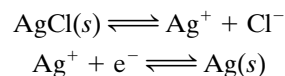
La reacción global en la celda se obtiene multiplicando por dos cada término de la primera ecuación y sumando las dos ecuaciones. Es decir,



La reacción directa entre el hidrógeno y el cloruro de plata sólido es tan lenta que se puede emplear un mis-

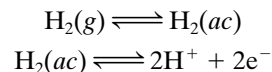
mo electrolito para ambos electrodos sin pérdida significativa de la eficacia de la celda debido a la reacción directa entre los componentes de la misma.

La reacción que tiene lugar en el cátodo de esta celda es de interés debido a que se le puede considerar el resultado de un proceso en dos etapas que se describe mediante las reacciones



En la primera etapa tiene lugar la disolución del cloruro de plata, escasamente soluble, para proporcionar una concentración, en esencia constante, de iones plata que son reducidos después en la segunda etapa.

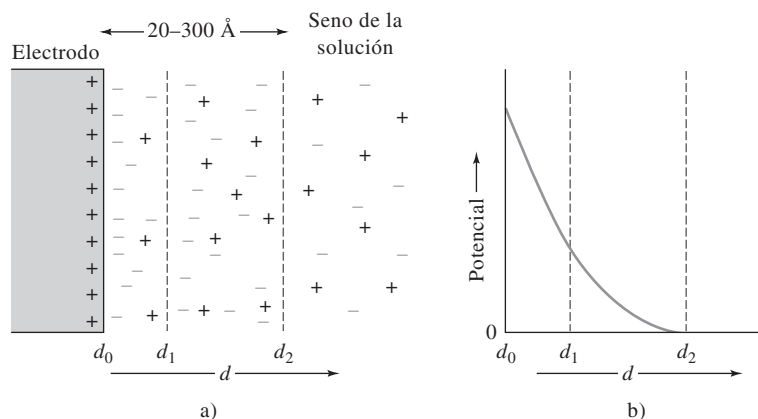
La reacción anódica en la celda es también un proceso en dos etapas que pueden formularse como



En este caso se burbujea hidrógeno en la superficie de un electrodo de platino, de modo que la concentración del gas se mantiene a un valor constante en la superficie a temperatura estable y presión parcial de hidrógeno también estable. Observe que en este caso el electrodo de platino inerte no participa directamente en la reacción, sino que sirve sólo como una superficie donde ocurre la transferencia de electrones.

La celda de la figura 22.2 es galvánica y desarrolla un potencial de alrededor de 0.46 V. Es también químicamente reversible y puede funcionar como una celda electrolítica mediante la aplicación de un potencial externo un poco mayor que 0.46 V. Note que no puede decir si un electrodo dado será un cátodo o un ánodo a

FIGURA 22.3 Doble capa eléctrica formada en la superficie del electrodo como resultado de un potencial aplicado.



menos que sepa si la celda es galvánica bajo descarga o electrolítica.

22A.5 Estructura de la solución: la doble capa eléctrica

Es importante darse cuenta de que las mediciones electroquímicas se efectúan en sistemas heterogéneos y que un electrodo sólo puede donar o aceptar electrones de una especie que esté presente en una capa de solución que esté inmediatamente adyacente a él. Por tanto, como resultado de los cambios químicos y físicos que ocurren en la interfase electrodo-solución, esta capa podría tener una composición muy distinta de la solución considerada en forma total.

Por ejemplo, considere la estructura de la solución inmediatamente adyacente a un electrodo en una celda electrolítica cuando se le aplica a éste por primera vez un voltaje positivo (como el electrodo de Ag en la figura 22.1c). Inmediatamente después de imponer el voltaje, habrá una sobrecarga momentánea que decaerá con rapidez a cero si no está presente ninguna especie reactiva en la superficie del electrodo. Esta corriente es de carga y crea un exceso o una deficiencia de carga negativa en la superficie de los dos electrodos. Sin embargo, a causa de la movilidad iónica, las capas de la solución inmediatamente adyacentes a los electrodos adquieren una carga de signo opuesto. Este efecto se ilustra en la figura 22.3a. La superficie del electrodo metálico posee un exceso de carga positiva como consecuencia de un voltaje positivo aplicado. La capa de solución cargada consta de dos partes: 1) una capa interior compacta (d_0 a d_1), en la cual el potencial disminuye linealmente con la distancia desde la superficie del electrodo y 2) una capa difusa (d_1 a d_2), dentro de la cual la disminución es casi exponencial (véase figura 22.3b). Esta disposición completa de especies cargadas y dipolos orientados (como las moléculas de agua) en la interfase electrodo-solución se denomina *doble capa eléctrica*.

22A.6 Corrientes faradaicas y no faradaicas

Dos tipos de procesos pueden conducir corrientes por una interfase electrodo-solución. En uno de ellos hay una transferencia directa de electrones vía una reacción de oxidación en un electrodo y una reacción de reducción en el otro. A los procesos de este tipo se les llama *procesos faradaicos* porque están gobernados por la ley de Faraday, que establece que la extensión de una reacción química que se efectúa en un electrodo es proporcional a la intensidad de corriente, llamada *corriente faradaica*.

En ciertas condiciones se puede aplicar una gama de voltajes a una celda que no producen procesos *faradaicos* en uno o en ambos electrodos. Los procesos faradaicos se podrían inhibir ya sea porque los electrones carecen de la energía suficiente para traspasar la barrera de energía potencial en la interfase electrodo-solución (razones termodinámicas) o bien porque la reacción de transferencia de electrones no es lo suficientemente rápida en la escala de tiempo del experimento (razones cinéticas). En estos casos, todavía puede tener lugar la conducción continua de corriente alterna. Con tales corrientes tiene lugar una inversión de las relaciones de carga cada medio ciclo, ya que primero los iones negativos y luego los positivos son atraídos de manera alternada hacia la superficie del electrodo. La energía eléctrica procedente de la fuente de voltaje externa se consume y se convierte en calor debido a la fricción asociada con el movimiento de los iones. Otra manera de ver este consumo de energía es que cuando cambia el voltaje, los iones de la capa doble tienen que reacomodarse y ajustarse al nuevo potencial; este reacomodo requiere energía. Por consiguiente, cada superficie del electrodo se comporta como la placa de un capacitor cuya capacitancia es grande, desde varios cientos a varios miles de microfarad por centímetro cuadrado. La corriente capacitiva aumenta con la frecuencia y con el área del electrodo (véase

sección 2B.3 y ecuación 2.28). Al controlar estas variables es posible ajustar las condiciones de manera que en esencia toda la corriente alterna en una celda sea transportada a través de la interfase del electrodo por este *proceso no faradaico*. Véase en la sección 25B.4 una descripción de un modelo de circuito para este proceso.

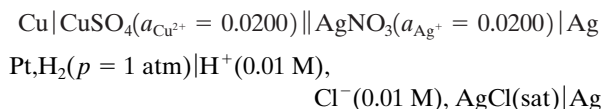
Para comprender la diferencia básica entre una corriente faradaica y no faradaica, imagine un electrón que viaja a través del circuito externo hacia la superficie de un electrodo. Cuando el electrón alcanza la interfase de la solución, puede hacer sólo una de dos cosas. Puede permanecer en la superficie del electrodo y aumentar la carga de la doble capa, lo que constituye una corriente no faradaica. La otra opción es que puede abandonar la superficie del electrodo y transferirse a una especie en la solución, con lo que se convierte en parte de una corriente faradaica.

22A.7 Transferencia de masa en celdas por el paso de corriente

Debido a que un electrodo sólo puede sondear una capa muy delgada de solución en contacto con su superficie (d_0 a d_1 en la figura 22.3a), una corriente faradaica requiere una transferencia de masa continua de especies reactivas desde el seno de la solución hasta la superficie del electrodo. Esta transferencia de masa se lleva a cabo por medio de tres mecanismos: *convección*, *migración* y *difusión*. La convección es el resultado del movimiento mecánico de la solución como consecuencia de la agitación o del flujo de la solución delante de la superficie del electrodo. La migración es el movimiento de los iones a través de la solución producido por la atracción electrostática entre los iones y el electrodo de carga opuesta. La difusión es el movimiento de las especies como consecuencia de un gradiente de concentración. En la sección 22E.3 se trata con detalle estos mecanismos de transferencia de masa.

22A.8 Representación esquemática de celdas

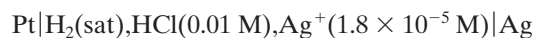
Para simplificar la descripción de las celdas, los químicos emplean con frecuencia una notación abreviada. Por ejemplo, las celdas de las figuras 22.1 y 22.2 pueden describirse mediante



Por convención, una sola línea vertical significa un límite de fase, o interfase, donde se produce un potencial. Por ejemplo, la primera línea vertical en este esquema quiere decir que hay una diferencia de potencial a tra-

vés del límite entre las fases, entre el electrodo de zinc y la disolución de sulfato de zinc. Las dos líneas verticales representan dos límites de fase, uno en cada extremo del puente salino. Hay un *potencial de unión líquida* en cada una de estas interfases. Puesto que el potencial de una celda depende de las actividades de los componentes de la celda, es una práctica común indicar los datos de actividades o concentraciones de los constituyentes de la celda entre paréntesis.

En la segunda celda sólo existen dos límites entre fases porque el electrolito es común a ambos electrodos. Una representación simplificada de esta celda sería



En esta celda, la concentración de hidrógeno molecular es la de una solución saturada; en ausencia de datos sobre la presión parcial de hidrógeno, se supone 1.00 atm. La concentración molar del ion plata que se indica se calculó a partir de la constante del producto de solubilidad del cloruro de plata.

22B POTENCIALES EN CELDAS ELECTROANALÍTICAS

En la mayor parte de los métodos electroanalíticos se mide 1) la corriente en una celda electroquímica a un potencial fijo o 2) el potencial de una celda mientras la intensidad de corriente está fija en algún valor constante o es cero. En general, en un experimento electroquímico, sólo es posible controlar el potencial de la celda en un valor deseado y medir la intensidad de corriente resultante, o viceversa. Si se elige controlar una variable, es imposible controlar la otra en forma independiente.

En esta sección primero se considera la termodinámica de las celdas electroquímicas y las relaciones entre las actividades de los participantes en las reacciones de celda comunes y los potenciales que se observan. Se describe después el origen de los potenciales de unión que se presentan en la mayor parte de las celdas electroquímicas. En la sección 22C se consideran los potenciales individuales de los electrodos que constituyen las celdas.

22B.1 Propiedades termodinámicas de los potenciales de celda

El potencial de una celda electroquímica se relaciona directamente con las *actividades* de los reactivos y los productos de la reacción en la celda, e indirectamente con sus concentraciones molares. Aunque con frecuencia se hace la aproximación de que estas actividades

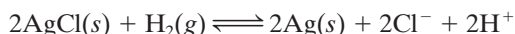
son iguales a las concentraciones molares, siempre hay que tener presente que esta suposición podría producir errores en el cálculo de los potenciales. En el apéndice 2 se revisa la relación entre la actividad de una especie química y su concentración.

Recuerde que la actividad a_X de la especie X viene dada por

$$a_X = \gamma_X[X] \quad (22.3)$$

En esta ecuación, γ_X es el coeficiente de actividad del soluto X y el término entre corchetes es la concentración molar de X. En algunos ejemplos, por conveniencia se supondrá que el coeficiente de actividad es unitario, de modo que la concentración molar y la actividad de una especie son idénticas.

¿Cómo afectan las actividades de los reactivos y los productos el potencial de una celda electroquímica? Se usará como ejemplo la celda que se ilustra en la figura 22.2 para la cual la reacción espontánea de la celda es



La constante de equilibrio termodinámico K para esta reacción es

$$K = \frac{a_{\text{H}^+}^2 \cdot a_{\text{Cl}^-}^2 \cdot a_{\text{Ag}}^2}{p_{\text{H}_2} \cdot a_{\text{AgCl}}^2} \quad (22.4)$$

donde las letras “a” son las actividades de las diferentes especies indicadas por los subíndices y p_{H_2} es la presión parcial del hidrógeno en atmósferas.

En el apéndice 2³ se explica que la actividad de un sólido puro es unitario cuando está presente en exceso, es decir, $a_{\text{Ag}} = a_{\text{AgCl}} = 1.00$). Por tanto, la ecuación 22.4 se simplifica a

$$K = \frac{a_{\text{H}^+}^2 \cdot a_{\text{Cl}^-}^2}{p_{\text{H}_2}} \quad (22.5)$$

Es conveniente definir el cociente de actividad Q tal que

$$Q = \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} \quad (22.6)$$

Aquí, el subíndice i indica que los términos entre paréntesis son las actividades instantáneas y no las actividades en el equilibrio. Por tanto, el parámetro Q no es una constante, sino que cambia continuamente hasta que se alcanza el equilibrio; en ese punto, Q se hace igual a K y los subíndices i se eliminan.

La variación de energía libre ΔG para una reacción de celda (es decir, el máximo trabajo que se puede obtener a temperatura y presión constantes) es

$$\Delta G = RT \ln Q - RT \ln K = RT \ln \frac{Q}{K} \quad (22.7)$$

donde R es la constante de los gases ($8.316 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T es la temperatura en kelvin; $\ln$ se refiere al logaritmo natural de base e . Esta relación quiere decir que el valor de la energía libre del sistema depende de cuán alejado esté el sistema del estado de equilibrio, como se indica mediante el cociente Q/K . El potencial de celda E_{cel} se relaciona con la energía libre de la reacción mediante la expresión

$$\Delta G = -nFE_{\text{cel}} \quad (22.8)$$

donde F es el faraday ($96\,485$ coulomb por mol de electrones) y n es el número de moles de electrones asociados con el proceso de oxidación-reducción (en este ejemplo, $n = 2$).

Cuando se sustituyen las ecuaciones 22.6 y 22.8 en la 22.7 y se reordenan los términos se tiene

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= \frac{RT}{nF} \ln Q + \frac{RT}{nF} \ln K \\ &= -\frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} + \frac{RT}{nF} \ln K \end{aligned} \quad (22.9)$$

El último término de esta ecuación es una constante llamada potencial estándar de electrodo, E_{cel}^0 de la celda. Es decir,

$$E_{\text{cel}}^0 = \frac{RT}{nF} \ln K \quad (22.10)$$

La sustitución de la ecuación 22.10 en la ecuación 22.9 da

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cel}}^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{H}^+})_i^2 (a_{\text{Cl}^-})_i^2}{(p_{\text{H}_2})_i} \quad (22.11)$$

Observe que el potencial estándar es igual al potencial de la celda cuando los reactivos y los productos tienen una actividad y presión iguales a la unidad.

La ecuación 22.11 es una forma de la ecuación de Nernst,⁴ llamada así en honor del físicoquímico alemán y ganador del Premio Nobel de Química en 1920 Walther Nernst (1864-1941). Esta ecuación encuentra una gran aplicación en toda la química electroanalítica y es la base de muchas aplicaciones.

⁴Las ecuaciones con formas similares a la de la ecuación 22.11 se denominan relaciones *nernstianas*; se dice que los electrodos y los sensores cuyo comportamiento se apegan a la ecuación de Nernst manifiestan un comportamiento *nernstiano*, y RT/nF ($2.303 RT/nF$ cuando se usan logaritmos base 10) recibe a menudo el nombre de *nernstiano* o *factor de Nernst*.

³Véase página 967.

22B.2 Potenciales de unión líquida

Cuando se ponen en contacto dos soluciones de electrolitos de diferente composición se forma un potencial a través de la interfase. Este *potencial de unión* proviene de la desigual distribución de cationes y aniones en la superficie de contacto debido a las diferencias en las velocidades a las que difunden estas especies.

Considere la unión líquida en el sistema



Tanto los iones hidrógeno como los de cloruro tienden a difundirse a través de este límite desde la solución más concentrada hacia la más diluida, y la fuerza de activación de este movimiento es proporcional a la diferencia de concentraciones. La velocidad a la cual varios iones se difunden por la influencia de una fuerza constante varía de manera considerable, es decir, las movilidades son diferentes. En este ejemplo, la movilidad de los iones hidrógeno es superior por un factor de 5 a la de los iones cloruro. Por consiguiente, los iones hidrógeno tienden a difundirse más rápido que los iones cloruro, y esta diferencia en la velocidad de difusión produce una separación de carga (véase figura 22.4). El lado más diluido de la superficie de contacto (el lado derecho de la figura), se carga positivamente debido a la difusión más rápida de los iones hidrógeno. Por tanto, el lado concentrado adquiere una carga negativa por el exceso de iones cloruro, que se mueven con mayor lentitud. La separación de carga que hay tiende a contrarrestar las diferencias en las movilidades de los dos iones, y el resultado es que pronto se alcanza el equilibrio. La diferencia de potencial de unión que resulta de esta separación de cargas puede alcanzar los 30 mV o incluso más.

En un sistema sencillo tal como el que se muestra en la figura 22.4, la magnitud del potencial de unión se puede calcular a partir de las movilidades de los dos tipos de iones involucrados. Sin embargo, es raro que una celda de interés analítico tenga una composición tan simple como para permitir tal cálculo.⁵

Se ha encontrado experimentalmente que la magnitud del potencial de unión se puede reducir mucho si se introduce una solución electrolítica concentrada (un puente salino) entre las dos soluciones. La efectividad de un puente salino mejora no sólo a medida que aumenta la concentración de la sal, sino también cuando la diferencia entre las movilidades de los iones positivos y negativos de la sal se aproxima a cero. Una

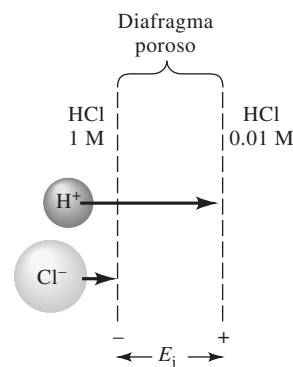
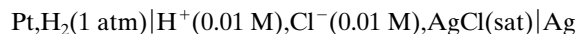


FIGURA 22.4 Representación esquemática de una unión líquida que muestra el origen del potencial de unión E_j . La longitud de las flechas guarda relación con la movilidad relativa de los dos iones.

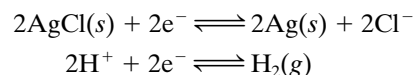
solución de cloruro de potasio saturada es particularmente efectiva desde ambos puntos de vista. Su concentración a temperatura ambiente es superior a 4 M, pero también es importante que las movilidades de sus iones potasio y cloruro difieren sólo 4%. Cuando el ion cloruro interfiere con un experimento en particular, se puede sustituir por una solución concentrada de nitrato de potasio. Con tales puentes, el potencial neto de unión alcanza casi siempre unos pocos milivolts o menos, una cantidad insignificante en la mayoría de las mediciones analíticas.

22C POTENCIALES DE ELECTRODO

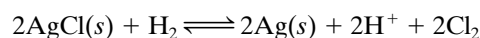
Es útil pensar en la reacción de una celda electroquímica como si estuviese formada por dos *reacciones de semicelda*, cada una de las cuales tiene un *potencial de electrodo* característico asociado a ella. Como se explica más adelante, estos potenciales de electrodo miden la fuerza impulsora de las dos semirreacciones cuando, por convención, ambas se escriben como reducciones. Por tanto, las dos reacciones de semicelda o de electrodo para la celda



que se muestran en la figura 22.2 son



Para obtener la reacción espontánea de la celda, la segunda semirreacción se resta de la primera para tener



Si se conocen los potenciales de electrodo $E_{\text{AgCl}/\text{Ag}}$ y $E_{\text{H}^+/\text{H}_2}$ para las dos semirreacciones, entonces se podría encontrar el potencial de celda E_{cel} al sustraer el po-

⁵Para ver métodos de cálculo de potenciales de unión aproximados, véase A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., pp. 69 a 72, Nueva York: Wiley, 2001.

tencial de electrodo para la segunda reacción del de la primera. Es decir,

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{AgCl/Ag}} - E_{\text{H}^+/\text{H}_2}$$

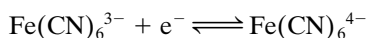
Un planteamiento más general de la última relación es

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} \quad (22.12)$$

donde E_{derecha} es el potencial de la semicelda que se escribe a la derecha del diagrama de la celda o en la notación abreviada, y $E_{\text{izquierda}}$ es el potencial de electrodo para la semirreacción que se escribe a la izquierda. Se trata esta convención en forma más minuciosa en la sección 22C.5.

22C.1 Naturaleza de los potenciales de electrodo

El potencial de una celda electroquímica es la diferencia entre el potencial de uno de los electrodos y el potencial del otro; por tanto, es importante tener una idea clara de lo que se quiere decir con potencial de un electrodo el cual es una medida de la energía de los electrones de un electrodo. En el caso de un conductor metálico sumergido en una solución de un electrolito, todo el exceso de carga reside en su superficie, y es posible ajustar la densidad de carga en dicha superficie si se regula la salida de una fuente de alimentación externa unida al conductor. A medida que esta fuente externa fuerza a los electrones hacia la superficie del electrodo, los electrones están más apiñados y su energía crece debido a la repulsión coulombica. Por consiguiente, el potencial del electrodo se vuelve más negativo. Si el circuito externo extrae suficientes electrones del electrodo, la superficie adquirirá una carga positiva y el electrodo se volverá más positivo. También es posible variar la energía de los electrones y, por tanto, el potencial de un electrodo metálico al variar la composición de la solución en la que está sumergido. Por ejemplo, hay un potencial en un electrodo de platino sumergido en una solución que contiene hexacianoferrato(II) y hexacianoferrato(III) como resultado del equilibrio



Si la concentración de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ es mucho mayor que la del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, el hexacianoferrato(II) tiene la tendencia a donar electrones al metal, con lo que imparte una carga negativa a la superficie de éste. En estas condiciones, el potencial del electrodo es negativo. Por otra parte, si el $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ está presente en gran exceso, hay una tendencia en los electrones a dejarse arrancar del electrodo, lo que causa la formación de una capa

superficial de iones en la solución y deja una carga positiva en la superficie del electrodo. Entonces, el electrodo de platino presenta un potencial positivo.

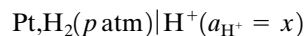
En necesario resaltar que *no existe ningún método para determinar el valor absoluto del potencial de un único electrodo*, porque todos los dispositivos para medir voltajes determinan sólo *diferencias de potencial*. Uno de los conductores de este dispositivo se conecta al electrodo en cuestión. Con el objeto de medir una diferencia de potencial, el segundo conductor debe ponerse en contacto con la solución de electrolito de la semicelda en cuestión. Este último contacto crea inevitablemente una interfase sólido-solución y, por tanto, actúa como una segunda semicelda en la cual *deberá también tener lugar una reacción química si la carga ha de fluir*. Se asocia un potencial con esta segunda reacción. Por consiguiente, no se puede medir el valor absoluto del potencial de semicelda buscado; en lugar de eso, lo que es factible medir es la diferencia entre el potencial de interés y el potencial de la semicelda por el contacto entre el dispositivo de medición del voltaje y la solución.

Nuestra incapacidad para medir potenciales absolutos de procesos de semicelda no es una desventaja grave porque son igualmente útiles los potenciales de semicelda relativos, medidos respecto a un electrodo de referencia común. Estos potenciales relativos pueden combinarse para dar potenciales de celda reales. Además, se pueden utilizar para calcular constantes de equilibrio de procesos de oxidación y reducción.

Con el fin de elaborar una lista útil de potenciales de semicelda relativos o de electrodo, es necesario tener un electrodo de referencia cuidadosamente definido, que sea aceptado por toda la comunidad química. El electrodo estándar de hidrógeno o el electrodo normal de hidrógeno constituye tal semicelda.

22C.2 Electrodo estándar de hidrógeno

Los electrodos de gas hidrógeno fueron muy utilizados en los primeros estudios electroquímicos no sólo como electrodos de referencia, sino también como electrodos indicadores para determinar el pH. La composición de este tipo de electrodo puede representarse como



Como sugieren los términos entre paréntesis, el potencial en la superficie del platino depende de la actividad del ion hidrógeno en la solución y de la presión parcial del hidrógeno que se utiliza para saturar la solución.

La semicelda que se muestra en la parte izquierda de la figura 22.5 ilustra los componentes de un electro-



Simulación: aprenda más acerca de los **potenciales de celda electroquímica**.

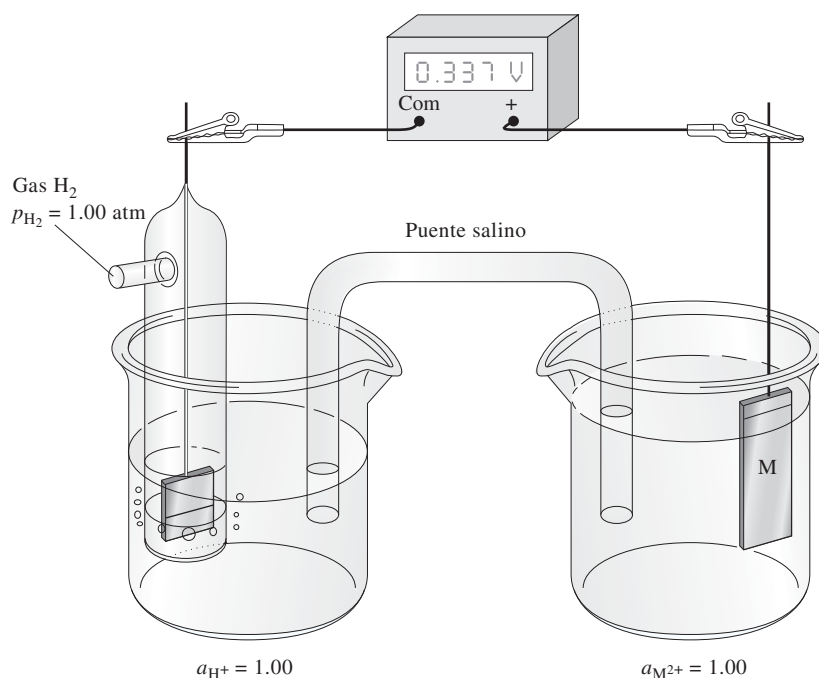
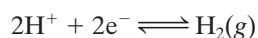


FIGURA 22.5 Medición del potencial de electrodo para un electrodo M. Si la actividad del ion M^{2+} en el compartimiento de la derecha es 1.00, el potencial de la celda es del electrodo patrón de la semirreacción $M^{2+}(ac) + 2e^- \rightleftharpoons M(s)$.

do de hidrógeno característico. El conductor se fabrica con una lámina de platino que ha sido *platinizada*. Los electrodos de platino se platinizan revistiendo sus superficies con una capa de platino finamente dividido mediante una rápida reducción química o electroquímica del H_2PtCl_6 . El platino finamente dividido de la superficie del electrodo no refleja la luz como lo hace el platino pulido, por lo que el electrodo se ve de color negro. A causa de este aspecto, el platino depositado se denomina *negro de platino* y proporciona un área superficial grande para asegurar que la reacción



proceda con rapidez en la superficie del electrodo. Como ya se señaló, la corriente de hidrógeno mantiene la solución adyacente al electrodo saturada de este gas.

El electrodo de hidrógeno puede actuar como positivo o como negativo dependiendo de la semicelda con la que se acople por medio del puente salino que se observa en la figura 22.5. Cuando la celda está en cortocircuito, el hidrógeno se oxida en iones hidrógeno cuando el electrodo es un ánodo; la reacción inversa se efectúa cuando el electrodo es un cátodo. Entonces, en las condiciones adecuadas, el electrodo de hidrógeno es electroquímicamente reversible. Cuando la celda está conectada como se muestra en la figura 22.5, en esencia no hay corriente en la celda debido a la muy alta impedancia del medidor. En cortocircuito, el medidor se reemplaza con un alambre o una carga de baja resistencia como se puede ver en la figura 22.1b y se produce la reacción.

El potencial de un electrodo de hidrógeno depende de la temperatura, de la actividad del ion hidrógeno en la solución y de la presión del hidrógeno en la superficie del electrodo. Los valores de estas variables experimentales se deben definir con cuidado para que la semicelda sirva de referencia. Las especificaciones para el *electrodo estándar de hidrógeno* EEH (SHE, por sus siglas en inglés) son una actividad del ion hidrógeno igual a la unidad y una presión parcial de hidrógeno exactamente de una atmósfera. *Por convención, al potencial de este electrodo se le asigna el valor de exactamente cero volt en todas las temperaturas.*

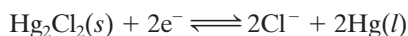
22C.3 Electrodo de referencia prácticos

Aunque el electrodo estándar de hidrógeno es de gran importancia, la dificultad para preparar la superficie del electrodo y controlar las actividades de los reactivos lo hace poco práctico, por lo que rara vez se utiliza en medidas rutinarias. En su lugar se emplean electrodos de referencia sencillos de construir, más fuertes y más fáciles de utilizar. Uno de los más comunes entre éstos es el electrodo de plata-cloruro de plata que se prepara mediante la aplicación de un voltaje de oxidación a un alambre de plata sumergido en una solución diluida de ácido clorhídrico. Se forma una delgada capa de cloruro de plata que se adhiere fuertemente al alambre. A continuación éste se introduce en una solución saturada de cloruro de potasio. Un puente salino conecta la solución de cloruro de potasio con el sistema del electrodo que se está estudiando. El potencial de este electrodo es de alrededor de

+0.22 V respecto al electrodo estándar de hidrógeno. La semirreacción de electrodo es



Un segundo electrodo de referencia ampliamente utilizado es el electrodo de calomel saturado (SCE, por sus siglas en inglés), que consiste en un tubo con mercurio en contacto con una solución saturada de cloruro de mercurio(I) (calomel) y de cloruro de potasio. Un alambre de platino sumergido en el mercurio proporciona el contacto eléctrico para el otro conductor y un puente salino hasta el segundo electrolito completa el circuito. El potencial de esta referencia es de alrededor de 0.24 V positivo. La reacción de electrodo es

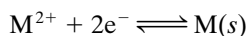


En la sección 23A hay una descripción más detallada de los sistemas de electrodo de referencia plata-cloruro de plata y calomel. Ambos electrodos de referencia se consiguen con los abastecedores de equipo electroquímico.

22C.4 Definición de potencial de electrodo

Un *potencial de electrodo* se define como el de una celda en la cual el electrodo en estudio es el de la derecha y el electrodo estándar de hidrógeno es el de la izquierda.⁶ Es necesario destacar que, a pesar de su nombre, un potencial de electrodo es de hecho el potencial de una celda electroquímica que contiene un electrodo de referencia cuidadosamente definido en la parte izquierda. Los potenciales de electrodo podrían llamarse más correctamente *potenciales de electrodo relativos*, pero esto se hace muy rara vez. Tenga en cuenta que este potencial de celda puede ser positivo o negativo dependiendo de la energía de los electrones del electrodo en estudio. Por consiguiente, cuando esta energía es mayor que la del electrodo estándar de hidrógeno, el potencial del electrodo es negativo; cuando la energía de los electrones del electrodo en cuestión es menor que la del electrodo estándar de hidrógeno, el potencial es positivo.

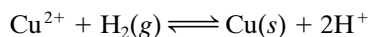
La celda de la figura 22.5 ilustra la definición de potencial de electrodo para la semirreacción



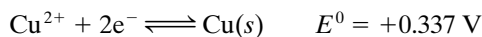
En esta figura, la semicelda de la derecha consiste en una tira del metal M en contacto con una disolución de M^{2+} . La semicelda de la izquierda es un electrodo estándar de hidrógeno. Por definición, el potencial E que se observa en voltímetro es el potencial de electrodo de la *pareja* M^{2+}/M . En este ejemplo general se supone

que los potenciales de unión a través del puente salino son cero. Si además se supone que la actividad del M^{2+} en la solución es exactamente 1.00, el potencial se llama *potencial estándar de electrodo* del sistema y se le representa con el símbolo E^0 . Es decir, el potencial estándar de electrodo para una semirreacción es el potencial de electrodo cuando todos los reactivos y productos tienen actividad unitaria.

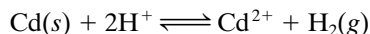
Si M en la figura es cobre, y si la actividad del ion cobre en la solución es 1.00, el compartimiento de la derecha es positivo, y el potencial observado es +0.337 V tal como se muestra en la figura. La reacción espontánea de la celda, que podría ocurrir si el voltímetro fuera reemplazado por un alambre, es



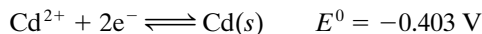
Debido a que el electrodo de hidrógeno está a la izquierda, el potencial medido es por definición el de electrodo para la semicelda $\text{Cu}-\text{Cu}^{2+}$. Observe que el electrodo de cobre es positivo respecto al electrodo de hidrógeno; por tanto se escribe



Si M en la figura 22.5 fuese cadmio en lugar de cobre, y la solución tuviese una actividad de ion cadmio de 1.00, el potencial observado sería -0.403 V. En este caso, el electrodo de cadmio es negativo y el potencial de la celda tendría un signo negativo. La reacción espontánea de celda es

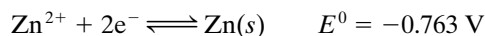
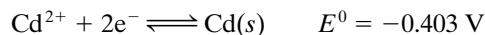
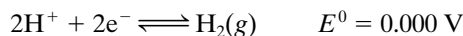
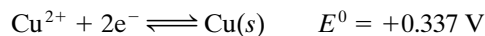


y se puede escribir



Un electrodo de cinc en una solución de ion cinc de actividad unitaria presenta un potencial de -0.763 V cuando se acopla con el electrodo estándar de hidrógeno. El electrodo de cinc es el electrodo negativo en la celda galvánica, y su potencial de electrodo es también negativo.

Los potenciales estándar de electrodo de las cuatro semiceldas antes descritas se pueden disponer en el orden



Las magnitudes de estos potenciales estándar de electrodo muestran las fuerzas relativas de las cuatro especies iónicas como receptores de electrones (agentes oxidantes). En otras palabras, se podrían acomodar los iones en orden decreciente respecto a su fuerza como

⁶A. D. McNaught y A. Wilkinson, *Compendium of Chemical Terminology* (The Gold Book), 2a. ed., p. 61, Malden, MA: Blackwell, 1997.

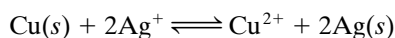
agentes oxidantes, $\text{Cu}^{2+} > \text{H}^+ > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$, o bien, ordenarlos según su fuerza creciente como agentes reductores, $\text{Cu} < \text{H}_2 < \text{Cd} < \text{Zn}$.

22C.5 Convención de signos para los potenciales de electrodo

Cuando se considera una reacción química normal, se dice que procede a partir de los reactivos en el lado izquierdo de la flecha a los productos en el lado derecho. De acuerdo con la convención de signos de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés), cuando se considera una celda electroquímica y su potencial resultante, también se tiene en cuenta que la reacción de la celda ocurre en cierta dirección. La convención en las celdas se llama la *regla derecha más*. Esto quiere decir que siempre se mide el potencial de la celda al conectar la terminal positiva del voltímetro al electrodo de la derecha en el esquema o dibujo de la celda (por ejemplo, el electrodo de Ag en el ejemplo que sigue), y la terminal de tierra del voltímetro al electrodo izquierdo, es decir, el electrodo de Cu.



Si se sigue siempre esta convención, el valor de E_{cel} es una medida de la tendencia que tiene la reacción en la celda de ocurrir de manera espontánea en la dirección escrita de izquierda a derecha. Es decir, la dirección del proceso global tiene al Cu metálico que se oxida para dar Cu^{2+} en el compartimiento de la izquierda y Ag^+ que es reducida para dar el metal Ag en el compartimiento de la derecha. En otras palabras, se considera que la reacción para el proceso que ocurre en la celda será

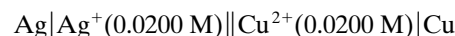


Consecuencias de la convención de la IUPAC

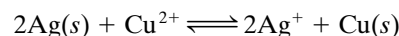
Tal vez no son obvios varios efectos de la convención de signos. Primero, si el valor medido de E_{cel} es positivo, el electrodo de la derecha es positivo respecto al electrodo del lado izquierdo, y el cambio de la energía libre de la reacción como está expresada es negativo de acuerdo con $\Delta G = -nFE_{\text{cel}}$ (ecuación 22.8). Por tanto, la reacción en la dirección que se está considerando ocurrirá de manera espontánea si la celda está en cortocircuito o conectada a algún dispositivo para desarrollar trabajo, por ejemplo, la luz de una lámpara, la potencia de un radio, el encendido de un automóvil. Por otro lado, si E_{cel} es negativo, el electrodo de la derecha es negativo respecto al electrodo izquierdo, el cambio de energía libre es positivo y la reacción en la dirección considerada (oxidación en la izquierda, reducción en la derecha) no es la reacción espontánea de la celda. En el caso de la celda anterior de cobre y

plata, $E_{\text{cel}} = +0.412\text{ V}$, y la oxidación del Cu y reducción de Ag^+ sucede de manera espontánea cuando la celda está conectada a un dispositivo y se le permite hacerlo.

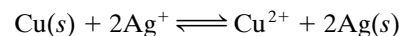
La convención de la IUPAC es consistente con los signos que los electrodos en realidad exhiben en una celda galvánica. Es decir, en la celda de Cu y Ag, el electrodo de Cu es rico en electrones (negativo) debido a que el Cu tiene tendencia a ser oxidado para dar Cu^{2+} , y el electrodo de Ag carece de electrones (positivo) debido a la tendencia de Ag^+ a ser reducida para obtener Ag. Cuando la celda galvánica se descarga en forma espontánea, el electrodo de plata es el cátodo y el electrodo de cobre es el ánodo. Observe que para la misma celda expresada en la dirección opuesta



el potencial de celda medido sería $E_{\text{cel}} = -0.412\text{ V}$, y la reacción considerada es



Esta *no* es la reacción espontánea de la celda porque E_{cel} es negativo y ΔG es entonces positivo. No importa para la celda qué electrodo está escrito a la derecha en el esquema y cuál está a la izquierda. La reacción espontánea de la celda *siempre* es



Por convención, se mide la celda de una manera estándar y se considera la reacción de la celda en una dirección estándar. Para finalizar, es necesario destacar que no importa cómo se elabore el esquema de la celda o cómo se le instale en el laboratorio: si se conecta un cable o un circuito de baja resistencia a la celda, la reacción espontánea de la celda ocurrirá. La única manera de alcanzar la reacción inversa es conectar una fuente de voltaje externa y forzar a que proceda la reacción electrolítica $2\text{Ag(s)} + \text{Cu}^{2+} \rightleftharpoons 2\text{Ag}^+ + \text{Cu(s)}$.

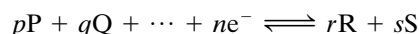
Potenciales de semicelda

El potencial de una celda como la que se ilustra en la figura 22.5 es la diferencia entre dos potenciales de semicelda o de electrodos únicos, uno asociado con la semirreacción en el electrodo de la derecha (E_{derecha}), el otro vinculado con la semirreacción en el electrodo izquierdo ($E_{\text{izquierda}}$). De acuerdo con la convención de signos de la IUPAC, siempre que el potencial de la unión líquida sea insignificante o no haya unión líquida, es posible escribir el potencial de la celda E_{cel} como $E_{\text{cel}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}}$ como se estableció en la ecuación 22.12. Aunque no se pueden determinar los potenciales absolutos de electrodos como éstos, sí se pueden determinar con facilidad potenciales de electrodo relativos, como se explica en la sección 22C.4.

Cualquier convención de signos se tiene que basar en procesos de semiceldas escritos de una sola manera, es decir, todos como oxidaciones o como reducciones. De acuerdo con la convención de la IUPAC, el término potencial de electrodo, o con más exactitud, potencial relativo de electrodo, se reserva en exclusiva para las semirreacciones expresadas como reducciones. No hay objeción en el uso del término *potencial de oxidación* para indicar un proceso de electrodo expresado en el sentido opuesto *pero un potencial de oxidación nunca debe ser llamado potencial de electrodo*.

22C.6 Efecto de la actividad en el potencial de electrodo

Considere la semirreacción



donde las letras mayúsculas representan las fórmulas de las especies reaccionantes, ya sea que estén cargadas o sin carga, e^- representa el electrón y las letras minúsculas cursivas indican el número de moles de cada especie (incluidos los electrones) que participan en la reacción de semicelda. A partir de los mismos argumentos que se usaron en el caso de la celda de platino-cloruro de plata-electrodo estándar de hidrógeno en la sección 22B.1, se obtiene

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_R)_i^r \cdot (a_S)_i^s \cdots}{(a_P)_i^p \cdot (a_Q)_i^q \cdots}$$

A temperatura ambiente (298 K), el grupo de constantes junto al término logarítmico tiene unidades de joules por coulomb o volt. Por tanto,

$$\begin{aligned} \frac{RT}{nF} + \frac{8.316 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} \times 298 \text{ K}}{n \times 96487 \text{ C mol}^{-1}} \\ = \frac{2.568 \times 10^{-2} \text{ J C}^{-1}}{n} = \frac{2.568 \times 10^{-2}}{n} \text{ V} \end{aligned}$$

Al convertir los logaritmos neperianos ($\ln$) a logaritmos decimales ($\log$) mediante la multiplicación por 2.303, la ecuación anterior puede escribirse como

$$E = E^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{(a_R)^r \cdot (a_S)^s \cdots}{(a_P)^p \cdot (a_Q)^q \cdots} \quad (22.13)$$

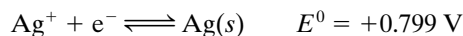
Por comodidad, se han eliminado los subíndices i que fueron introducidos con anterioridad como recordatorio de que los términos entre paréntesis representan concentraciones que no están en el equilibrio. A partir de ahora, *ya no se utilizan los subíndices*; no obstante, el estudiante debe tener en cuenta que los cocientes que aparecen en este tipo de ecuación *no son constantes de equilibrio*, a pesar de su aparente semejanza.

La ecuación 22.13 es una expresión general de la *ecuación de Nernst*, que puede aplicarse tanto a reacciones de semicelda como a reacciones de celda.

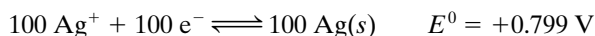
22C.7 Potencial estándar de electrodo, E^0

Un examen de la ecuación 22.13 revela que la constante E^0 es igual al potencial de semicelda cuando el término logarítmico es cero. Esta condición se cumple siempre que el cociente de actividades es igual a la unidad, como por ejemplo, cuando las actividades de todos los reactivos y productos son unitarias. Por consiguiente, el potencial estándar se define a menudo como el potencial de electrodo de una reacción de semicelda (contra electrodo estándar de hidrógeno) cuando la actividad de todos los reactivos y productos presentes es la unidad.

El potencial estándar de electrodo es una constante física importante que proporciona una descripción cuantitativa de la fuerza impulsora relativa de una reacción de semicelda. Tenga en cuenta los siguientes cuatro hechos que se relacionan con esta constante. 1) El potencial de electrodo depende de la temperatura, y si ésta es significativa es importante especificar la temperatura a la que se le determinó. 2) El potencial estándar de electrodo es una cantidad relativa en el sentido de que, en realidad, es el potencial de una celda electroquímica en la que el electrodo izquierdo es un electrodo de referencia cuidadosamente especificado, el electrodo estándar de hidrógeno, a cuyo potencial se *le asigna* un valor de cero. 3) El signo de un potencial estándar es idéntico al del conductor en el electrodo de la derecha en una celda galvánica, y el electrodo izquierdo es el electrodo estándar de hidrógeno. 4) El potencial estándar es una medida de la fuerza impulsora de una semirreacción. Como tal, es independiente de la notación empleada para expresar el proceso de semicelda. Por consiguiente, aunque el potencial para el proceso



depende de la concentración de los iones plata, es el mismo independientemente de si se escribe la semirreacción como antes o como



La ecuación de Nernst tiene que ser consistente con la semirreacción como haya sido escrita. Para la reacción escrita para una mol de plata, la ecuación de Nernst es

$$E = 0.799 - \frac{0.0592}{1} \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}}$$

y para 100 moles de plata

$$\begin{aligned} E &= 0.799 - \frac{0.0592}{100} \log \frac{1}{(a_{\text{Ag}^+})^{100}} \\ &= 0.799 - \frac{0.0592}{100} \left[100 \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \right] \\ &= 0.799 - \frac{0.0592}{1} \log \frac{1}{a_{\text{Ag}^+}} \end{aligned}$$

Los potenciales estándar de electrodo han sido tabulados para numerosas semirreacciones. Muchos fueron determinados directamente a partir de la medición de voltaje de celdas en las que un electrodo de hidrógeno o de algún otro tipo constituía la referencia. Sin embargo, es posible calcular los valores de E^0 a partir de estudios de equilibrio de sistemas de oxidación y reducción y a partir de datos termodinámicos relativos a tales reacciones. Muchos de los valores encontrados en la bibliografía se calcularon de esta manera.⁷

Con fines ilustrativos se dan algunos potenciales estándar de electrodo en la tabla 22.1; en el apéndice 3 se encuentra una tabla más extensa. Las especies situadas en la parte superior izquierda de las ecuaciones de la tabla 22.1 se reducen con más facilidad, como lo indican los elevados valores positivos de E^0 ; por tanto, son los agentes oxidantes más efectivos. Si se sigue hacia abajo en el lado izquierdo de la tabla, cada especie es un receptor de electrones menos efectiva que la que está arriba de ella, como lo indica su potencial estándar negativo creciente. Las reacciones de semicelda de la parte inferior de la tabla tienen poca tendencia a ocurrir como *reducciones* tal como están escritas. Por el contrario, tienden a efectuarse en sentido contrario, como *oxidaciones*. En consecuencia, los agentes reductores más eficaces son las especies que aparecen en el lado derecho en la parte inferior de las ecuaciones de la tabla.

Una recopilación de los potenciales estándar proporciona información referente a la extensión y sentido de las reacciones de transferencia de electrones entre las especies tabuladas. Por ejemplo, de acuerdo con la tabla 22.1, se ve que el cinc se oxida con más facilidad que el cadmio, y se deduce que cuando un trozo de cinc se sumerge en una solución de iones cadmio, el cadmio metálico se deposita en la superficie del cinc, el cual se disolverá y producirá iones cinc siempre que haya una concentración apreciable de iones cadmio en la solución. En cambio, el cadmio no tiene tendencia a reducir los iones de cinc, de modo que un trozo de cadmio sumergido en una solución de iones cinc no sufre cambios. En la tabla 22.1 también se muestra que el hierro(III) es mejor agente oxidante que el ion triyoduro. Por tanto, se puede predecir que en una solución que contiene una mezcla en equilibrio de hierro(III), yoduro, hierro(II) y iones triyoduro predominarán el hierro(II) y el triyoduro.

⁷Entre las fuentes extensas de potenciales estándar de electrodo se encuentran *Standard Electrode Potentials in Aqueous Solutions*, A. J. Bard, R. Parsons y J. Jordan, eds., Nueva York: Dekker, 1985; G. Milazzo, S. Caroli, y V. K. Sharma, *Tables of Standard Electrode Potentials*, Nueva York: Wiley-Interscience, 1978; M. S. Antelman y F. J. Harris, *Chemical Electrode Potentials*, Nueva York: Plenum Press, 1982. Algunas recopilaciones están ordenadas alfabéticamente por elemento; otras están tabuladas de acuerdo con el valor de E^0 .

TABLA 22.1 Potenciales estándar de electrodo.

Reacción	E^0 a 25°C, V
$\text{Cl}_2(g) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+1.359
$\text{O}_2(g) + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1.229
$\text{Br}_2(ac) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1.087
$\text{Br}_2(l) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1.065
$\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s)$	+0.799
$\text{Fe}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+0.771
$\text{I}_3^- + 2e^- \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0.536
$\text{Cu}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s)$	+0.337
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + 2\text{Cl}^-$	+0.268
$\text{AgCl}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{Cl}^-$	+0.222
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0.010
$2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2(g)$	0.000
$\text{AgI}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}(s) + \text{I}^-$	-0.151
$\text{PbSO}_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}(s) + \text{SO}_4^{2-}$	-0.350
$\text{Cd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cd}(s)$	-0.403
$\text{Zn}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Zn}(s)$	-0.763

Véase una lista más extensa en el apéndice 3.

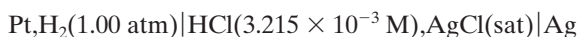
22C.8 Medición de los potenciales de electrodo

El electrodo estándar de hidrógeno es el patrón universal de referencia, pero hay que recalcar una vez más que, tal como se le describe, no puede construirse en el laboratorio; es un electrodo *hipotético* al que los potenciales determinados experimentalmente se pueden referir sólo mediante un cálculo apropiado. La razón por la que el electrodo no puede prepararse es que se desconoce cómo preparar una solución con una actividad de ion hidrógeno exactamente igual a la unidad. Ni la teoría de Debye-Hückel (véase apéndice 2), ni ninguna otra teoría de soluciones de electrolitos permite determinar el coeficiente de actividad de los iones hidrógeno en soluciones con una fuerza iónica que se aproxime a la unidad, tal como exige la definición del electrodo estándar de hidrógeno. Por consiguiente, la *concentración* requerida de HCl o de otro ácido para dar una actividad de ion hidrógeno igual a la unidad no se puede calcular con exactitud. No obstante esta limitación, los datos de soluciones más diluidas de ácidos, para las cuales el coeficiente de actividad se puede determinar, se pueden usar para evaluar potenciales *hipotéticos* en actividad unitaria. El ejemplo siguiente ilustra la manera en que pueden obtenerse los potenciales estándar.

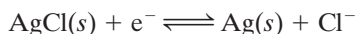
EJEMPLO 22.1

D.A. MacInnes⁸ encontró que una celda sin unión líquida similar a la de la figura 22.2 desarrollaba un potencial de 0.52053 V. La celda se describe mediante

⁸D. A. MacInnes, *The Principles of Electrochemistry*, p. 187, Nueva York: Reinhold, 1939.



Calcule el potencial estándar de electrodo para la semirreacción

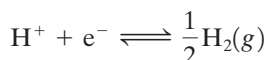


Solución

El potencial de electrodo para el electrodo de la derecha es

$$\begin{aligned} E_{\text{derecha}} &= E_{\text{AgCl}}^0 = 0.0592 \log a_{\text{Cl}^-} \\ &= E_{\text{AgCl}}^0 - 0.0592 \log \gamma_{\text{Cl}^-} c_{\text{HCl}} \end{aligned}$$

donde γ_{Cl^-} es el coeficiente de actividad del Cl^- . La reacción de la semicelda izquierda es



y

$$\begin{aligned} E_{\text{izquierda}} &= E_{\text{H}_2}^0 - \frac{0.0592}{1} \log \frac{P_{\text{H}_2}^{1/2}}{a_{\text{H}^+}} \\ &= E_{\text{H}_2}^0 - \frac{0.0592}{1} \log \frac{P_{\text{H}_2}^{1/2}}{\gamma_{\text{H}^+} c_{\text{HCl}}} \end{aligned}$$

El potencial medido es la diferencia entre estos potenciales de semicelda (ecuación 22.12):

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= (E_{\text{AgCl}}^0 - 0.0592 \log \gamma_{\text{Cl}^-} c_{\text{HCl}}) \\ &\quad - \left(0.000 - 0.0592 \log \frac{P_{\text{H}_2}^{1/2}}{\gamma_{\text{H}^+} c_{\text{HCl}}} \right) \end{aligned}$$

Al combinar los dos términos logarítmicos se obtiene

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{AgCl}}^0 - 0.0592 \log \frac{\gamma_{\text{H}^+} \gamma_{\text{Cl}^-} c_{\text{HCl}}^2}{P_{\text{H}_2}^{1/2}}$$

Los coeficientes de actividad del H^+ y del Cl^- se calculan a partir de la ecuación a2-3 (apéndice 2) tomando 3.215×10^{-3} para la fuerza iónica μ ; estos valores son 0.945 y 0.939, respectivamente. La sustitución de estos coeficientes de actividad y de los datos experimentales en la ecuación anterior da, después de reordenar los términos

$$\begin{aligned} E_{\text{AgCl}}^0 &= 0.5203 \\ &\quad + 0.0592 \log \left[\frac{(3.215 \times 10^{-3})^2 (0.945)(0.939)}{1.00^{1/2}} \right] \\ &= 0.2223 \approx 0.222 \text{ V} \end{aligned}$$

(La media de esta y de otras medidas similares a otras concentraciones de HCl fue 0.222 V.)

22C.9 Cálculo de los potenciales de semicelda a partir de valores de E^0

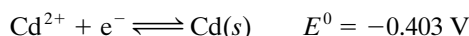
Las aplicaciones características de la ecuación de Nernst al cálculo de potenciales de semicelda se ilustran con los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 22.2

¿Cuál es el potencial de electrodo de una semicelda que consta de un electrodo de cadmio sumergido en una solución 0.0150 M en Cd^{2+} ?

Solución

En la tabla 22.1 se encuentra



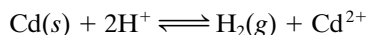
Se supone que $a_{\text{Cd}^{2+}} \approx [\text{Cd}^{2+}]$ y se escribe

$$E_{\text{Cd}} = E_{\text{Cd}}^0 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{[\text{Cd}^{2+}]}$$

Al sustituir la concentración de Cd^{2+} en esta ecuación se obtiene

$$E_{\text{Cd}} = -0.403 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{0.0150} = -0.457 \text{ V}$$

El signo del potencial que se calculó en el ejemplo anterior indica el sentido de la reacción cuando esta semicelda se acopla con el electrodo estándar de hidrógeno. El hecho que sea negativo indica que la reacción



tiene lugar espontáneamente. Observe que el potencial calculado es un número negativo mayor que el propio potencial estándar de electrodo. Esto se deduce de consideraciones relacionadas con la ley de masa porque la semirreacción, tal como está escrita, tiene menos tendencia a ocurrir a concentraciones más bajas de ion cadmio.

EJEMPLO 22.3

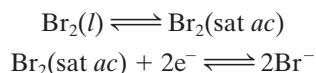
Calcule el potencial de un electrodo de platino sumergido en una solución preparada al saturar con Br_2 una solución 0.0150 M de KBr.

Solución

Aquí, la semirreacción es



Observe que el término l que sigue al Br_2 indica que la solución acuosa se satura con Br_2 líquido. Por consiguiente, el proceso global es la suma de dos equilibrios



Si se supone que $[\text{Br}^-] = a_{\text{Br}^-}$, la ecuación de Nernst para el proceso global es

$$E = 1.065 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Br}^-]^2}{1.00}$$

La actividad del Br_2 en el líquido puro es constante e igual a 1.00 por definición. Entonces,

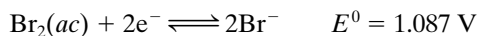
$$\begin{aligned}E &= 1.065 - \frac{0.0592}{2} \log (0.0150)^2 \\ &= 1.173 \text{ V}\end{aligned}$$

EJEMPLO 22.4

Calcule el potencial de un electrodo de platino sumergido en una solución que es 0.0150 M en KBr y 1.00×10^{-3} M en Br_2 .

Solución

En este ejemplo, la semirreacción que se utilizó en el ejemplo anterior *no se aplica debido a que la solución ya no está saturada con Br_2* . Sin embargo, la tabla 22.1 contiene la semirreacción



El término (ac) indica que todo el Br_2 presente está en solución y que 1.087 V es el potencial de electrodo para la semirreacción cuando las actividades del Br^- y $\text{Br}_2(\text{ac})$ son 1.00 mol/L. Resulta entonces que la solubilidad del Br_2 en agua a 25°C es sólo de aproximadamente 0.18 mol/L. Por tanto, el potencial registrado de 1.087 V se basa en un sistema hipotético que no puede llevarse a cabo en forma experimental. Sin embargo, este potencial es útil porque proporciona el medio por el que se pueden calcular los potenciales de sistemas por debajo de la saturación. Por consiguiente, si se supone que las actividades de los solutos son iguales a sus concentraciones molares, se obtiene

$$\begin{aligned}E &= 1.087 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Br}^-]^2}{[\text{Br}_2]} \\ E &= 1.087 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{(1.50 \times 10^{-2})^2}{1.00 \times 10^{-3}} \\ &= 1.106 \text{ V}\end{aligned}$$

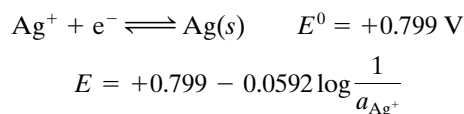
En este caso, la actividad del Br_2 es 1.00×10^{-3} en vez de 1.00, como era el caso cuando la disolución era saturada y estaba presente un exceso de $\text{Br}_2(l)$.

22C.10 Potenciales de electrodo en presencia de reactivos de precipitación y formadores de complejos

El siguiente ejemplo muestra que las sustancias que reaccionan con los participantes en un proceso de electrodo tienen un acusado efecto sobre el potencial de ese proceso.

EJEMPLO 22.5

Calcule el potencial de un electrodo de plata en una solución que está saturada con yoduro de plata y tiene una actividad de ion yoduro de exactamente 1.00 (K_{ps} para el $\text{AgI} = 8.3 \times 10^{-17}$).



Solución

Se puede calcular a_{Ag^+} a partir de la constante del producto de solubilidad. Entonces,

$$a_{\text{Ag}^+} = \frac{K_{\text{pe}}}{a_{\text{I}^-}}$$

Al sustituir esta expresión en la ecuación de Nernst se obtiene

$$E = +0.799 - \frac{0.0592}{1} \log \frac{a_{\text{I}^-}}{K_{\text{pe}}}$$

Esta ecuación se puede reescribir como

$$E = +0.799 + 0.0592 \log K_{\text{pe}} - 0.0592 \log a_{\text{I}^-} \quad (22.14)$$

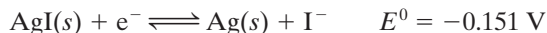
Si se sustituye 1.00 por a_{I^-} y se utiliza 8.3×10^{-17} para el K_{pe} , el producto de solubilidad del AgI a 25.0°C, se obtiene

$$\begin{aligned}E &= +0.799 + 0.0592 \log 8.3 \times 10^{-17} \\ &\quad - 0.0592 \log 1.00 = -0.151 \text{ V}\end{aligned}$$

Este ejemplo muestra que el potencial de semicelda para la reducción del ion plata disminuye en presencia de iones yoduro. Desde el punto de vista cualitativo, este es el efecto esperado porque la disminución en la concentración de los iones plata disminuye su tendencia a reducirse.

La ecuación 22.14 relaciona el potencial de un electrodo de plata con la actividad del ion yoduro de una solución que está también saturada con yoduro de plata.

Cuando la actividad del ion yoduro es igual a la unidad, el potencial es la suma de dos constantes; por tanto, es el potencial estándar de electrodo para la semirreacción



donde

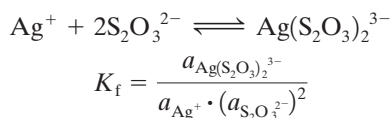
$$E_{\text{AgI}}^0 = +0.799 + 0.0592 \log K_{\text{pe}}$$

La relación de Nernst para el electrodo de plata en una solución saturada con yoduro de plata puede entonces escribirse como

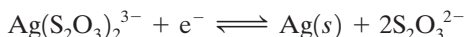
$$E = E^0 - 0.0592 \log a_{\text{I}^-} = -0.151 - 0.0592 \log a_{\text{I}^-}$$

Por tanto, en contacto con una solución saturada de yoduro de plata, el potencial del electrodo de plata puede describirse tanto en términos de la actividad del ion plata (con el potencial estándar de electrodo para la sencilla semirreacción de la plata) como en términos de la actividad del ion yoduro (con el potencial estándar de electrodo de la semirreacción plata-yoduro de plata). Por lo regular, esta última es la más adecuada.

El potencial de un electrodo de plata en una solución que contiene un ion que forma un complejo soluble con el ion plata puede tratarse de manera análoga al anterior. Por ejemplo, en una solución que contiene iones tiosulfato y plata, tiene lugar la formación del complejo:



donde K_f es la constante de formación del complejo. La semirreacción para un electrodo de plata en tal solución se puede escribir como



El potencial estándar de electrodo para esta semirreacción es el potencial de electrodo cuando el complejo y el anión complejante tienen una actividad igual a la unidad. Al utilizar el mismo enfoque que en el ejemplo precedente se encuentra que

$$E^0 = +0.799 + 0.0592 \log \frac{1}{K_f} \quad (22.15)$$

Los datos para el potencial del electrodo de plata en presencia de iones seleccionados se dan en las tablas de potenciales estándar de electrodo en el apéndice 3 y en la tabla 22.1. También se proporciona información similar para otros sistemas de electrodos. Con frecuencia, estos datos simplifican el cálculo de potenciales de semicelda.

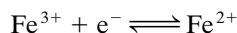
22C.11 Algunas limitaciones en el uso de los potenciales estándar de electrodo

Los potenciales estándar de electrodo son de gran importancia para entender los procesos electroanalíticos. Sin embargo, hay ciertas limitaciones inherentes a su uso que deben valorarse.

Sustitución de actividades por concentraciones

En general, por razones de conveniencia se utilizan las concentraciones molares de las especies reactivas en vez de las actividades en los cálculos con la ecuación de Nernst. Por desgracia, estas dos cantidades son idénticas *nada más en soluciones diluidas*. Con el aumento de las concentraciones de electrolito, los potenciales calculados mediante las concentraciones molares son muy distintos de los obtenidos mediante experimentación.

Como ilustración, el potencial estándar de electrodo para la semirreacción



es +0.771 V. Sin tomar en cuenta las actividades, se pronostica que un electrodo de platino sumergido en una solución que contiene 1 mol/L de cada uno de los iones Fe^{3+} y Fe^{2+} además de ácido perclórico presentaría un potencial numéricamente igual a este valor respecto al electrodo estándar de hidrógeno. De hecho, se mide un potencial de +0.732 V cuando la concentración de ácido perclórico es 1 M. La razón de esta discrepancia se hace evidente si se escribe la ecuación de Nernst en la forma

$$E = E^0 - 0.0592 \log \frac{\gamma_{\text{Fe}^{2+}} [\text{Fe}^{2+}]}{\gamma_{\text{Fe}^{3+}} [\text{Fe}^{3+}]}$$

donde $\gamma_{\text{Fe}^{2+}}$ y $\gamma_{\text{Fe}^{3+}}$ son los respectivos coeficientes de actividad. En este sistema los coeficientes de actividad de las dos especies son menores que la unidad debido a la elevada fuerza iónica impuesta por el ácido perclórico y las sales de hierro. Sin embargo, lo más importante es que el coeficiente de actividad del ion hierro (III) es menor que el del ion hierro(II). Entonces, la relación de los coeficientes de actividad tal como aparecen en la ecuación de Nernst es superior a la unidad, y el potencial de la semicelda es más pequeño que el potencial estándar.

Los datos de los coeficientes de actividad para iones en solución que suelen encontrarse en las titulaciones de oxidación y reducción y en el trabajo electroquímico son bastante limitados. Por tanto, se deben utilizar las concentraciones molares en vez de las actividades en muchos cálculos. Al usar las concentraciones molares a veces se producen errores importantes. No obs-



Clase interactiva: aprenda más acerca de los potenciales estándar de la celda.

tante, dichos cálculos son útiles porque los cambios relativos en los valores están a menudo próximos a los correctos, y la dirección y la magnitud de los cambios son exactas para muchos fines.

Efectos de otros equilibrios

La aplicación de los potenciales estándar de electrodo se complica aún más por la presencia de reacciones de solvatación, disociación, asociación y formación de complejos en las que participan las especies de interés. Se encuentra un ejemplo de este problema en el comportamiento del potencial de la pareja hierro(III) y hierro(II). Como ya se mencionó, una mezcla equimolar de estos dos iones en ácido perclórico 1 M tiene un potencial de electrodo de +0.732 V. La sustitución por ácido clorhídrico de la misma concentración cambia el potencial observado hasta +0.700 V, y se observa un valor de +0.600 V en ácido fosfórico 1 M. Estas diferencias se originan porque el hierro(III) forma complejos más estables con iones cloruro y fosfato que el hierro(II). Como resultado, la concentración real de hierro(III) *no complejoado* en tales soluciones es menor que la del hierro(II) *no complejoado* y el efecto neto es un desplazamiento en el potencial observado.

Los potenciales se pueden corregir respecto a este efecto sólo si los equilibrios relacionados se conocen y si se dispone de las constantes de equilibrio de los procesos. Pero con frecuencia se carece de tal información, por esa razón el investigador se ve forzado a ignorar tales efectos y esperar que no surjan errores graves en los resultados calculados.

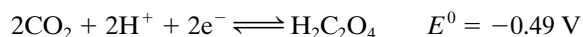
Potenciales formales

Con objeto de compensar en parte los efectos de la actividad y los errores resultantes de reacciones laterales, como las descritas en el apartado previo, Swift propuso usar una cantidad llamada *potencial estándar* E^0 en lugar del potencial estándar de electrodo en los cálculos de óxido-reducción.⁹ El potencial formal de un sistema, a veces llamado *potencial condicional*, es un potencial de semicelda respecto al electrodo estándar de hidrógeno cuando las concentraciones de los reactivos y los productos son 1 M y están cuidadosamente especificadas las concentraciones de cualquier otro constituyente de la solución. Entonces, por ejemplo, el potencial formal para la reducción del hierro (III) es +0.732 V en ácido perclórico 1 M y +0.700 V en ácido clorhídrico 1 M. Al utilizar estos valores en lugar del potencial estándar de electrodo en la ecuación de Nernst se alcanzará una mejor concordancia entre los potenciales calculados y los experimentales, siempre que la concentración de electrolito de la solución se

aproxime a la concentración en la que se midió el potencial formal. La aplicación de los potenciales formales a sistemas que difieren mucho en composición y concentración de electrolito ocasiona errores mayores que los que se ocasionan con la utilización de los potenciales estándar. La tabla del apéndice 3 contiene potenciales formales seleccionados, así como potenciales estándar, y en los capítulos siguientes se emplea el que sea más apropiado.

Velocidades de reacción

Tenga en cuenta que la presencia de una semirreacción en una tabla de potenciales de electrodo no significa necesariamente que exista un electrodo real cuyo potencial corresponda a la semirreacción. Muchos de los datos de tales tablas se calcularon a partir de datos de equilibrio o térmicos y, por consiguiente, no hay medidas reales del potencial de un sistema de electrodos de interés. Para algunas semirreacciones se desconoce un electrodo adecuado. Por ejemplo, el potencial estándar de electrodo para el proceso



se determinó de manera indirecta. La reacción de electrodo es irreversible y la velocidad a la que el dióxido de carbono se combina para dar ácido oxálico es insignificante. Se desconoce un sistema de electrodos cuyo potencial varíe en la forma esperada con la relación de las actividades de los reactivos y los productos de esta reacción. A pesar de la inexistencia de mediciones directas, el potencial que se reporta es útil para propósitos de cálculo.

22D CÁLCULO DE POTENCIALES DE CELDA A PARTIR DE POTENCIALES DE ELECTRODO

Una aplicación importante de los potenciales estándar de electrodo es el cálculo del potencial que se puede obtener de una celda galvánica o el potencial requerido para operar una celda electrolítica. Estos potenciales calculados, a veces llamados potenciales termodinámicos, son teóricos en el sentido de que se refieren a celdas en las que no hay paso de corriente.¹⁰ Cuando hay paso de corriente en la celda se deben tener en cuenta otros factores. Por otro lado, estos potenciales no toman en cuenta los potenciales de unión dentro de la celda. Normalmente, estos últimos se pueden hacer lo suficientemente pequeños para considerarlos insignificantes sin que causen errores graves.

⁹E. H. Swift, *A System of Chemical Analysis*, p. 50, San Francisco: Freeman, 1939.

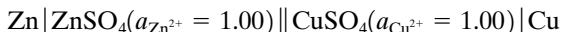
¹⁰En efecto, con los voltímetros modernos de alta impedancia (hasta $10^{15} \Omega$) los potenciales de celda se pueden medir en condiciones esencialmente de corriente cero, de modo que la diferencia entre potenciales de celda teóricos y prácticos se vuelve ínfima.

Como se vio en la ecuación 22.12, se calcula el voltaje de una celda a partir de la diferencia entre dos potenciales de semicelda tal como sigue

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}}$$

donde E_{derecha} y $E_{\text{izquierda}}$ son los *potenciales de electrodo* para las dos semirreacciones que constituyen la celda.

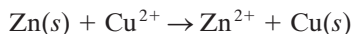
Considérese la celda hipotética



Como las actividades de los dos iones son iguales a la unidad, los potenciales estándar son también los potenciales de electrodo. Entonces, al usar los datos de E^0 de la tabla 22.1,

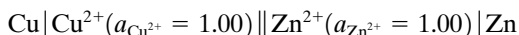
$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} = E_{\text{Cu}}^0 - E_{\text{Zn}}^0 \\ &= +0.337 - (-0.763) = +1.100 \text{ V} \end{aligned}$$

El signo positivo para el potencial de celda indica que la reacción



tiene lugar espontáneamente en condiciones estándar, y el cinc elemental se oxida a cinc(II) y el cobre(II) se reduce a cobre metálico.

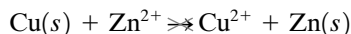
Si la celda precedente se expresa en el sentido inverso, es decir, como



el potencial de celda se expresa como

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} = E_{\text{Zn}}^0 - E_{\text{Cu}}^0 \\ &= -0.763 - (+0.337) = -1.100 \text{ V} \end{aligned}$$

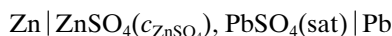
El signo negativo indica que la reacción siguiente no es espontánea en condiciones estándar.



Por tanto, se requiere la aplicación de un potencial externo mayor a 1.100 V para hacer que esta reacción tenga lugar.

EJEMPLO 22.6

Calcule los potenciales para la siguiente celda mediante a) concentraciones y b) actividades:



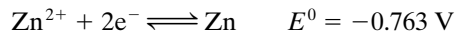
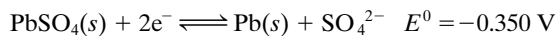
donde $c_{\text{ZnSO}_4} = 5.00 \times 10^{-4}$, 2.00×10^{-3} , 1.00×10^{-2} , 2.00×10^{-2} y 5.00×10^{-2} .

Solución

a) En una solución neutra se forma poco HSO_4^- ; por tanto, se supone que

$$[\text{SO}_4^{2-}] = c_{\text{ZnSO}_4} = 5.00 \times 10^{-4}$$

Las semirreacciones y los potenciales estándar son



El potencial del electrodo de plomo es

$$\begin{aligned} E_{\text{Pb}} &= -0.350 - \frac{0.0592}{2} \log 5.00 \times 10^{-4} \\ &= -0.252 \text{ V} \end{aligned}$$

La concentración de ion cinc es también 5.00×10^{-4} y

$$\begin{aligned} E_{\text{Zn}} &= -0.763 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{5.00 \times 10^{-4}} \\ &= -0.860 \text{ V} \end{aligned}$$

Puesto que se especifica que el electrodo de Pb es el de la derecha,

$$E_{\text{cel}} = -0.252 \text{ V} - (-0.860 \text{ V}) = 0.608 \text{ V}$$

Los potenciales de celda a las otras concentraciones se pueden calcular de la misma manera. Sus valores se dan en la columna a) de la tabla 22.2.

b) Para calcular los coeficientes de actividad del Zn^{2+} y del SO_4^{2-} , primero se tiene que determinar la fuerza iónica con ayuda de la ecuación a2.3 (apéndice 2). Se supone que las concentraciones de Pb^{2+} , H^+ y OH^- son insignificantes respecto a las concentraciones de Zn^{2+} y SO_4^{2-} . Por consiguiente, la fuerza iónica es

$$\begin{aligned} \mu &= \frac{1}{2} [5.00 \times 10^{-4} \times (2)^2 + 5.00 \times 10^{-4} \times (2)^2] \\ &= 2.00 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

En la tabla a2.1, se encuentra para el SO_4^{2-} , $\alpha_A = 0.4$ y para el Zn^{2+} , $\alpha_A = 0.6$. La sustitución de estos valores en la ecuación a2.3 se obtiene para el ion sulfato

$$\begin{aligned} -\log \gamma_{\text{SO}_4^{2-}} &= \frac{0.0509 \times 2^2 \times \sqrt{2.00 \times 10^{-3}}}{1 + 3.28 \times 0.4 \times \sqrt{2.00 \times 10^{-3}}} \\ &= 0.859 \times 10^{-2} \\ \gamma_{\text{SO}_4^{2-}} &= 0.820 \\ a_{\text{SO}_4^{2-}} &= 0.820 \times 5.00 \times 10^{-4} \\ &= 4.10 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

Se repiten los cálculos con $\alpha_A = 0.6$ para el Zn^{2+} y se obtiene

$$\begin{aligned} \gamma_{\text{Zn}^{2+}} &= 0.825 \\ a_{\text{Zn}^{2+}} &= 4.13 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

TABLA 22.2 Potenciales calculados para una celda con base en
a) concentraciones y b) actividades (véase ejemplo 22.6).

$c_{\text{ZnSO}_4}, \text{M}$	μ	a) E (calc.), V	b) E (cal.), V	E (experim.)*, V
5.00×10^{-4}	2.00×10^{-3}	0.608	0.613	0.611
2.00×10^{-3}	8.00×10^{-3}	0.572	0.582	0.583
1.00×10^{-2}	4.00×10^{-2}	0.531	0.549	0.553
2.00×10^{-2}	8.00×10^{-2}	0.513	0.537	0.542
5.00×10^{-2}	2.00×10^{-1}	0.490	0.521	0.529

*Información experimental tomada de I. A. Cowperthwaite y V. K. LaMer, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1931**, 53, p. 4333.

Tome en cuenta que el potencial de esta celda disminuye de manera espectacular cuando hay corriente en la celda.

La ecuación de Nernst para el electrodo de Pb vuelve entonces

$$E_{\text{Pb}} = -0.350 - \frac{0.0592}{2} \times \log 4.10 \times 10^{-4} \\ = -0.250$$

Para el electrodo de cinc

$$E_{\text{Zn}} = -0.763 - \frac{0.0592}{2} \times \log \frac{1}{4.13 \times 10^{-4}} \\ = -0.863$$

y

$$E_{\text{cel}} = -0.250 - (-0.863) = 0.613 \text{ V}$$

Observe que el valor que se calcula con las concentraciones (0.608 V) es de alrededor de 1% diferente de este valor. Los valores a otras concentraciones se muestran en la columna b) de la tabla 22.2.

Es interesante comparar los potenciales de celda calculados que se muestran en las columnas a) y b) de la tabla 22.2 con los resultados experimentales que se muestran en la última columna. Sin duda, el empleo de actividades proporciona una mejora importante a las fuerzas iónicas más altas.

22E CORRIENTES EN CELDAS ELECTROQUÍMICAS

Sólo un tipo general de método electroanalítico se basa en mediciones realizadas en ausencia de corriente apreciable, a saber, los métodos potenciométricos, que se tratan en el capítulo 23. Los restantes métodos, que se estudian en los capítulos 24 y 25, se relacionan con corrientes eléctricas y mediciones de corrientes. Por tanto, es necesario considerar el comportamiento de las celdas en presencia de corrientes significativas.

Como ya se señaló, la electricidad es transportada dentro de la celda por el movimiento de los iones. Con corrientes pequeñas, se cumple en general la ley de

Ohm (véase sección 2A.1), por lo que se puede escribir $E = IR$, donde E es la diferencia de potencial en volts responsable del movimiento de los iones, I es la corriente en amperes y R es la resistencia en ohms que el electrolito presenta al paso de la corriente. La resistencia depende de la naturaleza y la concentración de los iones en solución.

Cuando hay una corriente continua en una celda electroquímica, el potencial de celda medido difiere en general del termodinámico que se calcula como se demostró en la sección 22B. Esta diferencia puede atribuirse a cierto número de fenómenos, como la resistencia óhmica y diversos *efectos de polarización*, como *el exceso de voltaje de transferencia de carga*, *el exceso de voltaje de reacción*, *el exceso de voltaje de difusión* y *el exceso de voltaje de cristalización*. En general, estos fenómenos reducen el voltaje de una celda galvánica o incrementan el voltaje necesario para producir una corriente en una celda electrolítica.

22E.1 Potencial óhmico: caída de IR

Para que circule una corriente tanto en una celda galvánica como en una electrolítica, se requiere una fuerza impulsora en forma de un voltaje para vencer la resistencia que presentan los iones a moverse hacia el ánodo y el cátodo. Al igual que en la conducción metálica, esta fuerza sigue la ley de Ohm y es igual al producto de la intensidad de corriente en amperes y la resistencia de la celda en ohms. Este voltaje se conoce como *potencial óhmico*, o *caída de IR*.

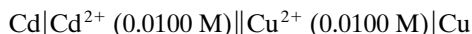
El efecto neto de la caída de IR es el aumento del potencial requerido para operar una celda electrolítica y la disminución del potencial medido en una celda galvánica. Por consiguiente, la caída de IR siempre se resta del potencial de celda teórico. Es decir,¹¹

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} - IR \quad (22.16)$$

¹¹ En este análisis y en los siguientes se supondrá que el potencial de unión es insignificante frente a los otros potenciales.

EJEMPLO 22.7

La siguiente celda tiene una resistencia de $4.00\ \Omega$. Calcule su potencial cuando produce una corriente de $0.100\ \text{A}$.

**Solución**

Al sustituir los potenciales estándar y las concentraciones en la ecuación de Nernst se observa que el potencial para el electrodo de Cu es $0.278\ \text{V}$ y para el electrodo de Cd es $-0.462\ \text{V}$. Por consiguiente, el potencial de celda termodinámico es

$$E = E_{\text{Cu}} - E_{\text{Cd}} = 0.278 - (-0.462) = 0.740\ \text{V}$$

y el potencial que produce la corriente deseada es

$$\begin{aligned} E_{\text{cel}} &= 0.740\ \text{V} - IR \\ &= 0.740\ \text{V} - (0.100\ \text{A} \times 4.00\ \Omega) = 0.340\ \text{V} \end{aligned}$$

EJEMPLO 22.8

Calcule el potencial necesario para generar una corriente de $0.100\ \text{A}$ en sentido inverso en la celda del ejemplo 22.7.

Solución

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{Cd}} - E_{\text{Cu}} \\ &= -0.462\ \text{V} - 0.278\ \text{V} = -0.740\ \text{V} \\ E_{\text{cel}} &= E - IR \\ &= -0.740\ \text{V} - (0.100\ \text{A} \times 4.00\ \Omega) = -1.140\ \text{V} \end{aligned}$$

En este ejemplo se necesita un potencial externo superior a $1.140\ \text{V}$ para hacer que el Cd^{2+} se deposite y que el Cu se disuelva a la velocidad requerida para una intensidad de corriente de $0.100\ \text{A}$.

22E.2 Polarización

En varios métodos electroanalíticos importantes se mide la corriente en una celda en función del potencial y la corriente constructiva frente a curvas de voltaje a partir de los datos. La ecuación 22.16 predice una relación lineal entre el voltaje de celda y la corriente a potenciales de electrodo constantes. De hecho, las curvas corriente-voltaje son con frecuencia no lineales en los extremos; en estas condiciones, la celda está *polarizada*. La polarización ocurre a veces en uno o en ambos electrodos.

Como introducción a esta discusión, es útil considerar la curvas corriente-voltaje para un *electrodo polarizado ideal* y para un *electrodo no polarizado ideal*. La polarización en un solo electrodo se puede estudiar acoplándolo con uno que no se polarice con facilidad. Estos electrodos se caracterizan por tener una gran área superficial y por tener reacciones de semicelda que son rápidas y reversibles. En los capítulos siguientes se encuentran detalles del diseño de electrodos no polarizables.

Celdas y electrodos polarizados y no polarizados ideales

En un electrodo polarizado ideal la intensidad de corriente permanece constante e independiente del potencial en un intervalo considerable. La figura 22.6a es una curva corriente-voltaje de un electrodo que está polarizado idealmente en la región entre A y B. La figura 22.6b representa la relación corriente-voltaje para un electrodo no polarizado que se comporta idealmente en la región entre A y B. En el caso de este electrodo, el potencial es independiente de la corriente.

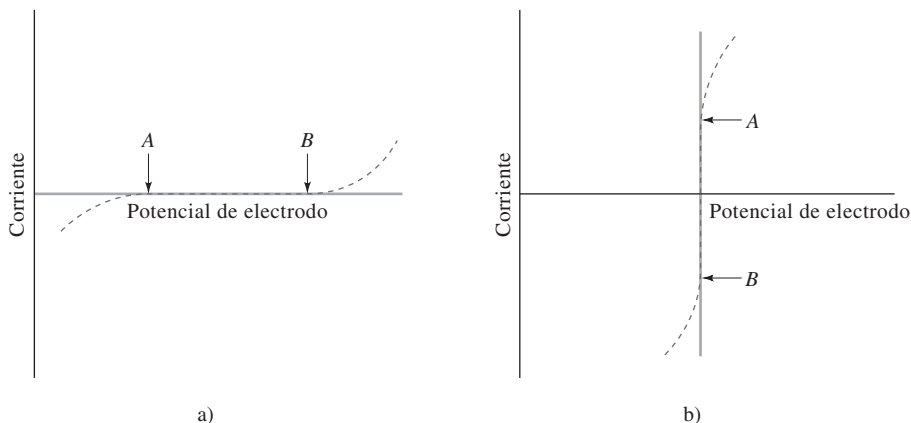


FIGURA 22.6 Curvas corriente-voltaje (líneas grises) para un electrodo a) polarizado ideal y b) no polarizado ideal. Las líneas discontinuas muestran la desviación del comportamiento ideal que sufren los electrodos reales.

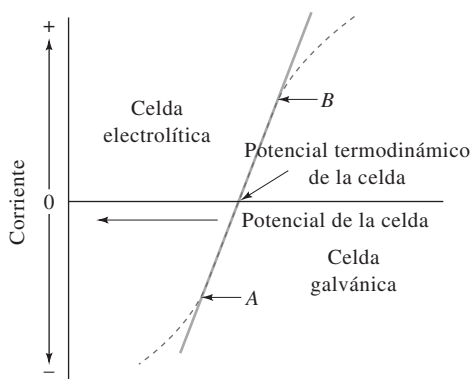
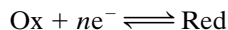


FIGURA 22.7 Curva corriente-voltaje para una celda que muestra un comportamiento no polarizado ideal entre *A* y *B* (línea gris inclinada) y un comportamiento polarizado (línea discontinua).

La figura 22.7 es una curva corriente-voltaje para una celda que tiene electrodos que manifiestan un comportamiento no polarizado ideal entre los puntos *A* y *B*. Debido a la resistencia interna de la celda, la curva tiene una pendiente finita igual a R (ecuación 22.16) en vez de la pendiente infinita del electrodo no polarizado ideal que se muestra en la figura 22.6b y se apega a la ley de Ohm. Después de los puntos *A* y *B*, tiene lugar la polarización de uno o de ambos electrodos, lo que da lugar a desviaciones de la línea recta ideal. La mitad superior de la curva da la relación corriente-voltaje cuando la celda funciona como una celda electrolítica; la mitad inferior describe su comportamiento como celda galvánica.¹² Observe que cuando la polarización se produce en una celda electrolítica, se requiere un potencial mayor que el pronosticado a partir de la recta ideal para alcanzar una corriente dada. De manera similar, la polarización de una celda galvánica produce un potencial que es menor que el esperado.

Orígenes de la polarización en las celdas electrolíticas

En la figura 22.8 se representan las tres regiones de una semicelda en una celda electrolítica en la que puede tener lugar la polarización. Estas regiones incluyen el propio electrodo, una capa superficial de solución inmediatamente adyacente al electrodo y el seno de la solución. Para esta semicelda, la reacción de electrodo global es



Cualquiera de las diversas etapas intermedias que se muestran en la figura podría limitar la velocidad a la cual transcurre la reacción global y, por tanto, la magnitud de la corriente. Una de estas etapas en la reac-

ción, denominada *transferencia de masa*, involucra el movimiento de la forma Ox desde el seno de la solución hasta la capa superficial. Cuando esta etapa, o la transferencia de masa inversa de la forma Red al seno de la solución, limita la velocidad de la reacción global y, por tanto, de la intensidad de corriente, se tiene *polarización de concentración*. Algunas reacciones de semicelda son precedidas por una reacción química intermedia en la cual se forman especies tales como Ox' o Red' este producto intermedio es entonces el participante real en el proceso de transferencia de electrones. Si la velocidad de formación o de descomposición de tales productos intermedios limita la intensidad de corriente, se dice que está presente una *polarización de reacción*. En algunos casos, la velocidad de un proceso físico tal como la adsorción, la desorción o la cristalización es lo que limita la intensidad de corriente. En estos casos ocurre una *polarización de adsorción, de desorción o de cristalización*. Para finalizar, cuando la intensidad de corriente está limitada por una lenta velocidad de transferencia de electrones desde el electrodo hacia las especies oxidadas en la capa superficial o desde las especies reducidas hacia el electrodo se tiene entonces *polarización de transferencia de carga*. Es común encontrar que varios tipos de polarización ocurren de manera simultánea.

Exceso de voltaje

El grado de polarización de un electrodo en una celda electrolítica se mide por el *exceso de voltaje* o *exceso de potencial*, η , que es la diferencia entre el potencial real del electrodo E y el potencial termodinámico o potencial de equilibrio E_{eq} . Es decir,

$$\eta = E - E_{\text{eq}} \quad (22.17)$$

En este caso, η es el potencial adicional más allá del valor termodinámico necesario para hacer que tenga lugar la reacción a una velocidad apreciable. En el caso de las reacciones catódicas en las que E_{eq} es negativo, E tiene que ser más negativo que E_{eq} , y η es negativo. En el caso de las reacciones anódicas en las que E_{eq} es positivo, E tiene que ser más positivo que E_{eq} , y η es positivo.

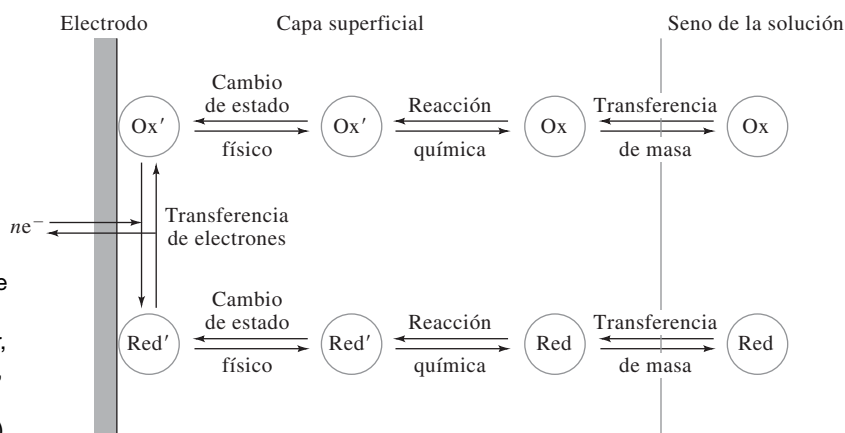
Polarización de concentración

La polarización de concentración surge cuando la velocidad de transporte de las especies reactivas hacia la superficie del electrodo es insuficiente para mantener la corriente que exige la ecuación 22.16. Al iniciarse la polarización de concentración, se forma un exceso de potencial de difusión.

Por ejemplo, considere una celda construida con un ánodo no polarizado ideal y un cátodo polarizable que consiste de un pequeño electrodo de cadmio sumergido en una solución de iones cadmio. La reducción de los iones cadmio es un proceso rápido y reversible, por lo que cuando se aplica un potencial a este elec-

¹²En este libro se sigue la convención de que las corrientes catódicas son positivas y las anódicas son negativas. Esta práctica tiene razones históricas porque las reducciones se estudiaron con más frecuencia. Algunos electroquímicos prefieren considerar las corrientes anódicas como positivas. Cuando se examinan las curvas de corriente contra potencial es sensato decidir qué convención es la que se seguirá.

FIGURA 22.8 Etapas de la reacción $\text{Ox} + ne^- \rightleftharpoons \text{Red}$ en un electrodo. Observe que la capa superficial contiene sólo unas pocas moléculas de espesor. (Adaptado de A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., p. 23, Nueva York: Wiley, 2001. Reproducido con permiso de John Wiley & Sons, Inc.)



trodo, la capa superficial de solución alcanza el equilibrio con el electrodo de forma casi instantánea. Es decir, se genera una corriente breve que reduce la concentración superficial de iones cadmio hasta la concentración de equilibrio, c_0 , dada por

$$E_{\text{Cd}} = E_{\text{Cd}}^0 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{c_0} \quad (22.18)$$

Si no hubiera ningún mecanismo de transporte de los iones cadmio desde el seno de la solución hasta la capa superficial, la corriente decrecería con rapidez hasta cero a medida que la concentración en la capa se aproximara a c_0 . De hecho, como se verá más adelante, existen diversos mecanismos que llevan a los iones cadmio desde cualquier parte de la solución hasta la capa superficial a una velocidad constante. Por tanto, la elevada corriente inicial disminuye con rapidez hasta un valor constante que está determinado por la velocidad de transporte de los iones.

Es importante tener en cuenta que para una reacción de electrodo rápida y reversible, puede considerarse siempre que la concentración de la capa superficial es la de equilibrio, la cual está determinada por el potencial de electrodo en cada momento (ecuación 22.18). Es también importante darse cuenta de que la concentración c_0 es con frecuencia muy diferente de la concentración del seno de la solución. Esto es válido porque aun cuando el equilibrio en la superficie se alcanza casi de manera instantánea, la consecución del equilibrio entre el electrodo y la solución requiere con frecuencia minutos o incluso horas.

Para que una intensidad de corriente de la magnitud requerida por la ecuación 22.16 se mantenga es necesario que el reactivo sea transportado desde el seno de la solución hasta la capa superficial a una velocidad dn_A/dt que viene dada por

$$I = dQ/dt = nF dn_A/dt$$

donde dQ/dt es la velocidad de flujo de los electrones en el electrodo (o la corriente I), n es el número de

electrones que aparecen en la semirreacción, n_A es la cantidad de moles de analito transportadas hasta la superficie y F es el faraday. La velocidad de reacción (moles/s) puede escribirse como

$$\frac{dn_A}{dt} = AJ$$

donde A es el área superficial del electrodo (en cm^2) y J es el flujo (en $\text{mol s}^{-1} \text{cm}^{-2}$). Las dos ecuaciones se pueden combinar entonces para dar

$$I = nFAJ \quad (22.19)$$

Cuando el proceso de transporte de masa no puede cumplir con esta demanda de reactivo, la caída de IR en la ecuación 22.16 se hace menor que su valor teórico, y surge un exceso de potencial de difusión que contrarresta la disminución de IR . En este caso se considera una celda electrolítica a la cual se le aplica un voltaje negativo para producir una reducción en el cátodo. Se supone que el ánodo no está polarizado. Por tanto, con la aparición de la polarización de concentración, la ecuación 22.16 se transforma en

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} - IR + \eta_{\text{cátodo}}$$

donde $\eta_{\text{cátodo}}$ representa el exceso de potencial asociado con el cátodo. Una ecuación más general para una celda en la cual ambos electrodos están polarizados es

$$E_{\text{cel}} = (E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}}) + [(\eta_{\text{cátodo}} - \eta_{\text{ánodo}}) - IR] \quad (22.20)$$

donde $\eta_{\text{ánodo}}$ es el exceso de potencial anódico. Observe que el exceso de voltaje asociado con el cátodo es negativo y el asociado con el ánodo es positivo. Los excesos de voltaje en cada electrodo tienen el efecto de reducir el potencial global de la celda. Se pueden escribir expresiones análogas para una celda en la cual la reacción por estudiar es una oxidación en el ánodo.



Clase interactiva: aprenda más acerca de las **celdas en condiciones estándar**.

22E.3 Mecanismos de transporte de masa

Ahora es importante investigar los mecanismos mediante los cuales los iones o las moléculas son transportados desde el seno de la solución hasta la capa superficial, o a la inversa, porque estos mecanismos dan una idea de cómo la polarización de concentración puede impedirse o inducirse según se requiera. Como se señala en la sección 22A.7, se pueden distinguir tres mecanismos de transporte de masa: 1) *difusión*, 2) *migración* y 3) *convección*.

Siempre que se establece una diferencia de concentración entre dos regiones de una solución, tal como pasa cuando una especie se reduce en la superficie de un cátodo, o bien, cuando se oxida en la superficie de un ánodo, la difusión mueve a los iones o moléculas de las regiones más concentradas a las más diluidas. La velocidad de difusión dc/dt está definida por

$$dc/dt = k(c - c_0) \quad (22.21)$$

donde c es la concentración de reactivo en el seno de la solución, c_0 es su concentración en el equilibrio en la superficie del electrodo y k es una constante de proporcionalidad. Como ya se vio, *el valor de c_0 está fijado por el potencial del electrodo y se puede calcular a partir de la ecuación de Nernst*. A medida que se aplican potenciales más elevados al electrodo, c_0 se vuelve cada vez menor y la velocidad de difusión aumenta cada vez más. Al final, c_0 se vuelve insignificante respecto a c , y la velocidad se mantiene entonces constante. Es decir, cuando $c_0 \rightarrow 0$,

$$dc/dt = kc \quad (22.22)$$

En estas circunstancias, se dice que la polarización de concentración es completa, y que el electrodo funciona como un electrodo polarizado ideal.

El proceso por el cual los iones se mueven por la influencia de un campo electrostático se llama migración. Con frecuencia es el proceso principal por el que tiene lugar la transferencia de masa en el seno de la solución en una celda. La atracción electrostática, o la repulsión, entre una especie iónica concreta y el electrodo se hace menor a medida que aumenta la concentración total de electrolito en la solución. Puede aproximarse a cero cuando la especie reactiva es sólo una pequeña fracción, por ejemplo, 1/100 de la concentración total de iones con una carga dada.

Los reactivos también pueden ser transferidos por medios mecánicos hacia un electrodo o desde él. Por consiguiente, la convección forzada, como es la agitación, tiende a disminuir la polarización de concentración. La convección natural que resulta de diferencias de temperatura o de densidad contribuye también al transporte de materia.



Animación: aprenda más acerca de los **mecanismos de transporte de masa**.

En resumen, la polarización de concentración se observa cuando la difusión, la migración y la convección son insuficientes para transportar el reactivo hacia la superficie del electrodo o desde ésta a la velocidad exigida por la intensidad de corriente teórica. Debido a la polarización de concentración se tiene que aplicar a una celda electrolítica un potencial más alto que el valor pronosticado con base en el potencial termodinámico y en la caída de IR .

La polarización de concentración es importante en varios métodos electroanalíticos. En algunas aplicaciones se toman medidas para eliminarla; en otras, sin embargo, es esencial para el método y se intenta promoverla. En el grado de polarización de concentración influye experimentalmente 1) la concentración de los reactivos, la polarización es más notable a concentraciones bajas; 2) la concentración total de electrolito, la polarización se vuelve más fuerte a elevadas concentraciones; 3) la agitación mecánica, la polarización disminuye en soluciones muy bien agitadas, y 4) el tamaño de electrodo, los efectos de la polarización disminuyen a medida que aumenta el área superficial del electrodo.

22E.4 Polarización de transferencia de carga

La polarización de transferencia de carga surge cuando la velocidad de oxidación o de reducción en uno o en ambos electrodos no es suficientemente rápida para producir corrientes de la intensidad que dicta la teoría. El exceso de potencial que surge de la polarización de transferencia de carga tiene las siguientes características:

1. Los excesos de voltaje aumentan con la densidad de corriente (la cual se define como corriente por área unitaria [A/cm^2] de superficie del electrodo).
2. Por lo regular, los excesos de voltaje disminuyen al aumentar la temperatura.
3. Los excesos de voltaje varían con la composición química del electrodo, y son con frecuencia más acusados con los metales más blandos, como el estaño, el plomo, el cobre y, en particular, con el mercurio.
4. Los excesos de voltaje son en especial importantes en procesos de electrodo que generan productos gaseosos, como hidrógeno u oxígeno, pero son a menudo insignificantes cuando se está depositando un metal o cuando un ion experimenta un cambio de estado de oxidación.
5. La magnitud del exceso de voltaje en cualquier situación no se puede predecir con exactitud, ya que está determinado por un cierto número de variables incontrolables.¹³

¹³ Los datos de exceso de voltaje para diferentes especies gaseosas a distintas superficies de electrodo se encuentran en *Analytical Chemistry Handbook*, J. A. Dean, ed., pp. 14.96-14.97, Nueva York: McGraw-Hill, 1995.

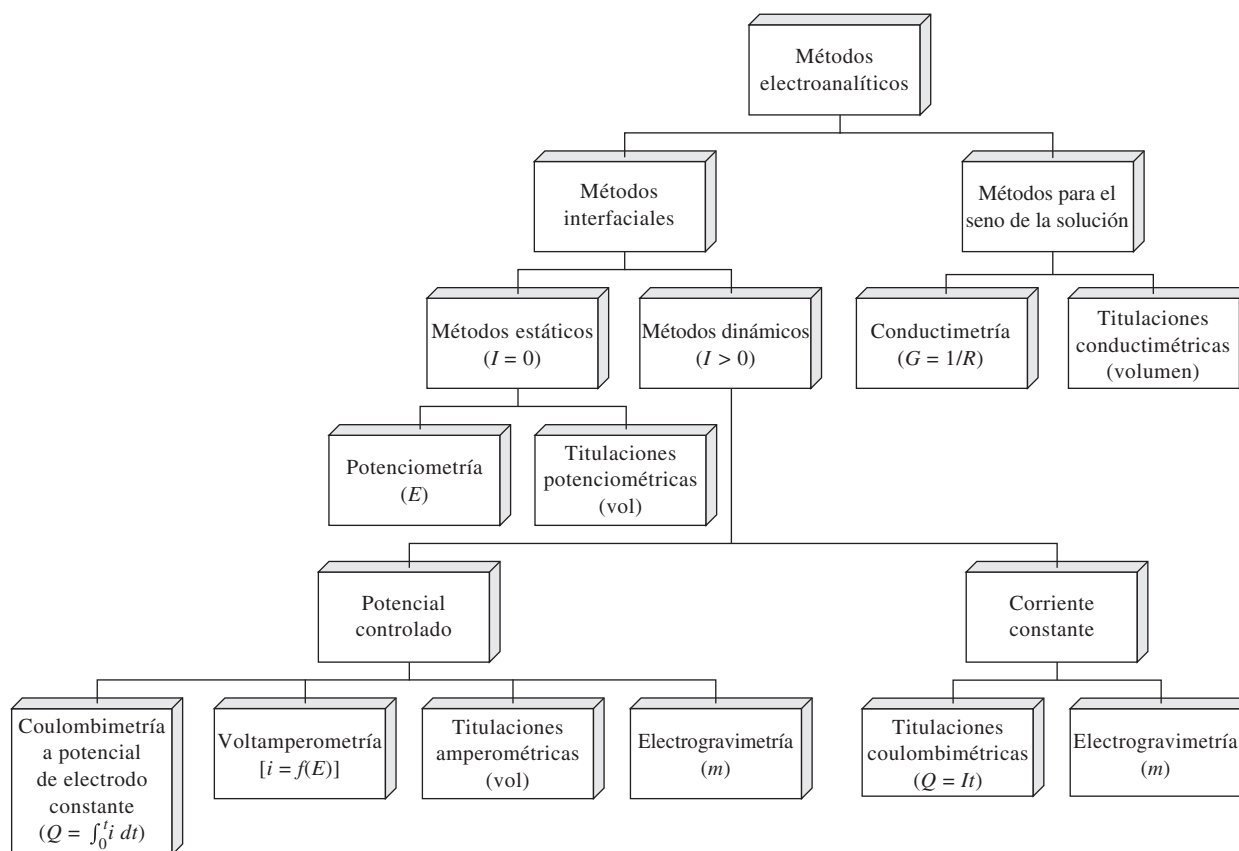


FIGURA 22.9 Resumen de los métodos electroanalíticos comunes. El parámetro que se mide aparece entre paréntesis. (I o i = corriente, E = potencial, R = resistencia, G = conductancia, Q = cantidad de carga, t = tiempo, vol = volumen de solución patrón, m = masa de una especie electrodepositada.)

El exceso de voltaje relacionado con el desprendimiento de hidrógeno y oxígeno es de particular interés. La diferencia entre el exceso de voltaje de estos gases en las superficies de platino pulidas y en las platinizadas es notable. Por ejemplo, para un electrodo de Pt pulido y sumergido en $\text{M H}_2\text{SO}_4$ a una densidad de corriente de 1.0 A/cm^2 , el exceso de voltaje es de 0.68 V ; en el caso de un electrodo de Pt platinizado en las mismas condiciones, el exceso de voltaje es de sólo 0.048 V . Esta diferencia se debe sobre todo a la superficie mucho mayor de los electrodos platinizados, lo que da lugar a una densidad de corriente real que es significativamente menor de lo que es aparente a partir de las dimensiones globales del electrodo. Siempre se emplea una superficie platinizada para construir los electrodos de referencia de hidrógeno con el fin de disminuir la densidad de corriente a un valor en el que el exceso de voltaje es insignificante.

El elevado exceso de voltaje asociado con la formación de hidrógeno permite el depósito electrolítico de

diversos metales que requieren potenciales a los cuales se podría esperar, en otras circunstancias, que interfiriera el hidrógeno. Por ejemplo, los potenciales estándar de hidrógeno y cinc apuntan a que el desprendimiento rápido de hidrógeno debe suceder muy por abajo del potencial requerido para el depósito de cinc a partir de soluciones neutras. No obstante, se puede lograr el depósito cuantitativo de cinc mediante un electrodo de mercurio o de cobre. Debido al elevado exceso de voltaje del hidrógeno en estos metales (1.07 V y 1.23 V , respectivamente, en las condiciones mencionadas en el párrafo anterior), poco o nada de gas se desprende durante el electrodeposición.

La magnitud del exceso de voltaje, en el mejor de los casos, sólo se puede calcular de modo aproximado a partir de la información empírica disponible en las publicaciones especializadas. Por tanto, el cálculo de los potenciales de celda en los cuales el exceso de voltaje desempeña un papel importante no puede ser muy exacto.

22F TIPOS DE MÉTODOS ELECTROANALÍTICOS

Se ha desarrollado una amplia variedad de métodos analíticos. Aquellos de uso bastante general y que se tratan en este libro se muestran en la figura 22.9. Se dividen en métodos interfaciales y métodos del seno de la solución. Los primeros, que se usan más ampliamente que los otros, se basan en fenómenos que tienen lugar en la interfase entre las superficies de los electrodos y la delgada capa de solución adyacente a estas superficies. Por el contrario, los segundos se basan en fenómenos que ocurren en el seno de la solución, en los que se hacen todos los esfuerzos para impedir los efectos interfaciales.

Los métodos interfaciales se pueden dividir en dos grandes categorías, estáticos y dinámicos, en función de si hay o no corriente en las celdas electroquímicas. Los métodos estáticos, que implican medidas potenciométricas, son de particular importancia debido a su rapidez y selectividad. Los métodos potenciométricos se tratan en el capítulo 23.

Los métodos interfaciales dinámicos, en los cuales las corrientes en las celdas electroquímicas desempeñan una parte esencial, son de varios tipos. En tres de los métodos mostrados a la izquierda de la figura 22.9, se controla el potencial de la celda mientras se llevan a cabo las mediciones de otras variables. En general, estos métodos son sensibles y tienen intervalos dinámicos relativamente amplios (casi siempre, de 10^{-3} a 10^{-8} M). Además, muchos de los procedimientos pueden llevarse a cabo con volúmenes de muestra de microlitros o hasta de nanolitros. Por consiguiente, estos métodos alcanzan a veces límites de detección en la escala de los picomoles.

En los métodos dinámicos a corriente constante la corriente en la celda se mantiene constante mientras se recogen los datos. Los métodos dinámicos de ambos tipos se tratan en los capítulos 24 y 25. La mayor parte de las técnicas electroanalíticas que se incluyen en la figura 22.9 han sido utilizadas como detectores en diversos procedimientos cromatográficos (véanse capítulos 25, 27 y 28).

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas a los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- ***22.1** Calcule los potenciales de electrodo de las siguientes semiceldas.
- $\text{Ag}^+(0.0261 \text{ M})|\text{Ag}$
 - $\text{Fe}^{3+}(6.72 \times 10^{-4} \text{ M}), \text{Fe}^{2+}(0.100 \text{ M})|\text{Pt}$
 - $\text{AgBr}(\text{sat}), \text{Br}^-(0.050 \text{ M})|\text{Ag}$
- ***22.2** Calcule los potenciales de electrodo de las siguientes semiceldas.
- $\text{HCl}(1.76 \text{ M})|\text{H}_2(0.987 \text{ atm}), \text{Pt}$
 - $\text{IO}_3^-(0.194 \text{ M}), \text{I}_2(2.00 \times 10^{-4} \text{ M}), \text{H}^+(3.50 \times 10^{-3} \text{ M})|\text{Pt}$
 - $\text{Ag}_2\text{CrO}_4(\text{sat}), \text{CrO}_4^{2-}(0.0520 \text{ M})|\text{Ag}$
- ***22.3** Para cada una de las siguientes semiceldas, compare los potenciales de electrodo deducidos a partir de 1) datos de concentración y 2) datos de actividad.
- $\text{HCl}(0.0200 \text{ M}), \text{NaCl}(0.0300 \text{ M})|\text{H}_2(1.00 \text{ atm}), \text{Pt}$
 - $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2(0.0111 \text{ M}), \text{Fe}(\text{ClO}_4)_3(0.0111 \text{ M})|\text{Pt}$
- ***22.4** Para cada una de las siguientes semiceldas, compare los potenciales de electrodo calculados a partir de 1) datos de concentración y 2) datos de actividad.
- $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_2(3.00 \times 10^{-5} \text{ M}), \text{Sn}(\text{ClO}_4)_4(6.00 \times 10^{-5} \text{ M})|\text{Pt}$
 - $\text{Sn}(\text{ClO}_4)_2(3.00 \times 10^{-5} \text{ M}), \text{Sn}(\text{ClO}_4)_4(6.00 \times 10^{-5} \text{ M}), \text{NaClO}_4(0.0800 \text{ M})|\text{Pt}$
- ***22.5** Calcule el potencial de un electrodo de plata en contacto con lo siguiente:
- una solución que es 0.0150 M en I_2 y saturada con AgI.
 - una solución que es 0.0040 M en CN^- y 0.0600 M en $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$

- c) una solución que resulta de mezclar 25.0 mL de KBr 0.0500 M con 20.0 mL de Ag^+ 0.100 M.
 d) una solución que resulta de mezclar 25.0 mL de Ag^+ 0.0500 M con 20.0 mL de KBr 0.100 M.

***22.6** Calcule los potenciales de electrodo para los siguientes sistemas:

- a) $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (4.00×10^{-3} M), Cr^{3+} (2.00×10^{-2} M), H^+ (0.100 M) | Pt
 b) UO_2^{2+} (0.200 M), U^{4+} (0.100 M), H^+ (0.500 M) | Pt

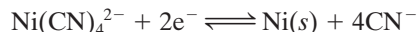
***22.7** Calcule el potencial teórico de cada una de las siguientes celdas. ¿La reacción de la celda es espontánea tal como está escrita o lo es en la dirección opuesta?

- a) $\text{Pt} | \text{Cr}^{3+}$ (1.00×10^{-4} M), Cr^{2+} (2.00×10^{-3} M) || Pb^{2+} (5.60×10^{-2} M) | Pb
 b) $\text{Hg} | \text{Hg}_2^{2+}$ (2.00×10^{-2} M) || H^+ (1.00×10^{-2} M), V^{3+} (3.00×10^{-2} M), VO^{2+} (2.00×10^{-3} M) | Pt
 c) $\text{Pt} | \text{Fe}^{3+}$ (4.00×10^{-2} M), Fe^{2+} (3.00×10^{-5} M) || Sn^{2+} (5.50×10^{-2} M), Sn^{4+} (3.50×10^{-4} M) | Pt

***22.8** Calcule el potencial teórico de cada una de las siguientes celdas. ¿La reacción de la celda es espontánea tal como está escrita o lo es en la dirección opuesta?

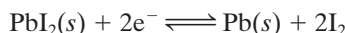
- a) $\text{Bi} | \text{BiO}^+$ (0.0400 M), H^+ (0.200 M) || I^- (0.100 M), $\text{AgI}(\text{sat}) | \text{Ag}$
 b) $\text{Zn} | \text{Zn}^{2+}$ (7.50×10^{-4} M) || $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (4.50×10^{-2} M), $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (7.00×10^{-2} M) | Pt
 c) Pt, H_2 (0.200 atm) | HCl (7.50×10^{-4} M), $\text{AgCl}(\text{sat}) | \text{Ag}$

***22.9** Calcule E^0 para el proceso

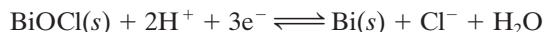


dado que la constante de formación para el complejo es 1.0×10^{22} .

***22.10** La constante del producto de solubilidad para el PbI_2 es 7.1×10^{-9} a 25°C . Calcule E^0 para el proceso

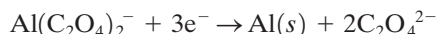


***22.11** Calcule el potencial estándar para la semirreacción



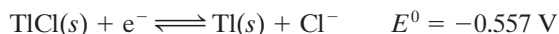
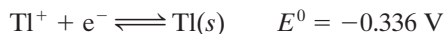
dado que K_{pe} para el BiOCl tiene un valor de 8.1×10^{-19} .

***22.12** Calcule el potencial estándar para la semirreacción



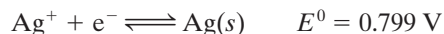
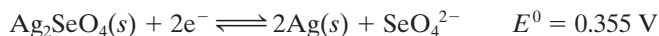
si la constante de formación del complejo es 1.3×10^{13} .

***22.13** A partir de los potenciales estándar



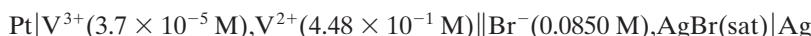
calcule la constante del producto de solubilidad del TlCl .

***22.14** A partir de los potenciales estándar



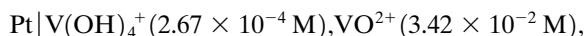
determine la constante del producto de solubilidad del Ag_2SeO_4 .

- *22.15 Suponga que se desea producir una intensidad de corriente de 0.0750 A en la celda



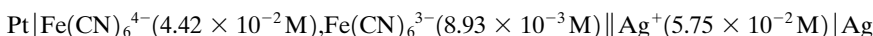
Como resultado de su diseño, la celda tiene una resistencia interna de 4.87 Ω . Calcule el potencial inicial de la celda.

- *22.16 La celda



tiene una resistencia interna de 3.81 Ω . ¿Cuál es el potencial inicial si se obtiene 0.0750 A de esta celda?

- *22.17 La resistencia de la celda galvánica



es 3.85 Ω . Calcule el potencial inicial cuando se extraen 0.0442 A de esta celda.



- 22.18 Los datos siguientes son similares a los que se proporcionan en el ejemplo 22.1.¹⁴

$c_{\text{HCl}}, \text{ m}$	$\gamma_{\pm}$	E	E^0
0.003215	0.9418	0.52053	0.22255
0.004488	0.9328	0.50384	0.22251
0.005619	0.9259	0.49257	0.22241
0.007311	0.9173	0.47948	0.22236
0.009138	0.9094	0.46860	0.22250
0.011195	0.9031	0.45861	0.22258
0.013407	0.8946	0.44974	0.22248
0.01710	0.8843	0.43783	0.22247
0.02563	0.8660	0.41824	0.22260
0.05391	0.8293	0.38222	0.22256
0.1238	0.7877	0.34199	0.22244

- Elabore una hoja de cálculo para determinar el potencial estándar para el electrodo Ag-AgCl mediante el método que se explica en el ejemplo 22.1. Forme columnas para los coeficientes de actividad y el potencial estándar. Calcule los valores γ para H^{+} y Cl^{-} para cada modalidad. Luego determine $\gamma_{\pm}$ en cada modalidad. Con los valores medidos de E determine E^0 para cada modalidad.
- Compare sus valores de los coeficientes de actividad y potencial estándar con los de MacInnes, y si hay muchas diferencias entre sus valores y los de la tabla anterior dé las posibles razones de las discrepancias.
- Utilice la función de estadística descriptiva *Data Analysis Toolpak*¹⁵ para determinar la media, la desviación estándar, intervalos de confianza a 95% y otras variables estadísticas útiles del potencial estándar del electrodo de Ag-AgCl.
- Dé algunos comentarios sobre los resultados de su análisis y, en particular, sobre la calidad de los resultados de MacInnes.



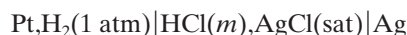
Problemas de reto

- 22.19 Como parte de un estudio para medir la constante de disociación del ácido acético, Harned y Ehlers¹⁶ tuvieron que medir E^0 para la siguiente celda:

¹⁴D. A. MacInnes, *The Principles of Electrochemistry*, tabla I, p. 187, Nueva York: Reinhold, 1939.

¹⁵S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 32-34.

¹⁶H. S. Harned y R. W. Ehlers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1932**, 54 (4), pp. 1350-1357.



- a) Escriba una expresión para el potencial de la celda.
 b) Demuestre que la expresión se puede simplificar a

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} \ln \gamma_{\text{H}_3\text{O}^+} \gamma_{\text{Cl}^-} m_{\text{H}_3\text{O}^+} m_{\text{Cl}^-}$$

donde $m_{\text{H}_3\text{O}^+}$ y m_{Cl^-} son las concentraciones molales (moles de soluto por kilogramo de solvente).

- c) En estas circunstancias, ¿es válida esta expresión?
 d) Demuestre que la expresión en b) se podría expresar como

$$E + 2k \log m = E^0 - 2k \log \gamma_{\pm}$$

donde $k = \ln 10 RT/F$.

- e) Una versión considerablemente simplificada de la expresión de Debye-Hückel que es válida para soluciones muy diluidas es $\log \gamma = -0.5\sqrt{m} + bm$, donde c es una constante. Demuestre que la expresión para el potencial de celda en d) se podría representar como

$$E + 2k \log m - k\sqrt{m} = E^0 - 2kcm$$

- f) La expresión anterior es una “ley restrictiva” que se vuelve lineal cuando la concentración del electrolito se aproxima a cero. La ecuación supone la forma $y = ax + b$, donde $y = E + 2k \log m - k\sqrt{m}$; $x = m$, la pendiente; $a = -2kc$; y la ordenada al origen $b = E^0$. Harned y Ehlers midieron con mucha exactitud el potencial de la celda sin unión líquida que se presenta al inicio del problema en función de la concentración de HCl (molal) y la temperatura, y obtuvieron los datos que se proporcionan en la tabla siguiente. Por ejemplo, determinaron que el potencial de la celda a 25°C con una concentración de HCl de 0.01 m y obtuvieron un valor de 0.46419 V.

Mediciones del potencial de la celda $\text{Pt}, \text{H}_2(1 \text{ atm}) | \text{HCl}(m), \text{AgCl}(\text{sat}) | \text{Ag}$ sin unión líquida en función de la concentración (molalidad) y temperatura (°C).

<i>m</i> , molal	<i>E_T</i> , volts							
	<i>E</i> ₀	<i>E</i> ₅	<i>E</i> ₁₀	<i>E</i> ₁₅	<i>E</i> ₂₀	<i>E</i> ₂₅	<i>E</i> ₃₀	<i>E</i> ₃₅
0.005	0.48916	0.49138	0.49338	0.49521	0.44690	0.49844	0.49983	0.50109
0.006	0.48089	0.48295	0.48480	0.48647	0.48800	0.48940	0.49065	0.49176
0.007	0.4739	0.47584	0.47756	0.47910	0.48050	0.48178	0.48289	0.48389
0.008	0.46785	0.46968	0.47128	0.47270	0.47399	0.47518	0.47617	0.47704
0.009	0.46254	0.46426	0.46576	0.46708	0.46828	0.46937	0.47026	0.47103
0.01	0.4578	0.45943	0.46084	0.46207	0.46319	0.46419	0.46499	0.46565
0.02	0.42669	0.42776	0.42802	0.42925	0.42978	0.43022	0.43049	0.43058
0.03	0.40859	0.40931	0.40993	0.41021	0.41041	0.41056	0.41050	0.41028
0.04	0.39577	0.39624	0.39668	0.39673	0.39673	0.39666	0.39638	0.39595
0.05	0.38586	0.38616	0.38641	0.38631	0.38614	0.38589	0.38543	0.38484
0.06	0.37777	0.37793	0.37802	0.37780	0.37749	0.37709	0.37648	0.37578
0.07	0.37093	0.37098	0.37092	0.37061	0.37017	0.36965	0.36890	0.36808
0.08	0.36497	0.36495	0.36479	0.36438	0.36382	0.36320	0.36285	0.36143
0.09	0.35976	0.35963	0.35937	0.35888	0.35823	0.35751	0.35658	0.35556
0.1	0.35507	0.35487	0.33451	0.35394	0.35321	0.35240	0.35140	0.35031
<i>E</i> ⁰	0.23627	0.23386	0.23126	0.22847	0.22550	0.22239	0.21918	0.21591

- Elabore una gráfica de $E + 2k \log m - k\sqrt{m}$ contra m , y observe que la gráfica es lineal a concentraciones bajas. Extrapole la línea a la ordenada al origen y determine un valor de E^0 . Compare el valor que obtuvo con el de Harned y Ehlers, y explique las diferencias. Asimismo, compare el valor con el que se muestra en la tabla 22.1. La manera más sencilla de efectuar este ejercicio es colocar los datos en una hoja de cálculo y aplicar la función de Excel INTERSECCIÓN.EJE(conocido_y, conocido_x) para determinar el valor extrapolado de E^0 .¹⁷ Utilice sólo los datos de 0.005 a 0.01 m para determinar la intersección con el eje de las y.
- g) Escriba los datos de todas las temperaturas en la hoja de cálculo y determine los valores de E^0 para todas las temperaturas de 5°C a 35°C. Otra posibilidad es descargar una hoja de cálculo de Excel que contenga toda la tabla completa con los datos. Mediante el buscador conéctese a <http://www.thomsonedu.com/chemistry/skoog>, y seleccione su curso, “Instrumental Analysis”. Para finalizar, introdúzcase hasta los vínculos del capítulo 22 y haga clic en el vínculo de la hoja de cálculo de este problema.
- h) En la tabla anterior hay dos errores tipográficos que aparecen en el documento original publicado. Encuentre los errores y corríjalos. ¿Cuáles son sus justificaciones para estas correcciones? ¿Qué criterios estadísticos puede aplicar para justificarse? A su juicio, ¿es probable que estos errores hayan sido detectados antes? Explique su respuesta.
- i) ¿Por qué cree que estos investigadores utilizaron molalidad en sus estudios y no molaridad o molaridad por peso? Explique si importa cuáles de estas unidades de concentración se usan.

22.20 Como ya se vio en el problema 22.19, en un experimento preliminar en sus esfuerzos por medir la constante de disociación del ácido acético, Harned y Ehlers¹⁸ midieron E^0 de la celda sin unión líquida conocida. Para completar el estudio y determinar la constante de disociación, estos investigadores midieron también el potencial de la celda siguiente:



- a) Demuestre que el potencial de esta celda está dado por

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} \ln \gamma_{\text{H}_3\text{O}^+} \gamma_{\text{Cl}^-} m_{\text{H}_3\text{O}^+} m_{\text{Cl}^-}$$

donde $\gamma_{\text{H}_3\text{O}^+}$ y γ_{Cl^-} son los coeficientes de actividad del ion hidronio y del ion cloruro, respectivamente, y $m_{\text{H}_3\text{O}^+}$ y m_{Cl^-} son sus concentraciones molales respectivas (moles de soluto por kilogramo de solvente).

- b) La constante de disociación del ácido acético está dada por

$$K = \frac{\gamma_{\text{H}_3\text{O}^+} \gamma_{\text{OAc}^-} m_{\text{H}_3\text{O}^+} m_{\text{OAc}^-}}{\gamma_{\text{HOAc}} m_{\text{HOAc}}}$$

donde γ_{OAc^-} y γ_{HOAc} son los coeficientes de actividad del ion acetato y del ácido acético, respectivamente, y m_{OAc^-} y m_{HOAc} son sus concentraciones

¹⁷S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, p. 67.

¹⁸Véase nota 16.

molales de equilibrio respectivas (moles de soluto por kilogramo de solvente). Demuestre que el potencial de la celda en el inciso a) es

$$E - E^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{m_{\text{HOAc}} m_{\text{Cl}^-}}{m_{\text{OAc}^-}} = -\frac{RT}{F} \ln \frac{\gamma_{\text{H}_3\text{O}^+} \gamma_{\text{Cl}^-} \gamma_{\text{HOAc}}}{\gamma_{\text{H}_3\text{O}^+} \gamma_{\text{OAc}^-}} - \frac{RT}{F} \ln K$$

- c) A medida que la fuerza iónica de la solución se aproxima a cero, ¿qué sucede al lado derecho de la ecuación anterior?
- d) Como resultado de la respuesta al inciso i) del problema 22.19, se puede escribir el lado derecho de la ecuación como $-(RT/F) \ln K'$. Demuestre que

$$K' = \exp \left[-\frac{(E - E^0)F}{RT} \ln \left(\frac{m_{\text{HOAc}} m_{\text{Cl}^-}}{m_{\text{OAc}^-}} \right) \right]$$

- e) La fuerza iónica de la solución en la celda sin unión líquida calculada según Harned y Ehlers es

$$\mu = c_{\text{NaCl}} + [\text{H}^+] + [\text{OAc}^-]$$

Demuestre que esta expresión es correcta.

- f) Estos investigadores prepararon soluciones de varias concentraciones analíticas molales de ácido acético, acetato de sodio y cloruro de sodio, y midieron el potencial de la celda presentada al inicio de este problema. Sus resultados se proporcionan en la tabla siguiente.

Mediciones del potencial de la celda $\text{Pt}, \text{H}_2(1 \text{ atm}) | \text{HOAc}(c_{\text{HOAc}}), \text{NaOAc}(c_{\text{NaOAc}}), \text{NaCl}(c_{\text{NaCl}}), \text{AgCl}(\text{sat}) | \text{Ag}$ sin unión líquida en función de la fuerza iónica (molalidad) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

$c_{\text{HOAc}}, \text{m}$	$c_{\text{NaOAc}}, \text{m}$	$c_{\text{NaCl}}, \text{m}$	E_0	E_5	E_{10}	E_{15}	E_{20}	E_{25}	E_{30}	E_{35}
0.004779	0.004599	0.004896	0.61995	0.62392	0.62789	0.63183	0.63580	0.63959	0.64335	0.64722
0.012035	0.011582	0.012326	0.59826	0.60183	0.60538	0.60890	0.61241	0.61583	0.61922	0.62264
0.021006	0.020216	0.021516	0.58528	0.58855	0.59186	0.59508	0.59840	0.60154	0.60470	0.60792
0.04922	0.04737	0.05042	0.56546	0.56833	0.57128	0.57413	0.57699	0.57977	0.58257	0.58529
0.08101	0.07796	0.08297	0.55388	0.55667	0.55928	0.56189	0.56456	0.56712	0.56964	0.57213
0.09056	0.08716	0.09276	0.55128	0.55397	0.55661	0.55912	0.56171	0.56423	0.56672	0.56917

Calcule la fuerza iónica de cada una de las soluciones mediante la expresión de la K_a del ácido acético para determinar $[\text{H}_3\text{O}^+]$, $[\text{OAc}^-]$ y $[\text{HOAc}]$ con las aproximaciones apropiadas usuales y valor provisional de $K_a = 1.8 \times 10^{-5}$.

Use los potenciales de la tabla a 25°C para determinar valores de K' mediante la expresión del inciso j). Trace una gráfica de K' contra μ , y extrapole la gráfica a una dilución infinita ($\mu = 0$) para encontrar un valor de K_a a 25° . Compare el valor extrapolado con el valor provisional que se usó para calcular μ . ¿Qué efecto tiene el valor provisional de K_a en el valor extrapolado de K_a ? Estos cálculos se pueden efectuar con más facilidad mediante una hoja de cálculo.

- g) Si efectuó estos cálculos mediante una hoja de cálculo, determine la constante de disociación del ácido acético a todas las otras temperaturas para las cuales hay datos disponibles. ¿Qué tanto varía K_a con la temperatura? ¿A qué temperatura se presenta la K_a máxima?

Potenciometría

Los métodos potenciométricos de análisis se basan en las mediciones del potencial de celdas electroquímicas en ausencia de corrientes apreciables. Durante casi un siglo, las técnicas potenciométricas se han utilizado para detectar los puntos finales de las titulaciones. En fechas más recientes las concentraciones de iones se miden directamente a partir del potencial de un electrodo de membrana selectiva de iones. Tales electrodos carecen relativamente de interferencias y proporcionan un medio rápido y conveniente para hacer estimaciones cuantitativas de numerosos aniones y cationes importantes.

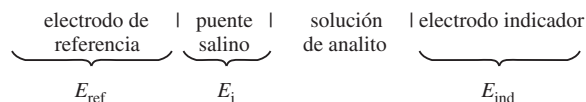


En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

El equipo que se requiere para los métodos potenciométricos es sencillo y barato, e incluye un *electrodo de referencia*, un *electrodo indicador* y un *dispositivo para medir el potencial*. El diseño y las propiedades de cada uno de estos componentes se describen en las secciones iniciales de este capítulo. A continuación se hace una investigación de las aplicaciones analíticas de las mediciones potenciométricas.¹

23A PRINCIPIOS GENERALES

En el capítulo 22 se estableció que los valores absolutos de los potenciales de semicelda individuales no pueden determinarse en el laboratorio. Es decir, experimentalmente sólo se pueden medir los potenciales de celda relativos. En la figura 23.1 se muestra una celda típica para el análisis potenciométrico. Ésta se puede representar como



En este diagrama el *electrodo de referencia* es una semicelda con un potencial de electrodo que se conoce con exactitud, E_{ref} , que es independiente de la concentración del analito o de otros iones cualesquiera que estén en la solución que se desea estudiar. Puede emplearse un electrodo de hidrógeno estándar, pero esto rara vez ocurre porque su uso presenta problemas de mantenimiento y uso. Por convención, al electrodo de referencia se le considera siempre el de la izquierda en las mediciones potenciométricas. El *electrodo indicador*, el cual está sumergido en una solución de analito, produce un potencial, E_{ind} , que depende de la actividad del analito. La mayor parte de los electrodos indicadores que se utilizan en la potenciometría son selectivos en sus respuestas. El tercer componente de una celda en potenciometría es un puente salino que evita que los componentes de la solución de analito se mezclen con los del electrodo de referencia. Como se hizo notar en la sección 22B.2, se forma un potencial en las uniones líquidas en cada uno de los extremos del puente salino. Estos dos potenciales tienden a anularse mutuamente si las movilidades del catión y del anión en la solución del puente son aproximadamente iguales. El cloruro de potasio es un electrolito casi ideal para el puente salino porque las movilidades del ion K^+ y del ion Cl^- son casi iguales. Debido a eso, la diferencia de potencial neta en el puente salino E_j se re-

¹ Para más información véase R. S. Hutchins y L. G. Bachas, en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. A. Settle, ed., cap. 38, pp. 727-748, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997.

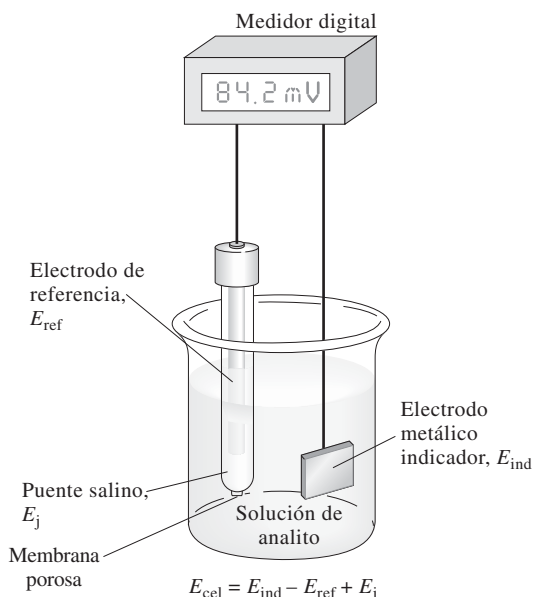


FIGURA 23.1 Una celda para mediciones potenciométricas.

duce a unos pocos milivolts o menos. En la mayor parte de los métodos electroanalíticos, el potencial de unión es lo bastante pequeño como para que se le pueda pasar por alto. En los métodos potenciométricos que se estudian en este capítulo, el potencial de unión y su incertidumbre pueden ser elementos importantes que limitan la exactitud y precisión de las mediciones.

El potencial de la celda que se está estudiando se obtiene mediante la ecuación

$$E_{\text{cel}} = (E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}) + E_j \quad (23.1)$$

El primer término en esta ecuación, E_{ind} , contiene el dato que se está buscando, a saber, la concentración del analito. Entonces, para efectuar la determinación potenciométrica de un analito es necesario medir un potencial de celda, corregir este potencial respecto a los potenciales de referencia y de unión y calcular la concentración del analito a partir del potencial del electrodo indicador. En términos estrictos, el potencial de una celda galvánica está relacionado con la actividad del analito. Sólo a través de una calibración apropiada del sistema de electrodos con soluciones de concentración conocida es factible determinar la concentración del analito. En la siguiente sección se analiza la naturaleza y el origen de los tres potenciales que se muestran en el lado derecho de la ecuación 23.1.

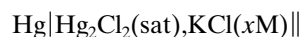
23B ELECTRODOS DE REFERENCIA

El electrodo de referencia ideal tiene un potencial que es conocido, constante e insensible por completo a la

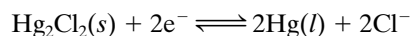
composición de la solución por estudiar. Además, este electrodo debe ser fuerte y fácil de conectar, y debe mantenerse a un potencial constante aun cuando haya una corriente neta en la celda.

23B.1 Electroodos de calomel

Los electrodos de referencia de calomel se componen de mercurio en contacto con una solución saturada de cloruro de mercurio(I) (calomel) que contiene también una concentración conocida de cloruro de potasio. Las semiceldas de calomel se pueden representar como sigue:



donde x representa la concentración molar de cloruro de potasio en la solución.² El potencial de electrodo para esta semicelda está determinado por la reacción



y depende de la concentración x de cloruro. Por consiguiente, dicha concentración debe especificarse en la descripción del electrodo.

En la tabla 23.1 se da una lista de la composición y de los potenciales de tres electrodos de calomel comunes. Observe que cada solución está saturada con cloruro de mercurio(I) (calomel) y que las celdas difieren sólo respecto a la concentración de cloruro de potasio.

El electrodo de calomel saturado (ECS) se utiliza mucho debido a la facilidad con que puede prepararse.³ Sin embargo, comparado con los otros electrodos de calomel, su coeficiente de temperatura es significativamente mayor (véase tabla 23.1). Otra desventaja es que cuando cambia la temperatura, el potencial alcanza un nuevo valor, pero con lentitud, debido al tiempo que se requiere para restablecer el equilibrio de solubilidad del cloruro de potasio y del calomel. El potencial del electrodo de calomel saturado a 25°C es 0.2444 V.

Se dispone en el comercio de varios electrodos de calomel adecuados, como el que se ilustra en la figura 23.2a. El cuerpo en forma de H del electrodo está hecho de vidrio con las dimensiones que se muestran en el diagrama. La rama derecha del electrodo contiene un contacto eléctrico de platino, una pequeña cantidad de una pasta de mercurio-cloruro de mercurio(I) en

² Por convención, un electrodo de referencia es siempre el de la izquierda, como se ilustra en la figura 23.1. Esta práctica es consistente con la convención de la IUPAC para los potenciales de electrodo, que se trata en la sección 22C.4, en la cual la referencia es el electrodo estándar de hidrógeno y está colocado a la izquierda en el diagrama de la celda.

³ Observe que el término "saturado" en el nombre se refiere a la concentración de KCl (alrededor de 4.6 M) y no a la concentración de Hg_2Cl_2 ; todos los electrodos de calomel están saturados con Hg_2Cl_2 .

TABLA 23.1 Potenciales de electrodos de referencia en soluciones acuosas.

Temperatura, °C	Potencial de electrodo contra electrodo estándar de hidrógeno, V				
	Calomel ^a 0.1 M ^c	Calomel ^b 3.5 M ^c	Calomel ^a saturado ^c	Ag-AgCl 3.5 M ^{b,c}	Ag-AgCl saturado ^{b,c}
10	—	0.256	—	0.215	0.214
12	0.3362	—	0.2528	—	—
15	0.3362	0.254	0.2511	0.212	0.209
20	0.3359	0.252	0.2479	0.208	0.204
25	0.3356	0.250	0.2444	0.205	0.199
30	0.3351	0.248	0.2411	0.201	0.194
35	0.3344	0.246	0.2376	0.197	0.189
38	0.3338	—	0.2355	—	0.184
40	—	0.244	—	0.193	—

^aDatos de R. G. Bates en *Treatise on Analytical Chemistry*, 2a. ed., I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds., parte I, vol. I, p. 793, Wiley: Nueva York: Wiley, 1978.

^bDatos de D. T. Sawyer, A. Sobrowski y J. L. Roberts Jr., *Experimental Electrochemistry for Chemists*, 2a. ed., p. 192, Nueva York: Wiley, 1995.

^c“M” y “saturado” se refieren a la concentración de KCl y no de Hg₂Cl₂.

cloruro de potasio saturado, y cristales de KCl. El tubo se llena con KCl saturado que actúa como puente salino a través de una pieza de Vycor poroso (“vidrio seco”) sellado en el extremo del brazo izquierdo. Este tipo de unión tiene una resistencia relativamente elevada (2000 a 3000 Ω) y una capacidad limitada para transportar corriente, pero la contaminación de la solución de analito debido a la salida de cloruro de potasio es mínima. Hay otras configuraciones de electrodo satu-

rado de calomel con mucha menor resistencia y mejor contacto eléctrico con la solución de analito, pero tienden a derramar pequeñas cantidades de cloruro de potasio saturado en la muestra. Debido a la cuestión relacionada con la contaminación por mercurio, los electrodos saturados de calomel son hoy menos comunes de lo que fueron alguna vez, pero en ciertas aplicaciones son superiores a los electrodos de referencia Ag-AgCl que se describen enseguida.

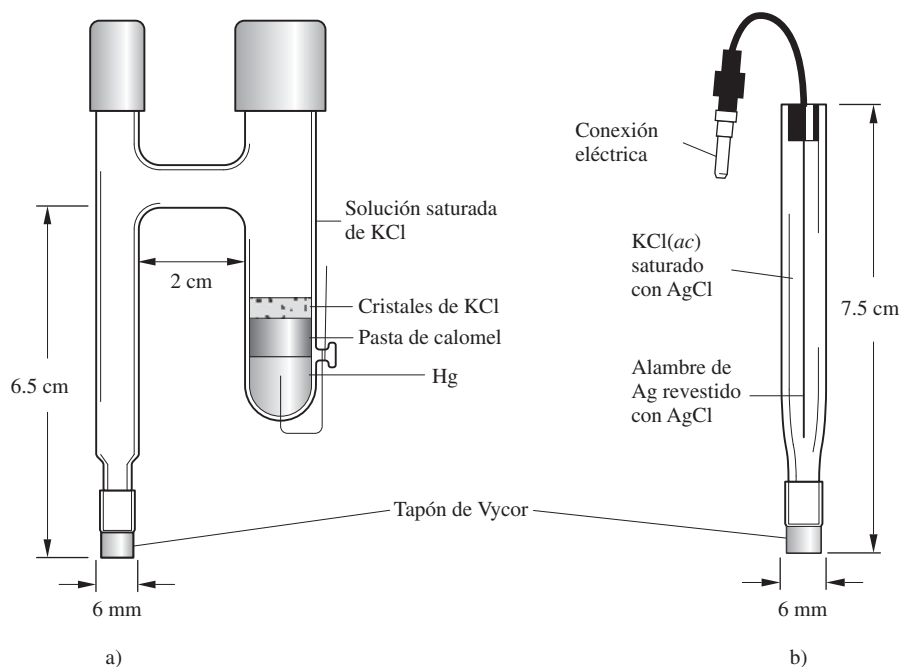
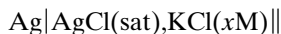


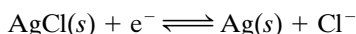
FIGURA 23.2 Electrodos de referencia de comerciales típicos a) Electrodo de Calomel saturado (SCF). b) Electrodo de plata-cloruro de plata. (Adaptado con autorización de Bioanalytical Systems, West Lafayette, IN.)

23B.2 Electrodos de plata-cloruro de plata

El electrodo de referencia más ampliamente comercializado consiste en un electrodo de plata sumergido en una solución de cloruro de potasio que se ha saturado con cloruro de plata



El potencial de electrodo está determinado por la semirreacción



Por lo regular, este electrodo se prepara con una solución saturada o con una 3.5 M de cloruro de potasio; los potenciales de estos electrodos se dan en la tabla 23.1. En la figura 23.2b se muestra un modelo comercial de este electrodo, el cual es poco más que un trozo de tubo de vidrio con una abertura angosta en el fondo conectado a un tapón de Vycor para que haga contacto con la solución de analito. El tubo contiene un alambre de plata revestido con una capa de cloruro de plata que está sumergido en una solución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata.

Los electrodos de plata-cloruro de plata tienen la ventaja de que pueden utilizarse a temperaturas superiores a 60°C, mientras los electrodos de calomel no. Por otra parte, los iones mercurio (II) reaccionan con menos componentes de la muestra que los iones plata (que, por ejemplo, pueden reaccionar con las proteínas); tales reacciones pueden causar el taponamiento de la unión entre el electrodo y la solución de analito.

23B.3 Precauciones en la utilización de los electrodos de referencia

Al usar los electrodos de referencia, como los que se muestran en la figura 23.2, el nivel del líquido interno debe mantenerse siempre por arriba del de la solución de la muestra para impedir la contaminación de la solución del electrodo y el taponamiento de la unión debido a la reacción de la solución de analito con los iones plata o mercurio(I) de la solución interna. La obstrucción de la unión es quizá la causa más frecuente del comportamiento errático (ruido) de la celda en las mediciones potenciométricas. Se han elaborado muchos esquemas para evitarla y conservar un buen contacto entre los electrodos de referencia y las soluciones de analito. Los tapones de Vycor que se ilustran en la figura 23.2 proporcionan excelente contacto y si se les mantiene húmedos ofrecen una unión reproducible de

bajo ruido. En el caso de algunas aplicaciones que requieren electrodos, el de referencia podría requerir una unión especial que fluya con poca resistencia para reducir el ruido eléctrico, tal como la unión de difusión libre que se describe en la sección 23H.5 y se ilustra en la figura 23.18.

Si se mantiene el nivel del líquido por encima del de la solución de analito, es inevitable alguna contaminación de la muestra. En la mayor parte de los casos, la contaminación es tan leve que no tiene trascendencia. Sin embargo, en la determinación de iones tales como cloruro, potasio, plata y mercurio, se debe tener precaución para evitar esta fuente de error. Una manera frecuente de evitarla es interponer un segundo puente salino entre el analito y el electrodo de referencia; dicho puente debe contener un electrolito que no interfiera, como nitrato de potasio o sulfato de sodio. Varios fabricantes de instrumentos ofrecen electrodos de doble unión que presentan este diseño.

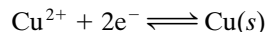
23C ELECTRODOS INDICADORES METÁLICOS

Un electrodo indicador ideal responde con rapidez y de manera reproducible a los cambios de actividad del ion analito. Aunque ningún electrodo indicador es absolutamente específico en su respuesta, ahora se dispone de unos pocos que son muy selectivos. Hay dos tipos de electrodos indicadores: metálicos y de membrana. Esta sección trata de los primeros.

Se pueden distinguir cuatro tipos de electrodos indicadores metálicos: electrodos de primera clase, electrodos de segunda clase, electrodos de tercera clase y electrodos inertes redox.

23C.1 Electrodos de primera clase

Un electrodo metálico de primera clase está hecho de metal puro en equilibrio directo con su catión en solución. En este caso, hay una única reacción. Por ejemplo, para un electrodo indicador de cobre se puede escribir



El potencial E_{ind} de este electrodo está definido por

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= E_{\text{Cu}}^0 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Cu}^{2+}}} \\ &= E_{\text{Cu}}^0 - \frac{0.0592}{2} \text{pCu} \end{aligned} \quad (23.2)$$

donde pCu es el logaritmo negativo de la actividad del ion cobre(II) $a_{\text{Cu}^{2+}}$. Por consiguiente, el electrodo de



Tutorial: Aprenda más sobre **electrodos potenciométricos**.

cobre proporciona una medida directa del p_{Cu} de la solución.⁴

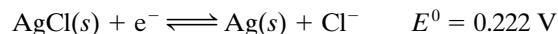
Los electrodos de la primera clase no son muy utilizados en el análisis potenciométrico por varias razones. En primer lugar, no son muy selectivos, y responden no sólo a sus propios cationes sino también a otros que se reducen con facilidad. Por ejemplo, un electrodo de cobre no puede utilizarse para determinar iones Cu(II) en presencia de iones plata(I), que también se reducen en la superficie del cobre. Además, muchos electrodos metálicos, como los de cinc y cadmio, sólo pueden utilizarse en soluciones neutras o básicas porque se disuelven en presencia de ácidos. En tercer lugar, algunos metales se oxidan con tanta facilidad que su uso queda restringido a soluciones en las que previamente se ha eliminado el aire. Por último, ciertos metales duros, como hierro, cromo, cobalto y níquel, no proporcionan potenciales reproductibles. Más aún, para estos electrodos, las gráficas de pX contra actividad proporcionan pendientes que difieren significativa e irregularmente del valor teórico $(-0.0592/n)$. Por estas razones, los únicos sistemas de electrodos de la primera clase que se utilizan son Ag-Ag^+ y Hg-Hg_2^{2+} en soluciones neutras, y CuCu^{2+} , Zn-Zn^{2+} , Cd-Cd^{2+} , Bi-Bi^{3+} , Tl-Tl^+ y Pb-Pb^{2+} en soluciones sin aire.

Recuerde que el factor de Nernst de $0.0592/2$ que aparece en la ecuación 23.2 y en todo el capítulo es igual a $2.303RT/2F$. No se hará referencia en forma rutinaria a que esta “constante” depende de la temperatura, pero *tenga en cuenta que todas las mediciones de los electrodos están sujetas a errores ocasionados por las fluctuaciones de temperatura que de manera inevitable ocurren en el laboratorio, en el campo y, por consiguiente, en las muestras analíticas*. Por lo que toca al trabajo rutinario de poca precisión, las pequeñas fluctuaciones de temperatura ocasionan efectos insignificantes en los resultados, pero cuando ésta cambia en forma importante o cuando se requieren mediciones de alta precisión, las temperaturas de las muestras se tienen que cuantificar y aplicar las correcciones apropiadas a los resultados. Muchos instrumentos comerciales para efectuar mediciones potenciométricas están equipados con un programa o con circuitos para con-

trolar la temperatura y corregir la salida de los datos respecto a los cambios en ella (véase sección 23G.2).

23C.2 Electrodos de segunda clase

Con frecuencia un electrodo de metal es responsable de la actividad de un anión con el que forma un precipitado o un ion complejo estable. Por ejemplo, la plata puede servir como un *electrodo de segunda clase* para haluros y aniones pseudohaluro. Para preparar un electrodo capaz de determinar ion cloruro sólo es necesario saturar con cloruro de plata la capa de solución de analito adyacente al electrodo de plata. La reacción de electrodo se puede entonces escribir como

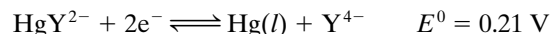


Al aplicar la ecuación de Nernst a esta reacción se obtiene

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= 0.222 - 0.0592 \log a_{\text{Cl}^-} \\ &= 0.222 + 0.0592 p_{\text{Cl}} \end{aligned} \quad (23.3)$$

Una manera adecuada de preparar un electrodo sensible a los cloruros es poner un alambre de plata pura como ánodo en una celda electrolítica que contenga cloruro de potasio. El alambre quedará revestido con un depósito adherido de haluro de plata, que se equilibrará rápidamente con la capa superficial de una solución en la que esté sumergido. Dado que la solubilidad del cloruro de plata es baja, un electrodo obtenido de esta manera puede utilizarse para numerosas mediciones.

Un electrodo importante de segunda clase para medir la actividad del anión Y^{4-} del ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) se basa en la respuesta de un electrodo de mercurio en presencia de una pequeña concentración del complejo estable del EDTA con Hg(II) . La semirreacción para el proceso de electrodo se puede escribir como sigue



para la cual

$$E_{\text{ind}} = 0.21 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{a_{\text{Y}^{4-}}}{a_{\text{HgY}^{2-}}}$$

Para usar este sistema de electrodos se requiere introducir al principio una pequeña concentración de HgY^{2-} en la solución de analito. El complejo es tan estable (para HgY^{2-} , $K_f = 6.3 \times 10^{21}$) que su actividad es en esencia constante en un amplio intervalo de actividades de Y^{4-} . Por tanto, la ecuación del potencial se expresa en la forma

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0.0592}{2} \log a_{\text{Y}^{4-}} = K + \frac{0.0592}{2} pY \quad (23.4)$$

⁴Los resultados de las mediciones potenciométricas se suelen expresar en términos de una variable, la *función p*, que es directamente proporcional al potencial medido. Entonces, la función p proporciona una medida de la actividad en términos de un número adecuado, pequeño y, por lo regular, positivo. Por consiguiente, para una solución con una actividad de ion calcio de $2.00 \times 10^{-6} \text{ M}$, se puede escribir $p_{\text{Ca}} = -\log(2.00 \times 10^{-6}) = 5.699$. Observe que a medida que la actividad del calcio aumenta, disminuye su función p . Note también que como la actividad se da con tres cifras significativas, es necesario mantener este número de cifras a la derecha del punto decimal en el cálculo de p_{Ca} , porque éstos son los únicos números que dan información sobre el 2.00 original. El 5 en el valor de p_{Ca} suministra información nada más sobre la posición del punto decimal en el número original.

donde la constante K es igual a

$$K = 0.21 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{HgY}^{2-}}}$$

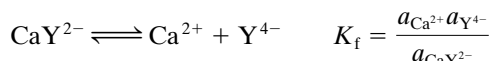
Este electrodo es útil para establecer los puntos finales en las titulaciones con EDTA.

23C.3 Electrodo de tercera clase

En ciertas circunstancias, se puede hacer que un electrodo metálico responda a un catión diferente. Entonces se convierte en un electrodo de tercera clase. Como ejemplo, un electrodo de mercurio se ha usado para determinar pCa de soluciones que contienen calcio. Como en el ejemplo precedente, se introduce en la solución una pequeña concentración del complejo de EDTA con Hg(II). Como antes (ecuación 23.4), el potencial de un electrodo de mercurio en esta solución es

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0.0592}{2} \log a_{\text{Y}^{4-}}$$

Si además se introduce un pequeño volumen de una solución que contiene el complejo de EDTA con el calcio, se establece un nuevo equilibrio, a saber,



Al combinar la expresión de la constante de formación del CaY^{2-} con la expresión del potencial se obtiene

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0.0592}{2} \log \frac{K_f a_{\text{CaY}^{2-}}}{a_{\text{Ca}^{2+}}}$$

que se puede escribir como

$$E_{\text{ind}} = K - \frac{0.0592}{2} \log K_f a_{\text{CaY}^{2-}} - \frac{0.0592}{2} \log \frac{1}{a_{\text{Ca}^{2+}}}$$

Si se emplea una cantidad constante de CaY^{2-} en la solución de analito y en las soluciones para normalización, se podría escribir

$$E_{\text{ind}} = K' - \frac{0.0592}{2} \text{pCa}$$

donde

$$K' = K - \frac{0.0592}{2} \log K_f a_{\text{CaY}^{2-}}$$

Entonces, el electrodo de mercurio se ha transformado en un electrodo de tercera clase para el ion calcio.

23C.4 Indicadores redox metálicos

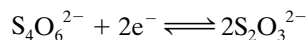
Los electrodos construidos con platino, oro, paladio u otros metales inertes sirven a menudo como electro-

dos indicadores para sistemas de oxidación-reducción. En estas aplicaciones, el electrodo inerte actúa como una fuente o un sumidero de electrones transferidos desde un sistema redox en la solución. Por ejemplo, el potencial de un electrodo de platino en una solución que contiene iones Ce(III) y Ce(IV) es igual a

$$E_{\text{ind}} = E^0 - 0.0592 \log \frac{a_{\text{Ce}^{3+}}}{a_{\text{Ce}^{4+}}}$$

Entonces, un electrodo de platino puede servir como indicador en una titulación en la que el Ce(IV) se utilice como reactivo estándar.

Sin embargo, hay que hacer notar que los procesos de transferencia de electrones en los electrodos inertes no suelen ser reversibles.⁵ El resultado es que los electrodos inertes no responden de manera predecible a muchas de las semirreacciones que se encuentran en la tabla de potenciales de electrodo. Por ejemplo, un electrodo de platino sumergido en una solución de iones tiosulfato y tetratiónato no presenta potenciales reproducibles porque el proceso de transferencia de electrones



es lento y, por tanto, irreversible en la superficie del electrodo.

23D ELECTRODOS INDICADORES DE MEMBRANA

Se puede conseguir en el comercio una amplia variedad de electrodos de membrana que permiten la determinación rápida y selectiva de numerosos cationes y aniones mediante mediciones potenciométricas directas.⁶ A menudo, los electrodos de membrana se denominan *electrodos selectivos de iones* debido a la gran capacidad de discriminación de la mayor parte de estos dispositivos. También se les llama *electrodos de plon*

⁵En este caso se hace referencia a la reversibilidad termodinámica práctica; es decir, si hay un cambio pequeño en el potencial de electrodo, el equilibrio se restablece con rapidez relativa. Si la reacción de transferencia de electrones en cualquier dirección es demasiado lenta, no se logra el equilibrio, por esa razón se dice que la reacción es irreversible o casi irreversible. Detalles de los procesos termodinámicos y de la reversibilidad de la transferencia de electrones se encuentran en A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001, cap. 2, pp. 44-48.

⁶Algunas fuentes que contienen mayor información sobre este tema son R. S. Hutchins y L. G. Bachas, en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. A. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997; J. Koryta, *Ions, Electrodes, and Membranes*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1991; A. Evans, *Potentiometry and Ion-Selective Electrodes*, Nueva York: Wiley, 1987; D. Ammann, *Ion-Selective Microelectrodes: Principles, Design, and Application*, Nueva York: Springer, 1986.

TABLA 23.2 Tipos de electrodos de membrana selectivos de iones.

A. Electrodos de membrana cristalina	
1. Cristal único	Ejemplo: LaF_3 para F^-
2. Policristalina o mezcla de cristales	Ejemplo: Ag_2S para S^{2-} y Ag^+
B. Electrodos de membrana no cristalina	
1. Vidrio	Ejemplos: vidrios de silicato para Na^+ e H^+
2. Líquido	Ejemplos: líquidos intercambiadores de iones para Ca^{2+} y transportadores neutros para K^+
3. Líquido inmovilizado en un polímero rígido	Ejemplo: matriz de policloruro de vinilo para Ca^{2+} y NO_3^-

debido a que su respuesta se registra casi siempre como una función p, como pH, pCa, o pNO_3 (véase nota 4).

23D.1 Clasificación de las membranas

La tabla 23.2 contiene una lista de los diversos tipos de electrodos de membrana selectivos de iones que se han producido. Éstos difieren en la composición física o química de la membrana. El mecanismo general por el cual se forma en estos dispositivos un potencial selectivo de iones depende de la naturaleza de la membrana y es por completo diferente del origen del potencial en los electrodos indicadores metálicos. Ya se ha visto que el potencial de un electrodo metálico tiene su origen en la tendencia que existe en la superficie de éste a que se produzca una reacción de oxidación-reducción. En los electrodos de membrana, por el contrario, el que se observa es un tipo de potencial de unión que se desarrolla en la membrana que separa la solución de analito de la solución de referencia.

23D.2 Propiedades de las membranas selectivas de iones

Todas las membranas selectivas de iones en los electrodos que se muestran en la tabla 23.2 presentan propiedades comunes que dan origen a su sensibilidad y selectividad hacia ciertos cationes y aniones. Entre estas propiedades están las siguientes:

- 1. Mínima solubilidad.** Una propiedad necesaria de un medio selectivo de iones es que su solubilidad en las soluciones de analito, generalmente acuosas, se aproxime a cero. Por consiguiente, muchas membranas están formadas por moléculas grandes o

grupos de ellas, como los vidrios de sílice o las resinas poliméricas. Los compuestos inorgánicos iónicos de baja solubilidad, como los haluros de plata, también se pueden convertir en membranas.

- 2. Conductividad eléctrica.** Una membrana debe presentar algo de conductividad eléctrica, aunque sea pequeña. En general, esta conducción toma la forma de migración de iones con una sola carga en el interior de la membrana.
- 3. Reactividad selectiva con el analito.** La membrana o alguna de las especies contenida en la matriz de la membrana debe ser capaz de unirse en forma selectiva con los iones del analito. Hay tres tipos de uniones: por intercambio iónico, por cristalización y por complejación. Los dos primeros son los más comunes, y en este libro la atención se centra sobre todo en estos dos tipos de unión.

23D.3 El electrodo de vidrio para medir pH

El análisis sobre cómo están contruidos los electrodos de membrana de pIon y de cómo funcionan empieza con el examen detallado del electrodo de vidrio para medir el pH. Éste es anterior en varias décadas a todos los demás electrodos de membrana, y es el que más se utiliza en el mundo.⁷

Desde principios de los años treinta del siglo xx, la manera más adecuada de determinar el pH ha sido midiendo la diferencia de potencial a través de una membrana de vidrio que separa la solución de analito de una solución de referencia de acidez fija. El fenómeno en que se basa esta medida fue identificado por primera vez por Cremer⁸ en 1906 y Haber⁹ lo investigó sistemáticamente unos pocos años después. La instalación general del electrodo de vidrio para medir el pH se detuvo durante dos décadas, y fue hasta que se inventó el tubo de vacío que se pudieron medir de manera apropiada los potenciales a través de membranas de vidrio cuya resistencia es de 100 MΩ o más. Los estudios sistemáticos de la sensibilidad al pH de las membranas de vidrio hizo que a finales de los años sesenta se perfeccionaran y comercializaran los electrodos de membrana para dos docenas o más de iones, como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , F^- y NO_3^- .

En la figura 23.3a se representa una celda característica para medir el pH. La celda consiste en un electrodo indicador de vidrio y un electrodo de referencia

⁷H. Galster, *pH Measurement: Fundamentals, Methods, Applications, Instrumentation*, Nueva York: Wiley, 1991; R. G. Bates, *Determination of pH*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1973.

⁸M. Cremer, *Z. Biol.*, **1906**, 47, p. 562.

⁹F. Haber y Z. Klemensiewicz, *Z. Phys. Chem.*, **1909**, 67, p. 385.

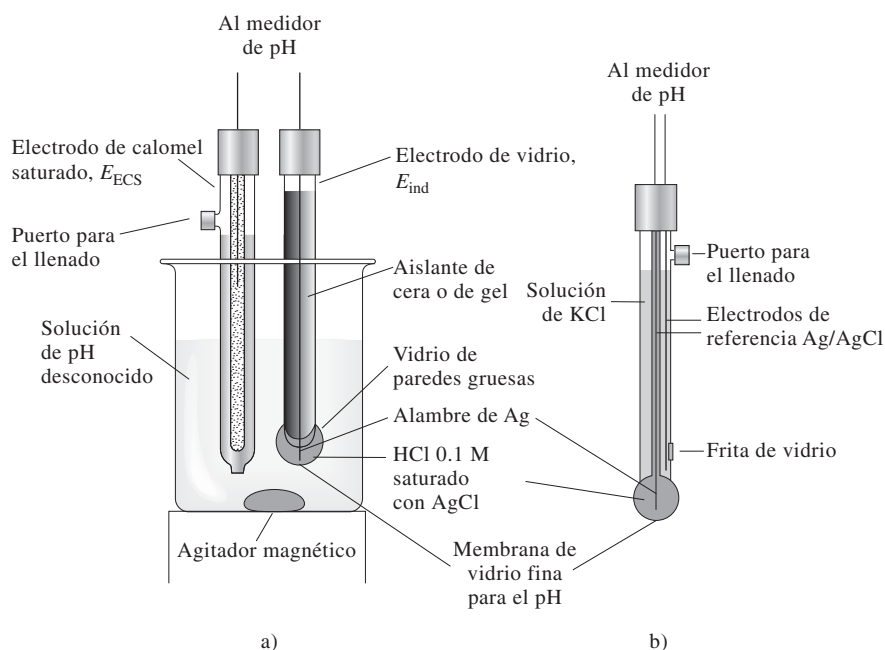


FIGURA 23.3 Sistema de electrodos típico para medir el pH. a) Electrodo de vidrio (indicador) y electrodo de calomel saturado (de referencia) sumergidos en una solución de pH desconocido. b) Sonda de combinación que está constituida por un electrodo indicador de vidrio y un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata. Un segundo electrodo de plata-cloruro de plata funciona como la referencia interna del electrodo de vidrio. Los dos electrodos están acomodados en forma concéntrica; la referencia interna es la que está en el centro y la referencia externa está fuera. La referencia hace contacto con la solución de analito por medio de una frita de vidrio u otro medio poroso apropiado. Las sondas de combinación son la configuración más común de electrodo de vidrio y de referencia para medir el pH.

de plata-cloruro de plata o de calomel saturado; los dos electrodos están sumergidos en una solución cuyo pH se desea determinar. El electrodo indicador consiste en una delgada membrana de vidrio sensible al pH sellada en el extremo de un tubo de vidrio de paredes gruesas o de plástico. El tubo contiene un pequeño volumen de ácido clorhídrico diluido saturado con cloruro de plata (en algunos electrodos la solución interna es un tampón o amortiguador que contiene ion cloruro). En esta solución un alambre de plata forma un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata, que se conecta a una de las terminales de un dispositivo para medir el potencial. El electrodo de referencia se conecta a la otra terminal.

La figura 23.4, que es una representación esquemática de la celda de la figura 23.3a, muestra que esta celda contiene dos electrodos de referencia: 1) el electrodo externo de plata-cloruro de plata (ref 1) y 2) el electrodo interno de plata-cloruro de plata (ref 2). Aunque el electrodo de referencia interno forma parte del electrodo de vidrio, no es el elemento sensible al pH; es la delgada membrana de vidrio, en la base del electrodo, la que responde al pH.

En la figura 23.3b se observa la configuración más común para medir el pH mediante un electrodo de vidrio. En esta configuración, el electrodo de vidrio y su electrodo de referencia interno de Ag-AgCl están colocados en el centro de una sonda cilíndrica. Un electrodo de referencia externo (casi siempre del tipo Ag-AgCl) rodea al electrodo de vidrio. La presencia del electrodo de referencia externo no es tan obvia como en la configuración de sonda doble de la figura 23.3a, pero la sonda sencilla es más conveniente y puede ser más pequeña que el sistema doble. La membrana de vidrio sensible al pH está unida a la base de la sonda. Dichas sondas se hacen de formas y tamaños diferentes (5 cm a 5 mm) para adecuarse a una amplia gama de aplicaciones en el laboratorio y la industria.

Composición y estructura de las membranas de vidrio

Muchas investigaciones sistemáticas se han dedicado al estudio de los efectos de la composición del vidrio en la sensibilidad de las membranas frente a los protones y otros cationes, y en la actualidad se utiliza una variedad de formulaciones para la fabricación de elec-

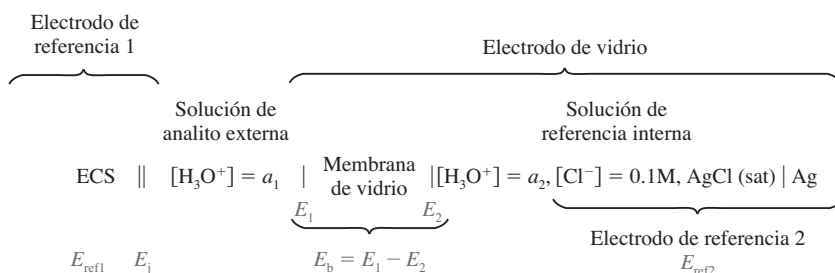


FIGURA 23.4 Diagrama de la celda de vidrio-calomel para medir el pH. E_{ECS} es el potencial del electrodo de referencia, E_j es el potencial de unión, a_1 es la actividad de los iones hidronio en la solución de analito, E_1 y E_2 son los potenciales en uno y otro lado de la membrana de vidrio, E_b es el potencial en la frontera y a_2 es la actividad del ion hidronio en la solución de referencia interna.

trodos. El vidrio Corning 015, que ha sido muy usado en las membranas, consta de casi 22% de Na_2O , 6% de CaO y 72% de SiO_2 . Esta membrana tiene una respuesta específica a los iones hidrógeno hasta un pH de aproximadamente 9. Con valores superiores, el vidrio empieza a dar una cierta respuesta al sodio, al igual que a otros cationes monovalentes. En la actualidad se utilizan otras formulaciones de vidrio en las que se han sustituido en diversos grados los iones sodio y calcio

por iones bario y litio. Estas membranas tienen una selectividad superior a pH elevados.

La figura 23.5 es una representación bidimensional de la estructura de una membrana de vidrio de silicato. Cada átomo de silicio se muestra enlazado a tres átomos de oxígeno en el plano del papel. Además, cada uno se enlaza a otro oxígeno por encima o por debajo del plano. Por consiguiente, el vidrio consiste en una red tridimensional infinita de grupos SiO_4^- en la que

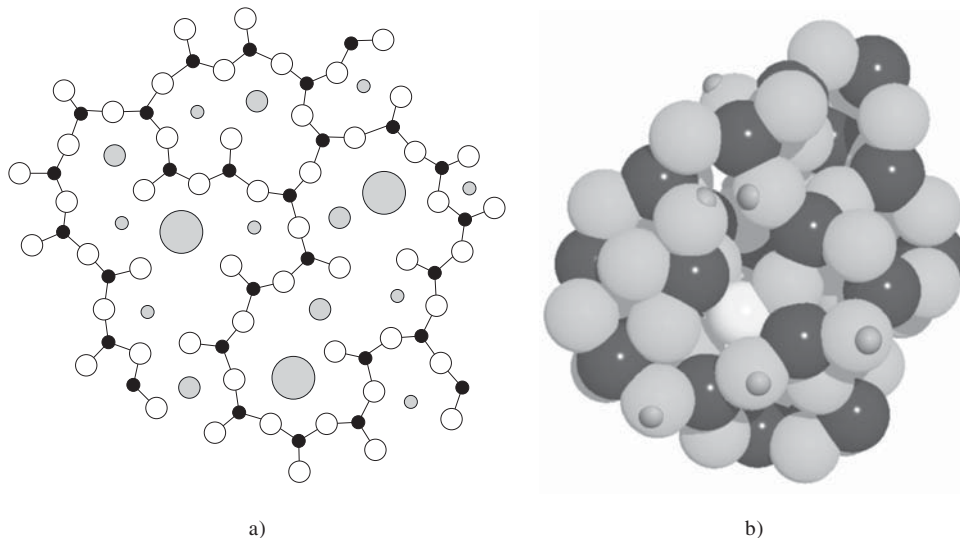


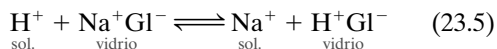
FIGURA 23.5 a) Vista de la sección transversal de la estructura de un vidrio de silicato. Además de los tres enlaces $\text{Si}-\text{O}$ que se muestran, cada silicio se enlaza a un átomo de oxígeno adicional, por encima o por debajo del plano del papel. (Adaptación autorizada de G. A. Perley, *Anal. Chem.*, **1949**, 21, p. 395. Copyright 1949 American Chemical Society.) b) Modelo en el que se muestra una estructura tridimensional de sílice amorfo con ion Na^+ (círculo grande gris oscuro) y varios iones H^+ (círculos pequeños grises oscuros) incorporados. Observe que el ion Na^+ está rodeado por una celda de átomos de oxígeno (gris claro) y que cada protón en la red está unido a un oxígeno. Las cavidades de la estructura, el tamaño pequeño y la alta movilidad del protón aseguran que los protones sean capaces de migrar hacia lo profundo de la superficie del sílice. Otros cationes y moléculas de agua se podrían incorporar también en los intersticios de la estructura.

cada silicio está enlazado a cuatro átomos de oxígeno y cada oxígeno es compartido por dos silicios. Dentro de los intersticios de esta estructura hay suficientes cationes para compensar la carga negativa de los grupos silicato. Los cationes monovalentes, como el sodio y el litio, se pueden mover en la red y se encargan de conducir la electricidad en el interior de la membrana.

La higroscopicidad de las membranas de vidrio

La superficie de una membrana de vidrio debe estar hidratada antes de funcionar como electrodo de pH. La cantidad de agua necesaria es de aproximadamente 50 mg por centímetro cúbico de vidrio. Los vidrios no higroscópicos no muestran la función pH. Incluso los vidrios higroscópicos pierden su sensibilidad al pH después de deshidratarse si se les almacena sobre un desecante. Sin embargo, el efecto es reversible, y la respuesta del electrodo de vidrio se recupera después de remojarlo en agua.

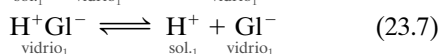
La hidratación de una membrana de vidrio sensible al pH consiste en una reacción de intercambio iónico entre los cationes monovalentes de la retícula del vidrio y los protones de la solución. En este proceso participan exclusivamente los cationes monovalentes porque los divalentes y trivalentes están retenidos demasiado fuertemente en la estructura del silicato para poder intercambiarse con los iones de la solución. En general, la reacción de intercambio iónico se puede expresar entonces como



La constante de equilibrio de este proceso es tan grande que la superficie de una membrana de vidrio hidratado consta por lo regular tan sólo de grupos de ácido silícico ($\text{H}^+ \text{Gl}^-$). Una excepción a esta situación se presenta en medios fuertemente alcalinos, en los que la concentración del ion hidrógeno es muy baja y la de ion sodio es elevada; en este caso, una fracción significativa de las posiciones está ocupada por iones sodio.

Conducción eléctrica en las membranas de vidrio

Para que una membrana de vidrio sirva como indicador de cationes, debe conducir electricidad. La conducción en el interior de la capa de gel hidratada se debe al movimiento de iones hidrógeno. Los iones sodio son los portadores de carga en el interior seco de la membrana. La conducción a través de las interfases solución-gel tiene lugar por medio de las reacciones



el subíndice 1 se refiere a la interfase entre el vidrio y la solución de analito y el subíndice 2 se refiere a la interfase entre la solución interna y el vidrio. Las posiciones de estos dos equilibrios están determinadas por las actividades del ion hidrógeno en las soluciones que se encuentran a ambos lados de la membrana. La superficie en la que ha ocurrido una mayor disociación se hace negativa respecto a aquella en la que ha tenido lugar una menor disociación. Se desarrolla así un potencial de frontera o de superficie E_b a través de la membrana. La magnitud del potencial de superficie depende de la relación entre las actividades del ion hidrógeno y las de las dos soluciones. Esta diferencia de potencial es la que sirve como parámetro analítico en las mediciones potenciométricas del pH con un electrodo de membrana.

Potenciales de membrana

La parte inferior de la figura 23.4 muestra cuatro potenciales que se desarrollan en una celda cuando se mide el pH con un electrodo de vidrio. Dos de ellos, $E_{\text{ref}1}$ y $E_{\text{ref}2}$, son los potenciales de los electrodos de referencia. El tercer potencial es el de unión E_j a través del puente salino que separa el electrodo de calomel de la solución de analito. Los potenciales de unión se encuentran en todas las celdas que se utilizan para la medición potenciométrica de la concentración de iones. Es necesario hacer una selección atinada de la unión para el electrodo de referencia con el fin de mantener el E_j bajo y estable. Una selección deficiente del puente salino es capaz de causar una alta resistencia al flujo de iones, lo que ocasionaría ruido y lecturas inestables. Los fabricantes ofrecen muchas opciones de uniones para diferentes aplicaciones. El cuarto y más importante potencial que se muestra en la figura 23.4 es el *de superficie*, E_b , que varía con el pH de la solución de analito. Los dos electrodos de referencia sólo proporcionan los contactos eléctricos con las soluciones, de forma que se puedan medir los cambios en el potencial de superficie.

La figura 23.4 revela que el potencial de un electrodo de vidrio tiene dos componentes: el potencial fijo de un electrodo de plata-cloruro de plata $E_{\text{ref}2}$ y el potencial de superficie E_b que depende del pH.

El potencial de superficie

Como se muestra en la figura 23.4, el potencial de superficie o de frontera consta de dos potenciales, E_1 y E_2 , cada uno de los cuales se relaciona con una de las dos superficies de vidrio. El potencial de superficie es simplemente la diferencia entre ellos:

$$E_b = E_1 - E_2 \quad (23.8)$$

A partir de consideraciones termodinámicas¹⁰ se puede demostrar que E_1 y E_2 en la ecuación 23.8 están relacionados con las actividades del ion hidrógeno en cada superficie por relaciones nernstianas:

$$E_1 = j_1 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{a'_1}{a_1} \quad (23.9)$$

$$E_2 = j_2 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{a'_2}{a_2} \quad (23.10)$$

donde j_1 y j_2 son constantes y a_1 y a_2 son respectivamente las actividades de H^+ en las *soluciones* en los lados externo e interno de la membrana. Los términos a'_1 y a'_2 son las actividades del H^+ en las *superficies* externa e interna del vidrio que constituye la membrana.

Si las dos superficies de la membrana tienen el mismo número de posiciones cargadas negativamente, como ocurre casi siempre, a partir de las cuales el H^+ se pueda disociar, entonces j_1 y j_2 son idénticas; también lo son a'_1 y a'_2 . Si se sustituyen las ecuaciones 23.9 y 23.10 en la ecuación 23.8 así como las igualdades $j_1 = j_2$ y $a'_1 = a'_2$, se obtiene, después de reordenar términos, la ecuación

$$E_b = E_1 - E_2 = 0.0592 \log \frac{a_1}{a_2} \quad (23.11)$$

Por consiguiente, el potencial de superficie E_b depende sólo de las actividades del ion hidrógeno en las soluciones a ambos lados de la membrana. En cuanto a un electrodo de vidrio de pH, la actividad del ion hidrógeno en la solución interna a_2 se mantiene constante, por tanto la ecuación 23.11 se simplifica a

$$E_b = L' + 0.0592 \log a_1 = L' - 0.0592 \text{ pH} \quad (23.12)$$

donde

$$L' = -0.0592 \log a_2$$

El potencial de superficie es entonces una medida de la actividad del ion hidrógeno en la solución externa (a_1).

La importancia de los potenciales y sus diferencias que aparecen en la ecuación 23.11 se ilustra con los perfiles de potencial que se muestran en la figura 23.6. Los perfiles se grafican a lo largo de la membrana, desde la solución de analito a la izquierda y a través de la membrana hasta la solución interna de la derecha.

Potencial de asimetría

Cuando se colocan soluciones idénticas en los dos lados de una membrana de vidrio, el potencial de superficie o de frontera debe ser cero en principio (véase figura 23.6b). Sin embargo, se observa un potencial de

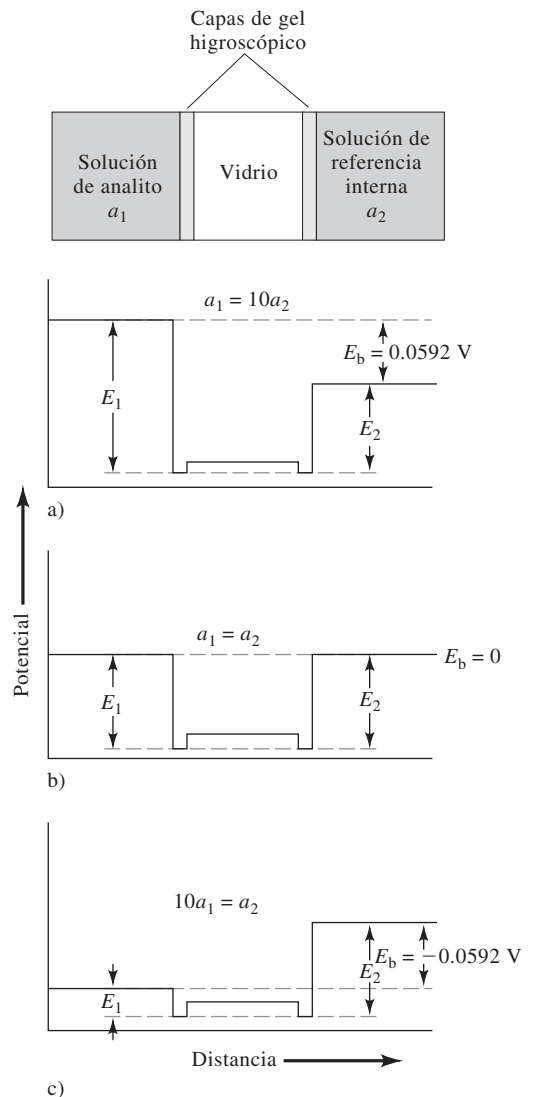


FIGURA 23.6 Perfiles de potencial en una membrana de vidrio, desde la solución de analito hasta la solución interna de referencia. No se muestran los potenciales de los electrodos de referencia.

asimetría pequeño que cambia de manera gradual con el tiempo.

Las fuentes del potencial de asimetría son desconocidas, pero entre ellas están sin duda las diferencias en la deformación de las dos superficies de la membrana creadas durante la manufactura, la abrasión mecánica en la superficie exterior producida por el uso y el ataque químico de la superficie externa. Para eliminar la polarización causada por el potencial de asimetría, todos los electrodos de membrana tienen que estar calibrados respecto a una o más soluciones patrón de analito. Dichas calibraciones se deben efectuar por lo

¹⁰G. Eisenman, *Biophys. J.*, **1962**, 2 (parte 2), p. 259.

menos a diario, y con mayor frecuencia cuando el electrodo se usa de manera reiterada.

Potencial del electrodo de vidrio

Como ya se señaló, el potencial de un electrodo indicador de vidrio E_{ind} tiene tres componentes: 1) el potencial de superficie, que se evalúa con la ecuación 23.12, 2) el potencial E_{ref2} , del electrodo de referencia interno Ag-AgCl y 3) un pequeño potencial de asimetría E_{asi} . En forma de ecuación,

$$E_{\text{ind}} = E_b + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}}$$

Si se sustituye E_b por la ecuación 23.12 se obtiene

$$E_{\text{ind}} = L' + 0.0592 \log a_1 + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}}$$

o bien,

$$E_{\text{ind}} = L + 0.0592 \log a_1 = L - 0.0592 \text{pH} \quad (23.13)$$

L es una combinación de los tres términos constantes. Es decir,

$$L = L' + E_{\text{ref2}} + E_{\text{asi}} \quad (23.14)$$

Observe la similitud entre la ecuación 23.13 y las ecuaciones 23.2 y 23.4 para los electrodos metálicos indicadores de cationes. Es importante resaltar que aunque las dos últimas ecuaciones son similares a la ecuación 23.13, las fuentes del potencial de los electrodos que describen son del todo diferentes, uno es un potencial redox, y el otro es un potencial de superficie.

Error alcalino

En soluciones básicas, los electrodos de vidrio son sensibles a la concentración tanto del ion hidrógeno como de los iones de los metales alcalinos. En la figura 23.7 (curvas C a F), se muestra la magnitud de este error alcalino para cuatro membranas de vidrio diferentes. Estas curvas se refieren a soluciones en las que la concentración de ion sodio se mantuvo constante en 1 M mientras se variaba el pH. Observe que el error es negativo (es decir, los valores de pH que se midieron fueron más bajos que los valores verdaderos), lo que apunta a que el electrodo es sensible tanto a los iones sodio como a los protones. Esta observación se confirma con datos obtenidos de soluciones que contienen diferentes concentraciones de ion sodio. Entonces, a pH 12, el electrodo con una membrana Corning 015 (curva C en la figura 23.7) registra un pH de 11.3 cuando se sumerge en una solución que tiene una concentración 1 M de ion sodio, pero registra 11.7 en una solución 0.1 M de este ion. Todos los cationes con una sola carga inducen un error alcalino cuya magnitud depende tanto del catión en cuestión como de la composición de la membrana de vidrio.

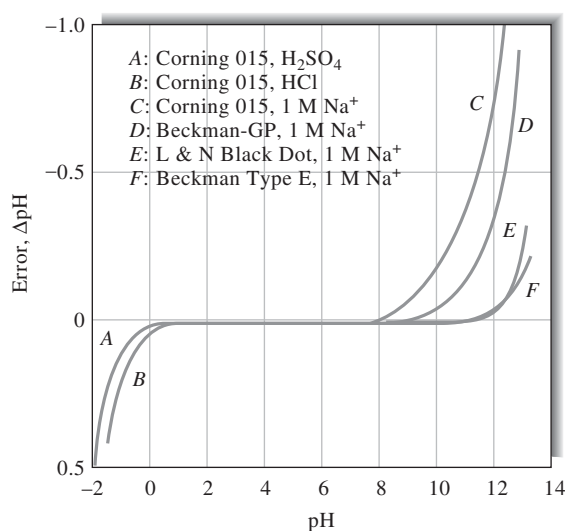
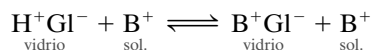


FIGURA 23.7 Error ácido y alcalino de algunos electrodos de vidrio a 25°C. (From R. G. Bates, *Determination of pH*, 2a. ed., p. 365. Nueva York: Wiley, 1973. Reproducido con autorización.)

El error alcalino se puede explicar de manera satisfactoria si se supone que existe un equilibrio de intercambio entre los iones hidrógeno en la superficie del vidrio y los cationes en solución. Este proceso es simplemente el inverso del que se muestra en la ecuación 23.5, o



donde B^+ representa cualquier catión de una sola carga, tal como el ion sodio. En este caso, la actividad de los iones sodio en relación con la de los iones hidrógeno se hace tan grande que el electrodo responde a ambas especies.

Hay formulaciones de vidrio de muchas marcas que reducen al mínimo el error alcalino a un pH alto. Muchos electrodos de vidrio para uso rutinario están hechos todavía de vidrios cuyas características son similares a las del Corning 015.

Coefficientes de selectividad

El efecto de un ion de un metal alcalino sobre el potencial de membrana se puede tomar en cuenta si se añade un término más a la ecuación 23.12:

$$E_b = L' + 0.0592 \log(a_1 + k_{\text{H,B}} b_1) \quad (23.15)$$

donde $k_{\text{H,B}}$ es el *coeficiente de selectividad* del electrodo y b_1 es la actividad del ion del metal alcalino. La ecuación 23.15 se aplica no sólo a los electrodos indicadores de vidrio para el ion hidrógeno, sino también a todos los otros tipos de electrodos de membrana. Los coeficientes de selectividad van desde cero (no hay

interferencia) a valores mayores que la unidad. Un coeficiente de selectividad igual a uno significa que el electrodo responde por igual al ion del analito y al ion interferente. Si un electrodo para un ion A responde 20 veces más al ion B que al ion A, entonces $k_{A,B}$ tiene un valor de 20. Si la respuesta del electrodo al ion C es 0.001 veces su respuesta para A (una situación mucho más deseable), $k_{A,C}$ es 0.001.¹¹

El producto $k_{H,B}b_1$ para el electrodo de vidrio de pH es por lo regular pequeño respecto a a_1 siempre que el pH sea inferior a 9; en esas condiciones, la ecuación 23.15 se simplifica y da la ecuación 23.13. Sin embargo, a valores de pH elevados y a altas concentraciones de iones monovalentes, el segundo término de la ecuación 23.15 desempeña un papel más importante en la determinación de E_b , y se observa un error alcalino. En los electrodos diseñados de manera específica para trabajar en medios fuertemente alcalinos (curva E en la figura 23.7), la magnitud de $k_{H,B}b_1$ es mucho menor que en los electrodos de vidrio ordinarios.

Error ácido

Como se muestra en la figura 23.7, el electrodo típico de vidrio presenta un error de signo opuesto al error alcalino en soluciones de pH inferior a 0.5; las lecturas de pH tienden a ser demasiado elevadas en esta región. La magnitud del error depende de una diversidad de factores y, por lo general, no es muy reproducible. No se entienden bien todas las causas del error ácido, pero una de ellas es un efecto de saturación que ocurre cuando todos los sitios de la superficie de vidrio están ocupados con iones H^+ . En estas condiciones, el electrodo ya no es sensible a otro incremento en la concentración de H^+ y las lecturas del pH son demasiado altas.

Los datos de la figura 23.7 ya no son actuales, y los modelos de electrodos de vidrio que se enlistan ya no están disponibles, pero el Corning 015 y vidrios similares todavía se usan para fabricar muchos de estos dispositivos. Los errores que se muestran en la figura dirigen la atención a regiones de la escala de pH donde se debe ser cauteloso. Las formulaciones de vidrio recientes de varios fabricantes amplían el intervalo de uso de los electrodos de vidrio al extremo superior o al inferior, pero no hay duda de que la relación entre pH y potencial de electrodo de vidrio se vuelve no lineal en los extremos de la escala. Es importante tener mucha precaución tanto al calibrar el medidor de pH como al interpretar los resultados cuando las mediciones se efectúan en los extremos de la escala de pH.

¹¹ Una lista de coeficientes de selectividad para todos los tipos de electrodos selectivos de iones aparece en Y. Umezawa, *CRC Handbook of Ion Selective Electrodes: Selectivity Coefficients*, Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.

Las desviaciones de la linealidad en los extremos que se pueden ver en la figura 23.7 deben recordar constantemente que a los valores de pH abajo de 0 y arriba de 12 se les debe observar con ojo muy crítico. Las descripciones teóricas de incluso las soluciones más simples en estas regiones del pH son complejas, y la interpretación física de los resultados es difícil.¹² Las mediciones de muestras reales en estas regiones del pH se deben considerar como cualitativas o semicuantitativas cuando mucho.

23D.4 Electrodos de vidrio para otros cationes

El error alcalino en los primeros electrodos de vidrio originó investigaciones sobre el efecto de la composición del vidrio en la magnitud de este error. Una consecuencia fue la fabricación de vidrios para los cuales el error alcalino es insignificante por debajo de un pH de alrededor de 12. Otros estudios han descubierto composiciones de vidrio que permiten determinar cationes diferentes del ion hidrógeno. Esta aplicación requiere que la actividad del ion hidrógeno a_1 en la ecuación 23.15 sea insignificante respecto a $k_{H,B}b_1$; en estas circunstancias, el potencial es independiente del pH y en su lugar es función del pB. La adición de Al_2O_3 o B_2O_3 en el vidrio da el efecto deseado. Se han perfeccionado electrodos de vidrio que permiten la medición potenciométrica directa de especies de una sola carga, como Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Rb^+ , Cs^+ , Li^+ y Ag^+ . Algunos de estos vidrios son razonablemente selectivos a cationes monovalentes concretos. En el comercio se pueden hallar electrodos de vidrio para Na^+ , Li^+ , NH_4^+ y la concentración total de cationes monovalentes.

23D.5 Electrodos de membrana cristalina

Los tipos más importantes de membranas cristalinas se fabrican a partir de un compuesto iónico o de una mezcla homogénea de compuestos iónicos. En algunos casos, la membrana se corta de un solo cristal; en otros, se forman discos mediante presiones elevadas a partir del sólido cristalino finamente molido o a partir del producto fundido. Las membranas características tienen un diámetro de alrededor de 10 mm y un espesor de 1 a 2 mm. Para formar un electrodo, la membrana se sella al final de un tubo construido con un plástico químicamente inerte, como el teflón o el policloruro de vinilo.

Conductividad de las membranas cristalinas

La mayoría de los cristales iónicos son aislantes y carecen de la suficiente conductividad eléctrica a temperatura ambiente como para servir de electrodos de

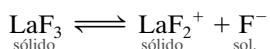
¹² S. L. Clegg, J. A. Rard y K. S. Pitzer, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1994**, 90, p. 1875.

membrana. Los que son conductores se caracterizan por tener un pequeño ion monovalente móvil en la fase sólida. Algunos ejemplos son el ion fluoruro en ciertos fluoruros de tierras raras, el ion plata en haluros y sulfuros de plata, el ion cobre(I) en sulfuro de cobre(I).

El electrodo de fluoruro

El fluoruro de lantano, LaF_3 , es una sustancia casi ideal para la preparación de un electrodo de membrana cristalina para determinar ion fluoruro. Aunque este compuesto es un conductor natural, su conductividad puede intensificarse mediante la adición de fluoruro de europio, EuF_2 . Las membranas se preparan cortando discos a partir de un solo cristal del compuesto impuro.

El mecanismo de desarrollo de un potencial sensible al fluoruro en una membrana de fluoruro de lantano es muy análogo al que se describió para las membranas de vidrio sensibles al pH. Es decir, la ionización crea una carga en la superficie de la membrana en las dos interfases, como se muestra mediante la ecuación



La magnitud de la carga depende de la concentración de ion fluoruro en la solución. Por consiguiente, el lado de la membrana en contacto con una concentración de ion fluoruro más baja se hace positivo respecto a la otra superficie. Esta carga produce una diferencia de potencial que es una medida de la diferencia de concentración de ion fluoruro en las dos soluciones. El potencial de una celda que contiene un electrodo de fluoruro de lantano se representa por una ecuación análoga a la 23.13. Es decir,

$$E_{\text{ind}} = L - 0.0592 \log a_{\text{F}^-} = L + 0.0592 \text{ pF} \quad (23.16)$$

Observe que están cambiados los signos de los segundos miembros de la derecha debido a que se está determinando un anión (véase también la ecuación 23.3).

Los electrodos comercializados de fluoruro de lantano tienen diferentes formas y tamaños y se pueden conseguir a través de diferentes casas comerciales. La mayoría son fuertes y pueden utilizarse a temperaturas de entre 0° y 80°C . La respuesta del electrodo de fluoruro es lineal hasta 10^{-6} M (0.02 ppm), por debajo de este punto la solubilidad del fluoruro de lantano empieza a contribuir a la concentración de ion fluoruro en la solución de analito. El único ion que interfiere de manera directa en las medidas de fluoruro es el ion hidróxido; esta interferencia empieza a ser grave a $\text{pH} > 8$. A $\text{pH} < 5$, los iones hidrógeno también interfieren en las determinaciones del fluoruro total. En estas condiciones se forma fluoruro de hidrógeno no disociado y el electrodo no responde a esta especie. En

la mayoría de los aspectos, el electrodo de ion fluoruro se acerca al ideal de los electrodos selectivos.

Electrodos basados en sales de plata

Las membranas fabricadas a partir de un único cristal o de discos prensados de varios haluros de plata actúan de manera selectiva respecto a los iones haluro y plata. En general, su comportamiento está lejos del ideal debido a su baja conductividad, baja resistencia mecánica y a su tendencia a desarrollar elevados potenciales fotoeléctricos. Estas desventajas se reducen al mínimo si las sales de plata se mezclan con sulfuro de plata cristalino en una relación molar aproximada de 1:1. Las mezclas homogéneas se forman a partir de soluciones equimolares de iones sulfuro y haluro por precipitación con nitrato de plata. Después de lavar y secar el precipitado, se le moldea en forma de disco bajo la acción de una presión de 10^5 libras por pulgada cuadrada. El disco resultante presenta una buena conductividad eléctrica debido a la movilidad del ion plata en la matriz de sulfuro.

Las membranas construidas con sulfuro de plata o con una mezcla de sulfuro de plata y otra sal de plata son útiles para la determinación tanto de iones sulfuro como de iones plata. Respecto a los iones plata, la respuesta eléctrica es similar a la de un electrodo de metal de primera clase (aunque el mecanismo de actividad es del todo diferente). La respuesta eléctrica de una membrana de sulfuro de plata respecto a los iones sulfuro es similar a la de un electrodo de segunda clase (sección 23B.2). Cuando la membrana está sumergida en la solución por analizar, una pequeñísima cantidad de sulfuro de plata se disuelve y satura con rapidez la capa de líquido adyacente al electrodo. Si embargo, la solubilidad y, por tanto, la concentración de ion plata dependen de la concentración de sulfuro del analito.

Hay también membranas cristalinas que consisten en mezclas homogéneas de sulfuro de plata con sulfuros de cobre(II), plomo o cadmio. Respecto a estos cationes divalentes, los electrodos de estos materiales tienen una respuesta eléctrica similar a la de los electrodos de tercera clase (sección 23C.3). Hay que resaltar que estos sulfuros divalentes, por sí mismos, no son conductores y, por tanto, no manifiestan actividad selectiva de iones.

En la tabla 23.3 se proporciona una lista representativa de los electrodos de estado sólido que se pueden encontrar en el comercio especializado.

23D.6 Electrodos de membrana líquida

Las membranas líquidas se forman a partir de líquidos inmiscibles que se unen de manera selectiva con algunos iones. Las membranas de este tipo son importan-

TABLA 23.3 Características de electrodos cristalinos de estado sólido.

Ion analito	Intervalo de concentraciones, M	Interferentes principales
Br^-	10^0 a 5×10^{-6}	CN^- , I^- , S^{2-}
Cd^{2+}	10^{-1} a 1×10^{-7}	Fe^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+}
Cl^-	10^0 a 5×10^{-5}	CN^- , I^- , Br^- , S^{2-} , OH^- , NH_3
Cu^{2+}	10^{-1} a 1×10^{-8}	Hg^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+}
CN^-	10^{-2} a 1×10^{-6}	S^{2-} , I^-
F^-	Sat. a 1×10^{-6}	OH^-
I^-	10^0 a 5×10^{-8}	CN^-
Pb^{2+}	10^{-1} a 1×10^{-6}	Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+}
$\text{Ag}^+/\text{S}^{2-}$	Ag^+ : 10^0 a 1×10^{-7} S^{2-} : 10^0 a 1×10^{-7}	Hg^{2+}
SCN^-	10^0 a 5×10^{-6}	I^- , Br^- , CN^- , S^{2-}

Tomado de *Orion Guide to Ion Analysis*, Boston, MA: Thermo Orion, 1992. Con autorización de Thermo Electron Corp., Waltham, MA.

tes en particular porque permiten la determinación potenciométrica directa de las actividades de varios cationes polivalentes y también de algunos aniones y cationes monovalentes.

Electrodos de cationes divalentes

Las membranas líquidas se preparan a partir de intercambiadores de iones, líquidos e inmiscibles, que están contenidos en un soporte sólido, inerte y poroso. Como se muestra esquemáticamente en la figura 23.8, un disco de plástico poroso e hidrófobo (es decir, que repele el agua) que mide casi siempre: 3×0.15 mm) sirve para mantener la capa orgánica entre las dos soluciones acuosas. Para determinaciones de cationes divalentes, el tubo interno contiene una solución acuosa patrón de MCl_2 , donde M^{2+} es el catión cuya actividad se desea determinar. Esta solución también está saturada con AgCl para formar un electrodo de referencia de Ag-AgCl con el conductor de alambre de plata.

Para no usar el disco poroso como medio de soporte rígido, es posible inmovilizar intercambiadores líquidos en membranas resistentes de policloruro de vinilo. En este tipo de electrodo, el intercambiador líquido de iones y el policloruro de vinilo se disuelven en un solvente como el tetrahidrofurano. Cuando este último se evapora da lugar a una membrana flexible que puede cortarse de la forma deseada y unirse al extremo de un tubo de plástico o de vidrio. Las membranas formadas de esta manera se comportan en gran parte de la misma forma que aquellas en las que el intercambiador de iones se mantiene como líquido en los poros del disco. La mayoría de los electrodos de membrana líquida son de este nuevo tipo.

Las sustancias activas en las membranas líquidas son de tres tipos: 1) intercambiadores catiónicos; 2) intercambiadores aniónicos; y 3) compuestos neutros macrocíclicos, que forman complejos con ciertos cationes en forma selectiva.

Uno de los electrodos de membrana líquida más importante es el selectivo al ion calcio en medios neutros. El componente activo de la membrana es un intercambiador catiónico que consiste en un diéster alifático del ácido fosfórico disuelto en un solvente polar. El diéster contiene un único protón ácido; por tanto, reaccionan

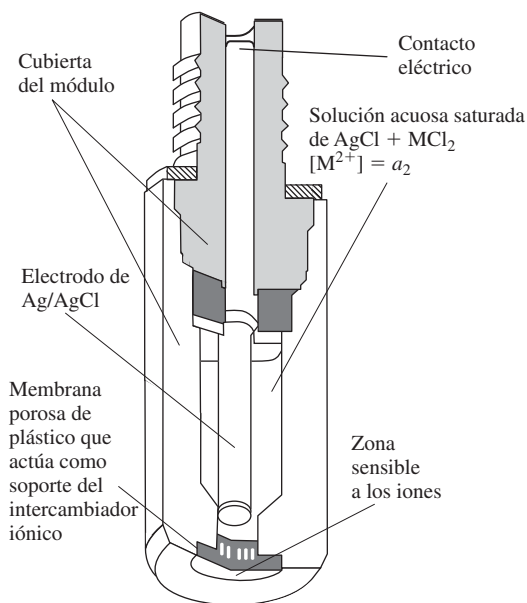


FIGURA 23.8 Electrodo de membrana líquida sensible a M^{2+} . (Cortesía de Thermo Orion Corp., Waltham, MA.)

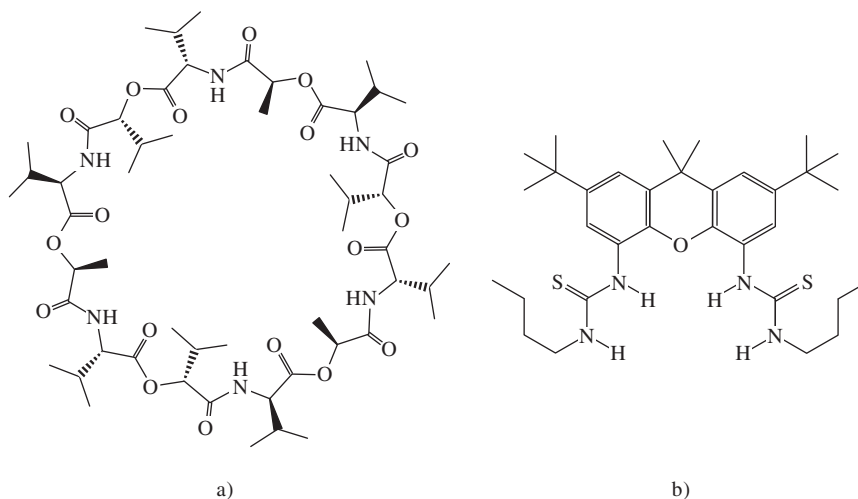
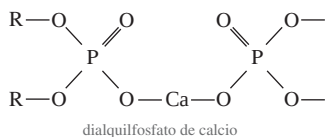
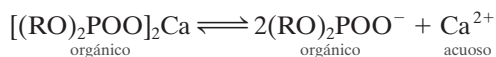


FIGURA 23.9 Ionóforos característicos: a) valinomicina y b) una bis-tiourea.

dos moléculas con el ion calcio divalente para formar un dialquilfosfato con la estructura



Aquí, R es un grupo alifático que contiene de 8 a 16 átomos de carbono. En los electrodos comerciales de este tipo, R es generalmente un grupo C₉. La solución acuosa interna en contacto con el intercambiador (véase figura 23.8) contiene una concentración fija de cloruro de calcio y un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata. El disco poroso, o bien la membrana de policloruro de vinilo, que contiene el líquido intercambiador iónico separa la solución de analito de la solución de referencia de cloruro de calcio. El equilibrio establecido en cada interfase se representa como



Observe la similitud de este equilibrio con la ecuación 23.7 para el electrodo de vidrio. La relación entre el potencial y el pCa es también análoga a la del electrodo de vidrio (ecuación 23.12). Entonces,

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= L + \frac{0.0592}{2} \log a_1 \\ &= L' - \frac{0.0592}{2} \text{pCa} \end{aligned} \quad (23.17)$$

En este caso, el segundo término de la derecha está dividido entre dos debido a que el catión es divalente.

El electrodo de membrana para el calcio es una herramienta valiosa en estudios fisiológicos, debido a que este ion desempeña funciones importantes en la conducción nerviosa, la formación de los huesos, la contracción muscular, la conducción y contracción cardíaca y en los túbulos renales. Al menos algunos de estos procesos reciben más influencia de la actividad de ion calcio que de la concentración del mismo; por supuesto, la actividad es el parámetro que mide el electrodo.

Electrodos selectivos de iones basados en ionóforos

Cuando compuestos neutros, lipofílicos (llamados *ionóforos*, que forman complejos con iones blanco) se añaden a membranas líquidas o poliméricas junto con una pequeña cantidad de un intercambiador de iones lipofílico, los iones blanco son transportados al otro lado del límite solución-membrana mediante la formación del complejo. La selectividad de la membrana por un ion específico está regida por la estabilidad del complejo formado entre el ionóforo y el ion blanco, y la separación de cargas en la barrera solución-membrana produce una respuesta tipo Nernst cuya forma es similar a las ecuaciones 23.16 y 23.17. Los ionóforos están diseñados y sintetizados para maximizar la selectividad por un ion específico; han aparecido cientos de ejemplos en las publicaciones especializadas junto con sus coeficientes de selectividad y otras características.¹³ En la figura 23.9a se muestra la valinomicina, un éter macrocíclico sin carga y antibiótico que tiene una gran afinidad con el potasio. En la figura 23.9b se ilus-

¹³ P. Buhlmann, E. Pretsch y E. Bakker, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, p. 1593; Y. Umezawa *et al.*, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, p. 1851; *Pure Appl. Chem.*, **2002**, 74, p. 923; *Pure Appl. Chem.*, **2002**, 74, p. 995.



FIGURA 23.10 Fotografía de un microelectrodo intercambiador líquido de iones potasio (valinomicina) con 125 mm de intercambiador de iones en el interior de la punta. La ampliación de la fotografía original fue de 400×. (Tomado de J. L. Walker, *Anal. Chem.*, **1971**, 43 [3], p. 91A. Reproducido con autorización de la American Chemical Society.)

tra una bis-tiourea que es especialmente selectiva hacia el cloruro.

El electrodo selectivo de iones potasio tiene gran valor en estudios fisiológicos. La afinidad de una membrana líquida con el potasio respecto al sodio es muy importante porque ambos iones están presentes en todos los sistemas vivos y desempeñan funciones importantes en la transmisión neuronal. La valinomicina es sin lugar a dudas el ionóforo que más se utiliza para el potasio. Es alrededor de 10^4 veces tan sensible al ion potasio como al ion sodio, y 10^7 tan sensible al potasio como al calcio y al magnesio.¹⁴ En la figura 23.10 se ilustra una microfotografía de un microelectrodo de valinomicina para controlar la actividad del potasio en el interior de una célula. En este caso no se requiere una membrana física para separar la solución interna y el analito debido al pequeño diámetro de la abertura de la punta ($<1 \mu\text{m}$) y porque el interior del vidrio se hizo hidrófobo con un revestimiento de silicón. Los electrodos de membrana hechos con valinomicina se usan con muchos analizadores clínicos como la unidad i-STAT que se estudia en la sección 23F.2. Se calcula que sólo en 1990 se utilizaron más de 64 millones de electrodos de valinomicina.¹⁵

¹⁴M. S. Frant y J. W. Ross Jr., *Science*, **1970**, 167, p. 987.

¹⁵Véase nota 13.

En la tabla 23.4 se muestra una lista de algunos electrodos comunes de membrana líquida que ya se comercializan. Los electrodos sensibles a aniones emplean una solución de un intercambiador aniónico en un solvente orgánico. Como ya se mencionó, muchos de los llamados electrodos de membrana líquida son de hecho sólidos en los cuales el líquido está retenido en una matriz polimérica plástica. El primer polímero que más se utilizó para los electrodos de membrana es el policloruro de vinilo,¹⁶ pero ya se usan otros materiales tanto por compatibilidad con los ionóforos como con los materiales de fabricación. Los electrodos hechos de polímeros son un tanto más adecuados para el uso y más fuertes que los electrodos de discos porosos más antiguos. Todos los electrodos de la tabla 23.4 son del tipo de membrana plástica.

23E TRANSISTORES DE EFECTO DE CAMPO SELECTIVOS DE IONES

En la sección 2C.3 (figura 2.19), se describe el transistor semiconductor de efecto de campo hecho de óxido metálico, más conocido como MOSFET (por sus siglas en inglés), que es muy utilizado en computadoras y otros circuitos electrónicos como interruptor para controlar el flujo de corriente en los circuitos. Uno de los problemas en el empleo de este tipo de dispositivo en los circuitos electrónicos es su gran sensibilidad a las impurezas iónicas en su superficie, por lo que la industria electrónica ha destinado una gran cantidad de dinero y esfuerzo para reducir al mínimo o eliminar dicha sensibilidad con el fin de producir transistores estables.

A partir de 1970 se ha logrado explotar mucho de la sensibilidad de los MOSFET ante las impurezas iónicas para la determinación potenciométrica selectiva de varios iones. Estos estudios han originado el desarrollo de cierto número de diferentes *transistores de efecto de campo selectivos de iones* (ISFET por sus siglas en inglés). La teoría de su sensibilidad selectiva a ciertos iones ya es muy conocida y se describe en la siguiente sección.¹⁷

23E.1 Mecanismo del comportamiento selectivo de iones del ISFET

Un transistor de efecto de campo selectivo de iones es muy similar en construcción y funcionamiento a un transistor semiconductor de óxido metálico de efecto de campo (MOSFET, sección 2C.3). El ISFET se dife-

¹⁶G. J. Moody, R. B. Oke y J. D. R. Thomas, *Analyst*, **1970**, 95, p. 910.

¹⁷Para una revisión de los ISFET, véase P. Bergveld, *Sens. Actuators, B*, **2003**, 88, p. 1. Una introducción a la teoría y operación de los ISFET se encuentra en J. Janata, *Principles of Chemical Sensors*, pp. 125-141, Nueva York: Plenum, 1989.

TABLA 23.4 Características de los electrodos de membrana líquida.

Ion analito	Intervalo de concentraciones, M [†]	Principales interferencias [‡]
NH ₄ ⁺	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁷	<1 H ⁺ , 5 × 10 ⁻¹ Li ⁺ , 8 × 10 ⁻² Na ⁺ , 6 × 10 ⁻⁴ K ⁺ , 5 × 10 ⁻² Cs ⁺ , >1 Mg ²⁺ , >1 Ca ²⁺ , >1 Sr ²⁺ , >0.5 Sr ²⁺ , 1 × 10 ⁻² Zn ²⁺
Cd ²⁺	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁷	Hg ²⁺ y Ag ⁺ (el electrodo se contamina a >10 ⁻⁷ M), Fe ³⁺ (a >0.1[Cd ²⁺]), Pb ²⁺ (a >[Cd ²⁺]), Cu ²⁺ (posible)
Ca ²⁺	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁷	10 ⁻⁵ Pb ²⁺ ; 4 × 10 ⁻³ Hg ²⁺ , H ⁺ , 6 × 10 ⁻³ Sr ²⁺ ; 2 × 10 ⁻² Fe ²⁺ ; 4 × 10 ⁻² Cu ²⁺ ; 5 × 10 ⁻² Ni ²⁺ ; 0.2 NH ₃ ; 0.2 Na ⁺ ; 0.3 Tris ⁺ ; 0.3 Li ⁺ ; 0.4 K ⁺ ; 0.7 Ba ²⁺ ; 1.0 Zn ²⁺ ; 1.0 Mg ²⁺
Cl ⁻	10 ⁰ a 5 × 10 ⁻⁶	Razón máxima admisible de interferente para [Cl ⁻]: OH ⁻ 80, Br ⁻ 3 × 10 ⁻³ , I ⁻ 5 × 10 ⁻⁷ , S ²⁻ 10 ⁻⁶ , CN ⁻ 2 × 10 ⁻⁷ , NH ₃ 0.12, S ₂ O ₃ ²⁻ 0.01
BF ₄ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	5 × 10 ⁻⁷ ClO ₄ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁶ I ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁵ ClO ₃ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁴ CN ⁻ ; 10 ⁻³ Br ⁻ ; 10 ⁻³ NO ₂ ⁻ ; 5 × 10 ⁻³ NO ₃ ⁻ ; 3 × 10 ⁻³ HCO ₃ ⁻ ; 5 × 10 ⁻² Cl ⁻ ; 8 × 10 ⁻² H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ ; 0.2 OAc ⁻ ; 0.6 F ⁻ ; 1.0 SO ₄ ²⁻
NO ₃ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	10 ⁻⁷ ClO ₄ ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁶ I ⁻ ; 5 × 10 ⁻⁵ ClO ₃ ⁻ ; 10 ⁻⁴ CN ⁻ ; 7 × 10 ⁻⁴ Br ⁻ ; 10 ⁻³ HS ⁻ ; 10 ⁻² HCO ₃ ⁻ ; 2 × 10 ⁻² CO ₃ ²⁻ ; 3 × 10 ⁻² Cl ⁻ ; 5 × 10 ⁻² H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ ; PO ₄ ³⁻ ; 0.2 OAc ⁻ ; 0.6 F ⁻ ; 1.0 SO ₄ ²⁻
NO ₂ ⁻	1.4 × 10 ⁻⁶ a 3.6 × 10 ⁻⁶	7 × 10 ⁻¹ salicilato, 2 × 10 ⁻³ I ⁻ , 10 ⁻¹ Br ⁻ , 3 × 10 ⁻¹ ClO ₃ ⁻ , 2 × 10 ⁻¹ acetato, 2 × 10 ⁻¹ HCO ₃ ⁻ , 2 × 10 ⁻¹ NO ₃ ⁻ , 2 × 10 ⁻¹ SO ₄ ²⁻ , 1 × 10 ⁻¹ Cl ⁻ , 1 × 10 ⁻¹ ClO ₄ ⁻ , 1 × 10 ⁻¹ F ⁻
ClO ₄ ⁻	10 ⁰ a 7 × 10 ⁻⁶	2 × 10 ⁻³ I ⁻ ; 2 × 10 ⁻² ClO ₃ ⁻ ; 4 × 10 ⁻² CN ⁻ , Br ⁻ ; 5 × 10 ⁻² NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ ; 2 HCO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻ ; Cl ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , OAc ⁻ , F ⁻ , SO ₄ ²⁻
K ⁺	10 ⁰ a 1 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁴ Cs ⁺ ; 6 × 10 ⁻³ NH ₄ ⁺ , Tl ⁺ ; 10 ⁻² H ⁺ ; 1.0 Ag ⁺ , Tris ⁺ ; 2.0 Li ⁺ , Na ⁺
Dureza del agua (Ca ²⁺ + Mg ²⁺)	10 ⁻³ a 6 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁵ Cu ²⁺ , Zn ²⁺ ; 10 ⁻⁴ Ni ²⁺ ; 4 × 10 ⁻⁴ Sr ²⁺ ; 6 × 10 ⁻⁵ Fe ²⁺ ; 6 × 10 ⁻⁴ Ba ²⁺ ; 3 × 10 ⁻² Na ⁺ ; 0.1 K ⁺

Todos los electrodos son del tipo de membrana de plástico.

[†]Del catálogo de productos, Boston, MA: Thermo Orion, 2006. Con autorización de Thermo Electron Corp., Waltham, MA.

[‡]De los manuales de instrucciones para los productos, Boston, MA: Thermo Orion, 2003. Con autorización de Thermo Electron Corp., Waltham, MA.

rencia sólo en que la variación de la concentración de los iones de interés proporciona el voltaje de compuerta variable para controlar la conductividad del canal. Como se muestra en la figura 23.11, en lugar del contacto metálico usual, la compuerta de un ISFET está cubierta con una capa aislante de nitruro de silicio (Si₃N₄). La solución de analito, que contiene iones hidrógeno en este ejemplo, está en contacto con esta capa aislante y con un electrodo de referencia. La superficie del aislante de la compuerta funciona de manera muy similar a la superficie de un electrodo de vidrio. Los protones procedentes de los iones hidrógeno en la solución por estudiar están adsorbidos en sitios microscópicos disponibles en el nitruro de silicio. Cualquier cambio en la concentración del ion hidronio de la solución causa un cambio en la concentración de los protones adsorbidos. Entonces, el cambio en la concentración de los protones adsorbidos da origen a un cambio en el potencial electroquímico entre la compuerta y la fuente, lo que a su vez varía la conductividad del canal del ISFET. La conductividad del canal se puede controlar electrónicamente para proporcionar una señal que sea proporcional al logaritmo de la concentración de H⁺

en la solución. Observe que todo el ISFET, excepto el aislante de la compuerta, está cubierto con un encapsulante polimérico para que todas las conexiones eléctricas queden aisladas de la solución de analito.

23E.2 Aplicaciones de los ISFET

La superficie sensible a iones de un ISFET responde naturalmente a las variaciones en el pH, pero el dispositivo puede volverse sensible a otras especies si el aislante de nitruro de silicio de la compuerta se recubre con un polímero que contenga moléculas que tiendan a formar complejos con especies diferentes del ion hidronio. Además, se pueden fabricar varios ISFET sobre el mismo sustrato de modo que puedan efectuarse de manera simultánea múltiples medidas. Para resaltar la exactitud y la confiabilidad, todos los ISFET pueden detectar las mismas especies, o cada ISFET se puede cubrir con un polímero diferente de forma que puedan hacerse mediciones de varias especies diferentes.

Los ISFET tienen ventajas significativas sobre los electrodos de membrana, entre las cuales están la construcción resistente, su pequeño tamaño, son inertes en

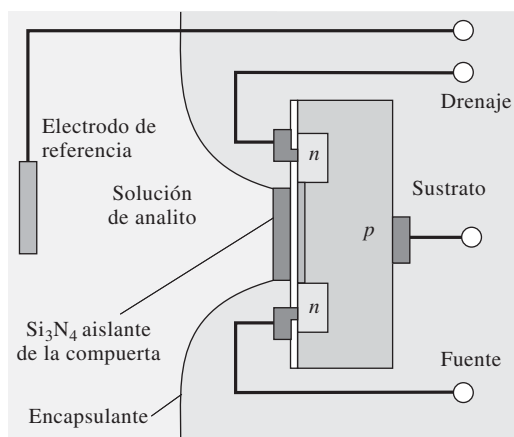


FIGURA 23.11 Un ISFET para medir pH.

ambientes agresivos, tienen respuesta rápida y baja impedancia eléctrica. A diferencia de los electrodos de membrana, los ISFET no requieren hidratación previa a su uso y pueden almacenarse por periodos indefinidos en estado seco. A pesar de estas numerosas ventajas, no apareció en el mercado ningún electrodo ISFET específico de iones hasta principios de los años noventa, más de 20 años después de su invención. La razón de este retraso es que los fabricantes eran incapaces de desarrollar la técnica para encapsular los dispositivos con el fin de crear un producto que no presentara deriva e inestabilidad. La única desventaja importante de los ISFET aparte de la deriva al parecer es que requieren un electrodo de referencia más o menos tradicional. Este requisito coloca un límite inferior en las dimensiones de la sonda del ISFET. La investigación continúa en el perfeccionamiento de un par diferencial de ISFET, uno que sea selectivo del ion del analito y otro que no lo sea. El segundo ISFET de referencia se llama REFET, y se usa un amplificador diferencial para medir la diferencia de voltaje entre el ISFET y el REFET, que es proporcional a pX .¹⁸ Muchos dispositivos elaborados a partir de ISFET ya están en el mercado desde la década anterior para determinar el pH, pero la investigación continúa sobre el perfeccionamiento de dispositivos que manifiestan afinidad con otros analitos. En las últimas tres décadas se han registrado más de 150 patentes sobre ISFET, y más de 20 compañías producen ISFET de varias maneras. La promesa de un sensor diminuto pero fuerte que se pueda usar en diversos medios agresivos y poco comunes se cumple a medida que se resuelven los problemas de los electrodos de referencia.¹⁹

¹⁸ P. Bergveld, *Sens. Actuators, B*, **2003**, 88, p. 9.

¹⁹ *Ibid.*, pp. 18-19.

23F SISTEMAS DE ELECTRODO SENSIBLE A MOLÉCULAS

Se han creado dos tipos de sistemas de electrodos de membrana que actúan selectivamente hacia ciertos tipos de *moléculas*. Uno de ellos se utiliza para la determinación de gases disueltos, como dióxido de carbono y amoníaco. El otro, que se basa en las membranas biocatalíticas, permite determinar una variedad de compuestos orgánicos, tales como glucosa y urea.

23F.1 Sondas sensibles a gases

Durante las últimas tres décadas se han comercializado varios dispositivos electroquímicos sensibles a gases. En los manuales de los fabricantes se les suele denominar “electrodos” sensibles a gases. Como puede verse en la figura 23.12, de hecho, no son electrodos, sino celdas electroquímicas construidas con un electrodo específico de iones y uno de referencia sumergidos en una solución interna que está retenida por una delgada membrana permeable a gases. Por consiguiente, *sondas sensibles a gases* es un nombre más apropiado para ellos.

Las sondas sensibles a gases son dispositivos notablemente selectivos y sensibles a gases disueltos o de iones que pueden ser convertidos en gases disueltos ajustando el pH.

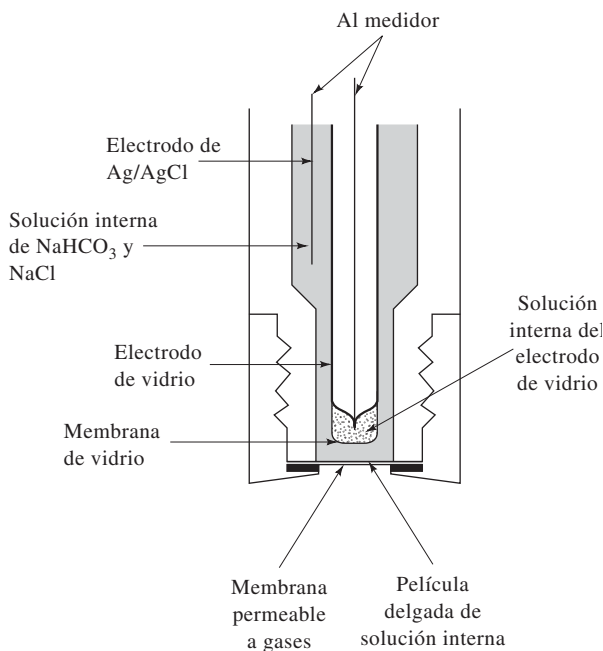


FIGURA 23.12 Esquema de una sonda sensible a gases para dióxido de carbono.

Diseño de las sondas de membrana

La figura 23.12 es un esquema que muestra los detalles de una sonda sensible a gases para dióxido de carbono. El corazón de la sonda es una membrana delgada y porosa que se reemplaza con facilidad. Ésta separa la solución de analito de una solución interna que contiene bicarbonato de sodio y cloruro de sodio. Un electrodo de vidrio sensible al pH que tiene una membrana plana se coloca en una determinada posición de manera que una delgada película de solución interna quede entre él y la membrana permeable a los gases. También se coloca en la solución interna un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata. El pH de la película de líquido adyacente al electrodo de vidrio es el que proporciona una medida del contenido de dióxido de carbono en la solución de analito situada al otro lado de la membrana.

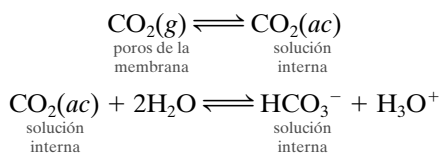
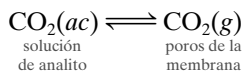
Membranas permeables a gases

Existen dos tipos de materiales de membrana, a saber, microporosos y homogéneos. Los primeros se fabrican con polímeros hidrófobos, como el politetrafluoretileno o el polipropileno, que tienen una porosidad (volumen de huecos) de alrededor de 70% y un tamaño de poro de menos de 1 μm . Debido a las propiedades repelentes al agua y no polares de la película, las moléculas de agua y los iones del electrolito son expulsados de los poros; en cambio, las moléculas gaseosas se mueven libremente dentro y fuera de los poros por *efusión* y, por tanto, pueden cruzar esta barrera. Por lo regular, el espesor de las membranas microporosas mide alrededor de 0.1 mm.

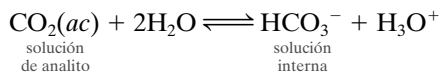
Por el contrario, las películas homogéneas son sustancias poliméricas sólidas a través de las cuales el analito gaseoso pasa, disolviéndose en la membrana, se difunde y luego se desolvata en la solución interna. El material más utilizado para la construcción es la goma de silicón. En general, las películas homogéneas son más delgadas que las microporosas (de 0.01 a 0.03 mm) con el fin de acelerar la transferencia del gas y, por tanto, la velocidad de respuesta del sistema.

Mecanismo de respuesta

Cuando una solución que contiene dióxido de carbono se pone en contacto con la membrana microporosa que se muestra en la figura 23.12, el gas se derrama a través de la membrana, como se describe mediante las reacciones



El último equilibrio ocasiona el cambio del pH en la película de la superficie interna. Este cambio es detectado luego por el sistema de electrodo interno vidrio-calomel. Se obtiene una descripción de los procesos globales añadiendo las ecuaciones de los tres equilibrios para llegar a



La constante de equilibrio termodinámico K para esta reacción global es

$$K = \frac{(a_{\text{H}_3\text{O}^+})_{\text{int}} (a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}}{(a_{\text{CO}_2})_{\text{ext}}}$$

En el caso de una especie neutra como CO_2 , $a_{\text{CO}_2} = [\text{CO}_2(ac)]$, de modo que

$$K = \frac{(a_{\text{H}_3\text{O}^+})_{\text{int}} (a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}}{[\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}}}$$

donde $[\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}}$ es la concentración molar del gas en la solución de analito. Para que el potencial de celda medido varíe en forma lineal con el logaritmo de la concentración del dióxido de carbono de la solución externa, la actividad del ion bicarbonato de la solución interna tiene que ser suficientemente grande para que no la modifique en forma importante el dióxido de carbono que entra desde la solución externa. Si se supone que $(a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}$ es constante, es posible reacomodar las ecuaciones anteriores y llegar a

$$\frac{(a_{\text{H}_3\text{O}^+})_{\text{int}}}{[\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}}} = \frac{K}{(a_{\text{HCO}_3^-})_{\text{int}}} = K_g \quad (23.18)$$

Si se designa a a_1 como la actividad del ion hidrógeno de la solución interna, se reacomoda esta ecuación y se obtiene

$$(a_{\text{H}_3\text{O}^+})_{\text{int}} = a_1 = K_g [\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}} \quad (23.19)$$

Al sustituir la ecuación 21.19 en la 21.13, se tiene que

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= L + 0.0592 \log a_1 \\ &= L + 0.0592 \log K_g [\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}} \\ &= L + 0.0592 \log K_g + 0.0592 \log [\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}} \end{aligned} \quad (23.20)$$

Al combinar los dos términos constantes para tener una nueva constante L' se llega a

$$E_{\text{ind}} = L' + 0.0592 \log [\text{CO}_2(ac)]_{\text{ext}} \quad (23.21)$$

Para finalizar, como

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}$$

entonces,

$$E_{\text{cel}} = L' + 0.0592 \log [\text{CO}_2(\text{ac})]_{\text{ext}} - E_{\text{ref}} \quad (23.22)$$

o bien,

$$E_{\text{cel}} = L'' + 0.0592 \log [\text{CO}_2(\text{ac})]_{\text{ext}}$$

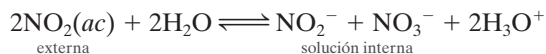
donde

$$L'' = L + 0.0592 \log K_g - E_{\text{ref}}$$

Por consiguiente, el potencial entre el electrodo de vidrio y el electrodo de referencia en la solución interna está determinado por la concentración de CO_2 en la solución externa. Observe una vez más que *ningún electrodo entra en contacto directo con la solución de analito*.

Las únicas especies que interfieren con la respuesta de estos sensores ante el CO_2 son otros gases disueltos que atraviesan por permeabilidad la membrana y luego afectan el pH de la solución interna. La especificidad de las sondas de gas depende sólo de la permeabilidad de la membrana. Los sensores basados en membrana para el CO_2 son microfabricados para instalarse en analizadores clínicos como se describe en la sección 23F.2.²⁰

Existe la posibilidad de aumentar la selectividad de las sondas sensibles a gases empleando un electrodo interno que sea sensible a especies diferentes del ion hidrógeno; por ejemplo, se puede utilizar un electrodo sensible al nitrato para construir una sonda que sea sensible al dióxido de nitrógeno. En el caso de este dispositivo, el equilibrio sería



Este electrodo permite determinar NO_2 en presencia de gases como SO_2 , CO_2 y NH_3 , los cuales también alterarían el pH de la solución interna.

La tabla 23.5 es una lista de las sondas sensibles a gases que existen en el comercio. También se encuentra en el mercado una sonda sensible al oxígeno, pero se basa en una medición voltamperométrica y se trata en el capítulo 25.

23F.2 Biosensores

En las pasadas tres décadas se ha efectuado un considerable esfuerzo para combinar la selectividad de materiales y reacciones bioquímicos con transductores electroquímicos (véase figura 1.7) para obtener biosen-

TABLA 23.5 Sondas comerciales sensibles a gases.

Gas	Equilibrio en la solución interna	Electrodo sensor
NH_3	$\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$	Vidrio, pH
CO_2	$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	Vidrio, pH
HCN	$\text{HCN} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CN}^-$	Ag_2S , pCN
HF	$\text{HF} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{F}^-$	LaF_3 , pF
H_2S	$\text{H}_2\text{S} \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + \text{S}^{2-}$	Ag_2S , pS
SO_2	$\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HSO}_3^- + \text{H}^+$	Vidrio, pH
NO_2	$2\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- + 2\text{H}^+$	Intercambio de ion inmobilizado, p NO_3

sos muy selectivos que se utilicen en la determinación de compuestos biológicos y bioquímicos.²¹ Entre estos materiales están enzimas,²² ADN, antígenos, anticuerpos, bacterias, células,²³ y todas las muestras de tejido animal y vegetal. Cuando las moléculas de analito reaccionan con estos materiales, la interacción desencadena la producción de especies que se pueden supervisar de manera directa o indirecta mediante uno de los electrodos que tienen afinidad con los iones o moléculas ya mencionados. La ventaja de la selectividad de los biosensores es contrarrestada por la estabilidad limitada de muchas sustancias bioquímicas, lo cual reduce el uso en ambientes agresivos. Esta desventaja se está venciendo en cierto grado mediante la fabricación de materiales sintéticos que tienen características para identificar moléculas similares a las naturales, pero que son más fuertes.

Biosensores elaborados con enzimas

El biosensor que se ha estudiado más ampliamente y tal vez el más útil está construido a partir de enzimas. En estos dispositivos la muestra se pone en contacto con una *enzima inmobilizada*, la cual reacciona con el analito y produce una especie como amoníaco, dióxido de carbono, iones de hidrógeno o peróxido de hidrógeno. La concentración de este producto, que es proporcional a la concentración del analito, se determina mediante el transductor. Los transductores más co-

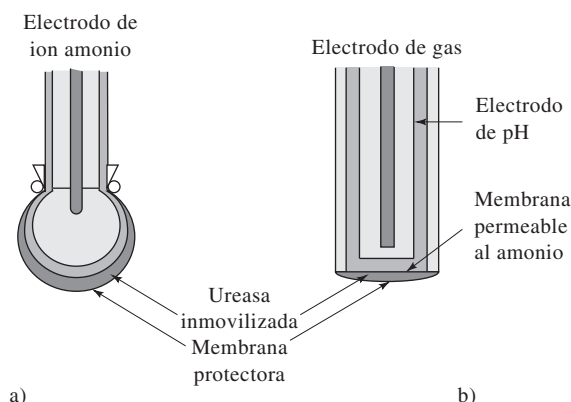
²¹ Para revisiones de biosensores, véase E. Bakker y M. Telting-Diaz, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2781. Para explicaciones amplias sobre el tema véase *Biosensors and Modern Biospecific Analytical Techniques*, vol. 44 (Comprehensive Analytical Chemistry), L. Gorton, ed., Amsterdam: Elsevier, 2004; *Biosensor Technology: Fundamentals and Applications*, R. P. Buck, W. E. Hatfield, M. Umaña y E. F. Bowden, eds., Nueva York: Dekker, 1990; *Biosensors: Fundamentals and Applications*, A. P. F. Turner, I. Karube y G. S. Wilson, eds., Nueva York: Oxford University Press, 1987.

²² G. G. Guilbault y J. G. Montalvo, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, p. 2164.

²³ G. A. Rechnitz, R. K. Kobos, S. J. Riechel y C. R. Gebauer, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 94, p. 357.

²⁰ M. E. Meyerhoff, *Clin. Chem.*, **1990**, 36, p. 1567.

FIGURA 23.13 Electrodos enzimáticos para medir urea. (Reproducido con autorización de D. N. Gray, M. H. Keyes y B. Watson, *Anal. Chem.*, **1977**, *49*, p. 1067A. Copyright 1977 American Chemical Society.)



munes en estos dispositivos son los electrodos de membrana, las sondas sensibles a gases y los dispositivos voltamperométricos, que se estudian en el capítulo 25.

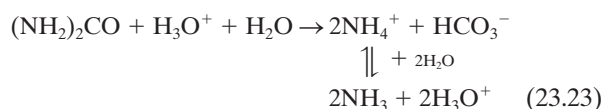
Los biosensores basados en electrodos de membrana son ventajosos desde diferentes puntos de vista. Primero, porque las moléculas orgánicas complejas pueden determinarse, en principio, con la conveniencia, rapidez y facilidad que caracterizan a las mediciones selectivas de ciertos iones de especies inorgánicas. Segundo, porque las reacciones catalizadas con enzimas se realizan en condiciones de temperatura y pH suaves y con mínimas concentraciones de sustrato. Tercero, porque al combinar la selectividad de la reacción enzimática y la respuesta del electrodo se obtienen resultados que están libres de la mayoría de las interferencias.

La principal limitación de los procedimientos enzimáticos es el elevado costo de las enzimas, sobre todo cuando se utilizan para mediciones de rutina o continuas. Esta desventaja ha ocasionado el uso de medios enzimáticos inmovilizados en los cuales una pequeña cantidad de enzima se puede utilizar para análisis consecutivos de cientos de muestras. En general se utilizan dos técnicas. En una, la muestra se hace pasar a través de un lecho fijo de enzimas inmovilizadas y, a continuación, al detector. En la segunda, se une directamente a la superficie del electrodo selectivo de iones una capa porosa de la enzima inmovilizada, con lo que se forma un *electrodo enzimático*. En tales dispositivos, el producto de la reacción alcanza la superficie de la membrana selectiva por difusión.

La inmovilización de las enzimas se puede efectuar de diversas maneras, como la captura física en un gel de polímero, la adsorción física en un soporte inorgánico poroso como la alúmina, el enlace covalente de la enzima a una superficie sólida, tal como cuentas de vidrio o a un polímero, o la copolimerización de la enzima con un monómero adecuado.

En la figura 23.13 se muestran dos tipos de electrodos enzimáticos para determinar nitrógeno de urea en

la sangre, un importante estudio clínico de rutina. En presencia de la enzima ureasa, la urea es hidrolizada de acuerdo con la reacción



El electrodo de la figura 23.13a es de vidrio y responde al ion amonio formado por la reacción que se observa en la parte superior de la ecuación 23.23. El electrodo de la figura 23.13b es una sonda de gas amoníaco que es sensible al amoníaco molecular en equilibrio con el ion amonio. Por desgracia, ambos electrodos tienen limitaciones. El electrodo de vidrio responde a todos los cationes monovalentes y sus coeficientes de selectividad para el NH_4^+ respecto al Na^+ o el K^+ son tales que se producen interferencias en la mayoría de los medios biológicos de interés, como la sangre. La sonda de gas amoníaco presenta otro problema, a saber, el pH de la sonda es incompatible con la enzima. La enzima requiere un pH alrededor de 7 para una actividad catalítica máxima, pero la respuesta máxima del sensor tiene lugar a un pH mayor que 8 a 9 (donde prácticamente todo el NH_4^+ se ha convertido en NH_3). Por tanto, la sensibilidad del electrodo es limitada. Ambas restricciones se superan con un sistema enzimático de lecho fijo en el que la muestra se bombea sobre la enzima a un pH de casi 7. La solución resultante se hace entonces alcalina y el amoníaco liberado se determina con ayuda de una sonda de gas amoníaco. En el mercado hay instrumentos automatizados desde hace varios años basados en esta técnica (véase capítulo 33).

Los factores que afectan los límites de detección de los biosensores basados en enzimas incluyen los límites de detección inherentes del electrodo selectivo de iones acoplado con la capa de enzima, las propiedades cinéticas de la reacción enzimática y la velocidad de

TABLA 23.6 Biosensores potenciométricos elaborados a partir de enzimas.*

Analito	Enzima	Reacción	Detectores de electrodos selectivos de iones
Urea	Ureasa	$\text{Urea} \longrightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$	NH_4^+ -vidrio o polímero NH_3 -sensor de gas H^+ -vidrio o polímero
Creatinina	Creatininasa	$\text{Creatinina} \longrightarrow \text{N-metilhidantoína} + \text{NH}_3$	NH_4^+ -vidrio o polímero NH_3 -sensor de gas
Aminoácidos L- o D-	Oxidasa de aminoácido L- o D-	$\text{L (D) AA} \longrightarrow \text{RCOCOOH} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	NH_4^+ -vidrio o polímero NH_3 -gas sensor
L-Glutamina	Glutaminasa	$\text{L-Glutamina} \longrightarrow \text{ácido glutámico} + \text{NH}_3$	NH_4^+ -vidrio o polímero NH_3 -sensor de gas
Adenosina	Deaminasa de adenosina	$\text{Adenosina} \longrightarrow \text{inosina} + \text{NH}_3$	NH_4^+ -vidrio o polímero NH_3 -sensor de gas
L-Glutamato	Descarboxilasa de glutamato	$\text{L-Glutamato} \longrightarrow \text{GABA} + \text{CO}_2$	CO_2 -sensor de gas
Amigdalina	β -Glucosidasa	$\text{amigdalina} \longrightarrow \text{HCN} + 2\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{benzaldehído}$	CN-estado sólido
Glucosa	Oxidasa de glucosa	$\text{glucosa} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{ácido glucónico} + \text{H}_2\text{O}_2$	H^+ -vidrio o polímero
Penicilina	Penicilinas	$\text{Penicilina} \longrightarrow \text{Ácido peniciloico}$	H^+ -vidrio o polímero

*Tomado de E. Bakker y M. E. Meyerhoff en *Encyclopedia of Electrochemistry*, A. J. Bard, ed., vol. 9, *Bioelectrochemistry*, G. S. Wilson, Ed., Nueva York: Wiley, 2002, p. 305, con autorización.

transferencia de masa del sustrato hacia la capa.²⁴ A pesar de la gran investigación sobre estos dispositivos y, como se muestra en la tabla 23.6, de las diversas membranas potencialmente útiles elaboradas con enzimas, sólo se han comercializado unos pocos electrodos enzimáticos potenciométricos debido al menos en parte a las limitaciones que se mencionaron antes. La determinación enzimática del nitrógeno de la urea en aplicaciones clínicas (que se trata en los párrafos siguientes) es un ejemplo excepcional de este tipo de sensores. Varias firmas comerciales ofrecen electrodos enzimáticos basados en medidas voltamperométricas en varios sistemas enzimáticos. Estos electrodos se estudian en el capítulo 25.

Aplicaciones en el análisis clínico

Un ejemplo de la aplicación de un biosensor potenciométrico elaborado con enzimas en el análisis clínico es un monitor automatizado diseñado específicamente para analizar muestras de sangre a un lado de la cama del paciente. El analizador clínico portátil i-STAT, que se ilustra en la figura 23.14a, es un instrumento de mano que tiene la capacidad de determinar un intervalo amplio de analitos importantes desde el punto de vista

clínico, como potasio, sodio, cloruro, pH, pCO_2 , pO_2 , nitrógeno de la urea y glucosa. Además, el analizador, que contiene una computadora, determina bicarbonato, dióxido de carbono total, exceso de bases, saturación de O_2 y hemoglobina en sangre entera. Con estos dispositivos se obtienen desviaciones estándar relativas en el orden de 0.5% a 4%. Los estudios han demostrado que los resultados son suficientemente confiables y su costo compensa las mediciones similares realizadas en un laboratorio clínico tradicional lejano.²⁵

La mayoría de los analitos (pCO_2 , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , nitrógeno ureico y pH) se determinan mediante mediciones potenciométricas con la técnica de electrodos de membrana selectivos de iones, microfabricados. El sensor para el nitrógeno de la urea está formado por una capa de polímero que contiene ureasa sobre un electrodo afín al ion amonio. Los aspectos químicos de la determinación del nitrógeno de la urea contenida en la sangre se explican en la sección anterior. El hematocrito se mide mediante la detección de conductividad electrolítica, y el pO_2 se determina con el sensor voltamperométrico de Clark (véase la sección 25C.4). Otros resultados se obtienen a partir de estos datos. El componente principal del monitor es un arreglo de sensores electroquímicos en serie i-STAT, desechable luego de un solo uso, que se ilustra en la figura 23.14b. Los electrodos del sensor se ubican en circuitos integrados de silicio a lo largo de un canal de flujo angosto,

²⁴E. Bakker y M. E. Meyerhoff en *Encyclopedia of Electrochemistry*, A. J. Bard, ed., vol. 9, *Bioelectrochemistry*, G. S. Wilson, ed., Nueva York: Wiley, 2002, p. 303; P. W. Carr y L. D. Bowers, *Immobilized Enzymes in Analytical and Clinical Chemistry: Fundamentals and Applications*, Nueva York: Wiley, 1980.

²⁵J. N. Murthy, J. M. Hicks y S. J. Soldin, *Clin. Biochem.*, **1997**, 30, p. 385.

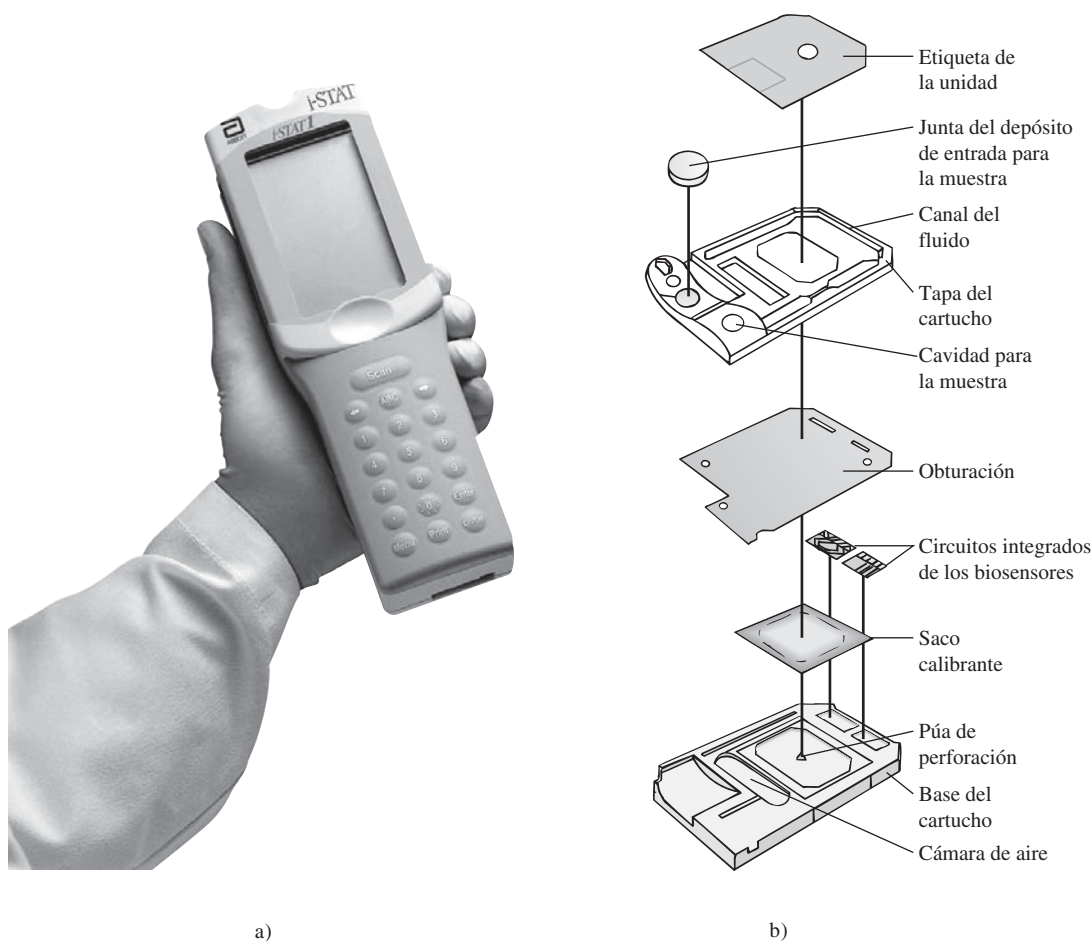


FIGURA 23.14 a) Fotografía de un analizador clínico i-STAT 1 portátil. b) Vista esquemática del cartucho del sensor en serie marca i-STAT. (Abbott Point of Care Inc.)

como se puede ver en la figura. Los biosensores integrados se fabrican por medio de un proceso patentado de fabricación en miniatura.²⁶

Todos los sensores en serie nuevos se calibran de modo automático antes de tomar las medidas. Se coloca una muestra de sangre del paciente en el depósito de entrada para la muestra, y se inserta la unidad en el analizador i-STAT. El analizador i-STAT perfora el saco del calibrante, que contiene una solución amortiguadora patrón de los analitos, y éste es comprimido para forzar al calibrante a fluir por el canal en la superficie de los sensores. Cuando la etapa de calibración queda terminada, el analizador comprime la cámara de aire, con lo cual se obliga a la muestra de sangre a fluir por el canal de flujo para expulsar la solución calibrante y hacer que la muestra de sangre (20 μL a

100 μL) haga contacto con los sensores. Luego se efectúan las mediciones electroquímicas, y los resultados se determinan y se pueden leer en la pantalla de cristal líquido del analizador. Los resultados se almacenan en la memoria del analizador, y se podrían transferir al sistema que administra la información del laboratorio para que se conserven y sirvan de retroalimentación (véase la sección 4H.2). Las unidades disponibles están configuradas para diferentes combinaciones de más de 20 analitos y mediciones distintos que se pueden efectuar con este sistema.

También existen desde hace tiempo instrumentos similares al monitor i-STAT que se usa al lado de la cama del paciente para efectuar mediciones potenciométricas *in vitro* de varios analitos en sistemas biomédicos y biológicos. En años recientes ha habido también mucho interés en el perfeccionamiento de sensores potenciométricos para estudios *in vivo*. En la figura 23.15 se muestra una configuración pequeña (4 $\times$ 12 mm) de

²⁶S. N. Cozzette *et al.*, para i-STAT Corporation, East Windsor, NJ, U.S. Patente en 5 466 575, 1995.

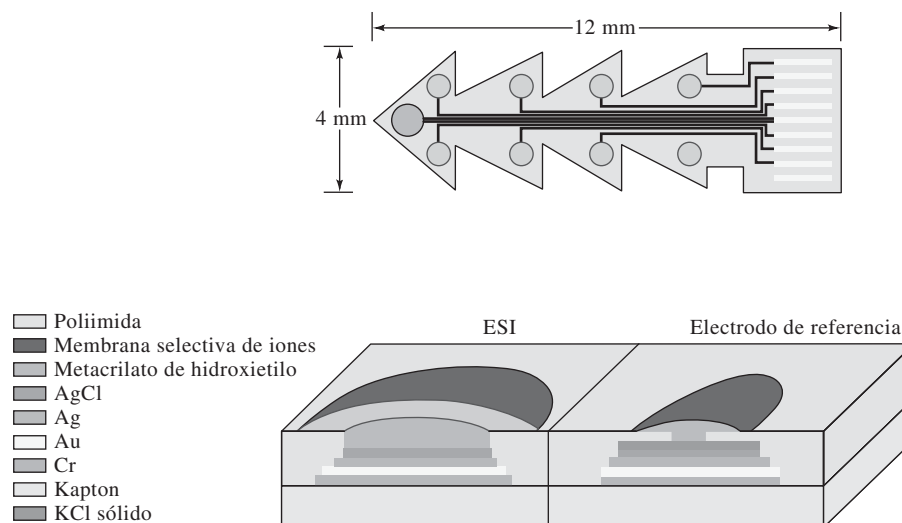


FIGURA 23.15 Sensor potenciométrico fabricado en miniatura para determinar analitos *in vivo*. El sensor se fabricó con un sustrato plástico flexible mediante técnicas de película gruesa. Hay nueve electrodos selectivos de iones (ESI) en un lado de la película y electrodos de referencia correspondientes en el lado opuesto. (Tomado de E. Lindner y R. P. Buck, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 336A, con autorización. Copyright 2000 American Chemical Society.)

nueve electrodos potenciométricos fabricados sobre una película fina de poliimida Kapton[®].²⁷ Nueve electrodos separados (junto con sus electrodos correspondientes de referencia en el lado opuesto de la configuración) se fabrican mediante técnicas de película gruesa, similares a las que se usan para los tableros de circuito impreso. Una capa de adhesión de cromo y una capa de oro se depositan en fase de vapor sobre el polímero con el fin de proporcionar una conexión eléctrica con las zonas de los sensores. Luego, el arreglo se cubre con un revestimiento fotográfico y se expone a luz UV a través de una máscara que define las áreas de los electrodos. El revestimiento fotográfico se revela para exponer los cojincillos de los electrodos. Luego, se deposita plata electroquímicamente seguida de cloruro de plata para formar el electrodo de referencia interno de cada sensor. Se añade una mezcla de metacrilato de hidroxietilo y un electrolito para formar un puente salino entre el electrodo de referencia interno y la membrana selectiva de iones. Para finalizar, dicha membrana se aplica sobre el electrodo de referencia interno junto con una capa protectora de poliamida. Los sensores se utilizan con resultados muy satisfactorios para supervisar el H^+ , K^+ , Na^+ y Ca^{2+} y otros analitos del músculo cardíaco.

Desde hace un tiempo se cuenta ya con otras celdas electroquímicas desechables elaboradas con electro-

dos selectivos de iones, las cuales están diseñadas para la determinación rutinaria de varios iones que están presentes en las muestras clínicas. Estos sistemas se tratan brevemente en la sección 33D.3.

Sensor potenciométrico fotodireccionable

Una aplicación fascinante y útil de los fundamentos de los dispositivos semiconductores y de las mediciones potenciométricas es el sensor potenciométrico fotodireccionable.²⁸ El dispositivo está fabricado con una plancha plana y delgada de silicio tipo *p* o tipo *n* con un revestimiento de 1000 Å de espesor de oxinitruro de silicio en uno de los lados de la placa. Si se aplica un potencial polarizado entre un electrodo sumergido en una solución que está en contacto con la capa aislante de oxinitruro y el sustrato de silicio, se agota la mayoría de los portadores del semiconductor (véase sección 2C.1). Cuando la luz proveniente de una fuente modulada choca contra la placa en cualquiera de los dos lados, se produce una corriente fotoeléctrica correspondiente. Si se mide la corriente fotoeléctrica en función del voltaje polarizado, se puede calcular el potencial de superficie del dispositivo. Como la capa de oxinitruro es sensible al pH, el potencial de superficie proporciona una medida del pH con una respuesta tipo Nernst a lo largo de varias décadas.

²⁷E. Lindner y R. P. Buck, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 336A.

²⁸D. A. Hafeman, J. W. Parce y H. M. McConnell, *Science*, **1988**, 240, p. 1182.

La versatilidad del dispositivo aumenta al añadir en el lado de abajo del sustrato de silicio diodos emisores de luz en serie. Si se modulan los diodos en forma sucesiva, se exploran diferentes regiones de la superficie del dispositivo para conocer los cambios de pH. Además, al aplicar membranas que contienen varios ionóforos o enzimas sobre la capa de oxinitruro, cada uno de los diodos emisores de luz es capaz de supervisar un analito distinto. Cuando este dispositivo se usa para controlar la respuesta de células vivas ante varios estímulos bioquímicos recibe el nombre de *microfisiómetro*. Una descripción completa de estos tipos de sensores y sus aplicaciones bioanalíticas se halla en la sección “Análisis instrumental en acción” que sigue al capítulo 25.

23G INSTRUMENTOS PARA MEDIR POTENCIALES DE CELDA

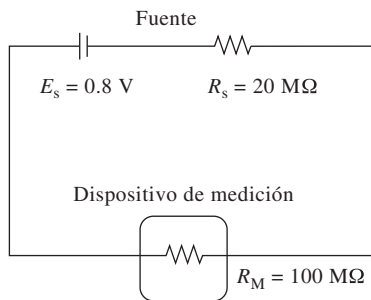
Una consideración fundamental en el diseño de un instrumento para medir potenciales de celda es que su resistencia debe ser grande respecto a la celda. Si no lo es, se producen errores notables como consecuencia de la caída IR en la celda (véase sección 2A.3). Este efecto se demuestra en el ejemplo que sigue.

EJEMPLO 23.1

El potencial verdadero de un sistema de electrodo vidrio-calomel es de 0.800 V; su resistencia interna es 20 MΩ. ¿Cuál sería el error relativo en el potencial medido si el dispositivo de medición tuviera una resistencia de 100 MΩ?

Solución

El diagrama siguiente muestra que el circuito de medición se puede considerar como una fuente de potencial E_s y dos resistencias en serie: la resistencia de la fuente R_s y la resistencia interna R_M del dispositivo de medición.



De acuerdo con la ley de Ohm podemos escribir

$$E_s = IR_s + IR_M$$

donde I es la corriente en este circuito que consta de la celda y del dispositivo para medir. La corriente viene dada por

$$I = \frac{0.800 \text{ V}}{(20 + 100) \times 10^6 \Omega} = 6.67 \times 10^{-9} \text{ A}$$

La caída de potencial en el dispositivo de medición (que es el potencial indicado por el dispositivo, E_M) es IR_M . Por tanto,

$$E_M = (6.67 \times 10^{-9} \text{ A})(100 \times 10^6 \Omega) = 0.667 \text{ V}$$

y

$$\begin{aligned} \text{error relativo} &= \frac{0.667 \text{ V} - 0.800 \text{ V}}{0.800 \text{ V}} \times 100 \% \\ &= \frac{-0.133 \text{ V}}{0.800 \text{ V}} \times 100 \% = -17 \% \end{aligned}$$

Se puede demostrar con facilidad que para reducir el error de carga a 1%, la resistencia del dispositivo de medición de voltaje debe ser alrededor de 100 veces mayor que la resistencia de la celda; en el caso de un error relativo de 0.1%, la resistencia debe ser 1000 veces mayor. Como la resistencia eléctrica de las celdas que contienen electrodos selectivos de iones puede ser de 100 MΩ o más, los dispositivos para medir el potencial que se utilizan con estos electrodos tienen generalmente una resistencia interna de por lo menos $10^{12} \Omega$.

Es importante apreciar que un error en el voltaje medido (-0.133 V), tal como el que se muestra en el ejemplo 23.1, tendría un efecto enorme en la exactitud de una medida de la concentración basada en este potencial. Por consiguiente, como se muestra en la sección 23H.2, una incertidumbre de 0.001 V en el potencial ocasiona un error relativo de alrededor de 4% en la determinación de la concentración de ion hidrógeno de una solución si el potencial se mide con un electrodo de vidrio. Un error como el hallado en el ejemplo 23.1 daría lugar a una incertidumbre en la concentración de dos órdenes de magnitud o más.

Los voltímetros digitales de lectura directa con resistencias internas altas se utilizan casi exclusivamente para las mediciones de pH y pIon. Estos dispositivos se tratan en la sección siguiente.

23G.1 Instrumentos de lectura directa

Numerosos medidores de pH de lectura directa ya están disponibles comercialmente. En general, son dispositivos de estado sólido que emplean un transistor de efecto de campo o un seguidor de potencial como primera etapa de amplificación con el fin de proporcionar la elevada resistencia de entrada necesaria. La figura 23.16 es el esquema de un medidor de pH que opera

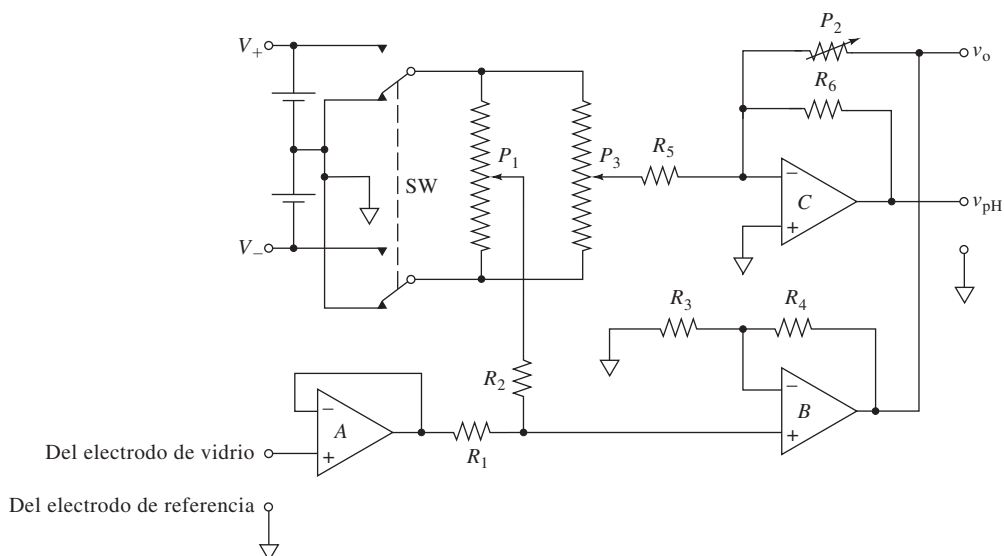


FIGURA 23.16 Medidor de pH basado en un amplificador operacional de circuito integrado unión-FET cuádruple de entrada. Los resistores R_1 – R_6 y los potenciómetros P_1 – P_3 son de 50 k Ω . Los circuitos pueden trabajar con baterías, como se muestra, o bien con ayuda de una alimentación aceptable. (Adaptación con base en D. L. Harris y D. C. Harris, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, 563. Con autorización.)

con baterías y que puede ser construido con tan sólo 10 dólares, sin contar la sonda de pH y el multímetro digital que se utiliza como sistema de lectura.²⁹ La salida de la sonda está conectada a un seguidor de voltaje de alta resistencia *A* (véanse las secciones 3B.2 y 3C.2), la cual tiene una resistencia de entrada de $10^{12} \Omega$. Los amplificadores operacionales *B* y *C* proporcionan ganancia (pendiente o control de temperatura) y desfase (calibración) para el circuito de lectura. El amplificador inversor *C* (véase sección 3B.3) invierte el sentido de la señal de modo que un aumento en el pH produce un incremento positivo en el voltaje de salida del circuito. El circuito se calibra con soluciones amortiguadoras para mostrar una diversidad de voltajes de salida que van desde 100 a 1400 mV, que corresponden a un intervalo de pH de 1 a 14. Los tres amplificadores operacionales unión-FET se localizan en un solo paquete de circuitos integrados cuádruples como el LF347, fabricado por National Semiconductor.

23G.2 Instrumentos comerciales

La diversidad de medidores pIon que ofrecen los fabricantes es simplemente asombrosa.³⁰ Los medidores se pueden clasificar en cuatro grupos según su precio y facilidad de lectura. Entre otros están los medidores utilitarios, instrumentos portátiles, que funcionan con

baterías y cuyo precio oscila ahora entre menos de 50 dólares a algo más de 500 dólares. Los medidores de extremo bajo son para el mercado del consumidor común y son casi del tamaño de un termómetro médico digital. En general, con los medidores utilitarios se puede apreciar hasta 0.5 unidades de pH o incluso menos. Los medidores que operan conectados a la red pueden apreciar hasta 0.05 unidades de pH o incluso menos. Muchos poseen características como lectura digital, compensación automática de temperatura, expansión de escala en forma que la escala completa abarca 1.4 unidades en lugar de 0 a 14 unidades y una escala en milivolts. En la actualidad, los precios de los medidores de uso general oscilan entre 100 y 1000 dólares. En los instrumentos de escala expandida se puede apreciar hasta 0.01 unidades de pH o incluso menos, y cuestan desde alrededor de 800 hasta 2000 dólares. La mayoría ofrece intervalos de escala completa desde 0.5 a 2 unidades de pH, así como de 0 a 7 y de 0 a 14, lecturas de cuatro dígitos, control manual, escala en milivolts y compensación automática de temperatura. En los medidores de investigación se puede leer hasta 0.001 unidades de pH o incluso menos; estos instrumentos poseen por lo general una pantalla con cinco dígitos y cuestan entre 2000 y 3000 dólares. Tenga en cuenta que la capacidad de lectura de estos instrumentos suele ser mucho mejor que la sensibilidad de la mayoría de los electrodos selectivos de iones.

La característica de compensación automática de la temperatura en muchos de los instrumentos comercia-

²⁹ D. L. Harris y D. C. Harris, *J. Chem. Educ.*, **1992**, 69, 563.

³⁰ Para tener una idea de la enorme cantidad de modelos de medidores de pH y de pIones que hay, busque mediante Google los términos “pH meters” y “ion meter” en la red.

les la proporciona un termistor o termopar y los circuitos relacionados (sección 3C.3) que proporcionan una señal proporcional a la temperatura. Esta señal se usa luego para corregir la salida mediante el ajuste de la pendiente de la función de transferencia del instrumento ($2.303RT/F = 0.0592$ a 25°C) ya sea con programas para calcular o con circuitos analógicos. El termistor o termopar se puede incorporar en la consola del instrumento, en cuyo caso sólo supervisa la temperatura ambiental, o podría ser una sonda que se inserte directamente en la solución de analito. En el caso de trabajo rutinario la compensación de la temperatura no es esencial, pero es vital si se trata de mediciones potenciométricas de alta calidad.

23H MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS DIRECTAS

La determinación de un ion o de una molécula mediante medición potenciométrica directa es rápida y sencilla, y requiere sólo la comparación entre el potencial desarrollado por el electrodo indicador en la solución problema y su potencial obtenido cuando se sumerge en una o más soluciones patrón del analito. Debido a que la mayoría de los electrodos indicadores son selectivos, rara vez se requieren etapas de separación previas. Además, las mediciones potenciométricas directas son rápidas y se adaptan con facilidad al control automático y continuo de las actividades de los iones.

23H.1 Convención de signos y ecuaciones para la potenciometría directa

La convención de signos en potenciometría está de acuerdo con la que se explicó en el capítulo 22 para el potencial estándar de electrodo.³¹ En esta convención, el electrodo indicador es el de la derecha y el electrodo de referencia es el de la izquierda.³² En el caso de las mediciones potenciométricas directas, el potencial de la celda se expresa luego en función del potencial del electrodo indicador, del potencial del electrodo de referencia y del potencial de unión, como se expresa con la ecuación 23.1:

$$E_{\text{cel}} = (E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}) + E_j \quad (23.24)$$

³¹ La convención explicada está aprobada por el National Institute of Standards and Technology (NIST) y la IUPAC. Véase R. P. Buck y E. Lindner, *Pure Appl. Chem.*, **1994**, 66, p. 2527 (<http://www.iupac.org/publications/pac/1994/pdf/6612x2527.pdf>).

³² En efecto, la convención de signos para los potenciales de electrodo que se explica en la sección 22C.5 también designa al electrodo indicador como el de la derecha y estipula que las semirreacciones siempre se escriben como reducciones; el electrodo estándar de hidrógeno, que es el electrodo de referencia en este caso, es entonces el de la izquierda.

En las secciones 23B y 23C se explica la respuesta de varios tipos de electrodos indicadores ante las actividades de los analitos. Para el catión X^{n+} a 25°C , la respuesta del electrodo toma la forma nernstiana general

$$\begin{aligned} E_{\text{ind}} &= L - \frac{0.0592}{n} \log \frac{1}{a_X} \\ &= L - \frac{0.0592}{n} \text{pX} \end{aligned} \quad (23.25)$$

donde L es una constante y a_X es la actividad del catión. Por lo que se refiere a los electrodos indicadores metálicos, L es de ordinario el potencial del electrodo estándar (véase la ecuación 23.21); para los electrodos de membrana, L es la suma de varias constantes, incluso el potencial de asimetría dependiente del tiempo, de magnitud indeterminada (véase la ecuación 23.14).

Al sustituir la ecuación 23.25 en la 23.24 y reacomodar los términos se obtiene

$$\text{pX} = -\log a_X = -\frac{E_{\text{cel}} - [(E_j - E_{\text{ref}}) + L]}{0.0592/n}$$

Los términos constantes entre corchetes pueden combinarse para dar una nueva constante K :

$$\text{pX} = -\log a_X = -\frac{n(E_{\text{cel}} - K)}{0.0592} \quad (23.26)$$

donde

$$K = (E_j - E_{\text{ref}}) + L \quad (23.27)$$

Para un anión A^{n-} , el signo de la ecuación 23.26 se invierte, por lo que

$$\text{pA} = \frac{n(E_{\text{cel}} - K)}{0.0592} \quad (23.28)$$

Todos los métodos potenciométricos directos se basan en las ecuaciones 23.26 o 23.28. La diferencia de signo en las dos ecuaciones tiene una sutil pero importante consecuencia en la forma en que los electrodos selectivos de iones se conectan a los medidores de pH y de pIon. Cuando se resuelven las dos ecuaciones y se determina E_{cel} , se encuentra que para los cationes

$$E_{\text{cel}} = K - \frac{0.0592}{n} \text{pX} \quad (23.29)$$

y para los aniones

$$E_{\text{cel}} = K + \frac{0.0592}{n} \text{pA} \quad (23.30)$$

La ecuación 23.29 muestra que un aumento en pX da lugar a una disminución en E_{cel} con un electrodo selectivo de cationes. Por consiguiente, cuando se conecta

de la manera usual un voltímetro de elevada resistencia a la celda, y el electrodo indicador está unido a la terminal positiva, la lectura del medidor disminuye a medida que el pX aumenta. Para eliminar este problema, los fabricantes de instrumentos a veces invierten las conexiones de modo que los electrodos sensibles a cationes se conecten a la terminal negativa del medidor del potencial. Otra posibilidad es que la señal se puede invertir entre la etapa de entrada y el medidor, como se muestra en la sección 23F.1. Entonces las lecturas en el medidor aumentan al incrementarse el pX. Por otro lado, los electrodos selectivos de aniones se conectan a la terminal positiva del medidor de modo que los aumentos en pA también den lecturas positivas grandes.

23H.2 Método de calibración del electrodo

La constante K de las ecuaciones 23.29 y 23.30 incluye varias constantes, al menos una de las cuales, el potencial de unión, no puede calcularse con exactitud a partir de la teoría ni medirse directamente. Por tanto, antes de poder utilizar estas ecuaciones para determinar pX o pA, se debe evaluar K experimentalmente con una o más soluciones patrón del analito.

En el método de calibración del electrodo, K se determina al medir E_{cel} para una o más soluciones patrón de pX o pA conocidas. La suposición que se plantea entonces es que K no cambia cuando el patrón se sustituye por el analito. Por lo común, la calibración se efectúa en el momento en que se desea determinar pX o pA de la muestra. Con electrodos de membrana podría ser necesaria la recalibración si las mediciones se efectúan durante varias horas debido al cambio lento del potencial de asimetría.

El método directo de calibración de electrodo ofrece las ventajas de sencillez, rapidez y su aplicabilidad a sistemas de control de pX o pA continuos. Sin embargo, el método tiene dos desventajas importantes. Una de ellas es que la exactitud de una medición obtenida con este procedimiento está limitada por una incertidumbre inherente causada por el potencial de unión E_j que, por desgracia, no se puede eliminar por completo nunca. La segunda desventaja de este procedimiento es que los resultados de un análisis son actividades y no concentraciones. En el caso de algunas aplicaciones esto es una ventaja más que un inconveniente.

Error inherente al procedimiento de calibración del electrodo

Una grave desventaja del método de calibración de un electrodo es la incertidumbre inherente que resulta de suponer que K en la ecuación 23.26 o 23.28 es constan-

te durante la calibración y la determinación del analito. Esta suposición rara vez puede ser exactamente cierta debido a que las composiciones electrolíticas de la muestra y de la solución que se emplea para la calibración casi siempre son diferentes. El potencial de unión E_j contenido en K (ecuación 23.27) variará ligeramente aun cuando se utilice un puente salino. Con frecuencia, esta incertidumbre es del orden de 1 mV o más. Debido a la naturaleza de la relación potencial-actividad, esta incertidumbre tiene un efecto amplificado sobre la exactitud inherente al análisis. El grado de incertidumbre en la concentración del analito se puede calcular al derivar la ecuación 23.26 con respecto a K mientras E_{cel} se mantiene constante:

$$-\log_{10} e \frac{da_X}{a_X} = -0.434 \frac{da_X}{a_X} = -\frac{dK}{0.0592/n}$$

$$\frac{da_X}{a_X} = \frac{ndK}{0.0257} = 38.9ndK$$

Al sustituir da_X y dK por incrementos finitos y multiplicar ambos miembros de la ecuación por 100% se obtiene

$$\begin{aligned} \text{\% error relativo} &= \frac{\Delta a_X}{a_X} \times 100\% \\ &= 3.89 \times 10^3 n \Delta K \% \quad (23.31) \end{aligned}$$

La cantidad $\Delta a_X/a_X$ es el error relativo en a_X asociado con una incertidumbre absoluta ΔK en K . Por ejemplo, si ΔK es ± 0.001 V, es de esperarse un error relativo de alrededor de $\pm 4n\%$ en la actividad. *Es importante tener en cuenta que esta incertidumbre es característica de todas las mediciones en las que se utilicen celdas con un puente salino y que no puede eliminarse ni con las mediciones más cuidadosas de los potenciales de celda ni con los dispositivos de medición más sensibles y precisos.* Además, al parecer es imposible idear un método que elimine la incertidumbre en K que es el origen del problema.

Actividad frente a concentración

La respuesta del electrodo está relacionada con la actividad y no con la concentración del analito. Por lo regular lo que interesa es la concentración, y su determinación a partir de medidas potenciométricas requiere los datos de los coeficientes de actividad. A menudo no se dispone de los coeficientes de actividad porque la fuerza iónica de la solución es desconocida o es tan elevada que no es aplicable la ecuación de Debye-Hückel. Por desgracia, la suposición de que la actividad y la concentración son idénticas conduce a veces a graves errores, sobre todo cuando el analito es polivalente.

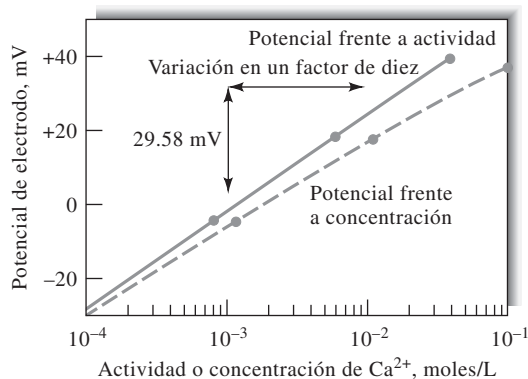


FIGURA 23.17 Respuesta de un electrodo de membrana líquida ante las variaciones en la concentración y actividad del ion calcio. (Cortesía de Thermo Orion, Boston, MA.)

La diferencia entre la actividad y la concentración se ilustra en la figura 23.17, donde la curva inferior representa la variación en el potencial de un electrodo de calcio en función de la concentración de cloruro de calcio (observe que la escala de actividad o concentración es logarítmica). La no linealidad de la curva se debe al aumento en la fuerza iónica (y a la consecuente disminución del coeficiente de actividad del calcio) a medida que se vuelve mayor la concentración del electrolito. Cuando estas concentraciones se convierten en actividades, la información origina la curva superior con pendiente de 0.0296 ($0.0592/2$).

A los coeficientes de actividad de iones monovalentes les afectan menos los cambios en la fuerza iónica que a los coeficientes de las especies con cargas múltiples. Por consiguiente, el efecto que se muestra en la figura 23.17 es menos pronunciado para electrodos que responden al H^+ , Na^+ y otros iones monovalentes.

En las mediciones potenciométricas, el pH de la solución amortiguadora patrón que se emplea para la calibración se basa por lo general en la actividad de los iones hidrógeno. Por consiguiente, los resultados obtenidos para el ion hidrógeno vendrán también en una escala de actividad. Si la muestra desconocida tiene una elevada fuerza iónica, la concentración de ion hidrógeno diferirá en forma notable de la actividad medida.

23H.3 Curvas de calibración para las mediciones de concentración

Las mediciones potenciométricas se pueden corregir para tener resultados en términos de concentración si se utiliza una curva de calibración empírica como la inferior de la figura 23.17. Pero para que este enfoque tenga éxito, es esencial que la composición iónica de los patrones se aproxime a la del analito, una condi-

ción que es difícil de llevar a cabo experimentalmente con muestras complejas.

Cuando las concentraciones del electrolito no son muy elevadas es útil saturar tanto las muestras como los patrones de calibración con un exceso medido de un electrolito inerte. En estas circunstancias, el efecto adicional del electrolito en la muestra es insignificante, y la curva de calibración empírica proporciona resultados en términos de concentración. Este enfoque se ha empleado para la determinación potenciométrica de fluoruro en abastecimientos de agua potable con un electrodo de fluoruro de lantano. En este caso, tanto las muestras como los patrones se diluyen en una proporción 1:1 con una solución que contiene cloruro de sodio, una solución amortiguadora de citrato y una de acetato. Esta mezcla, que fija tanto la fuerza iónica como el pH, se vende con el nombre de solución amortiguadora para ajustar la fuerza iónica total (TISAB por sus siglas en inglés). El diluyente está bastante concentrado como para que las muestras y los patrones no difieran significativamente en fuerza iónica. El procedimiento permite una medición rápida del ion fluoruro en una concentración del orden de 1 ppm, con una precisión relativa de alrededor de 5%. Las curvas de calibración son útiles también para electrodos que no responden linealmente al pA.

23H.4 Método de adición estándar

El método de adición estándar que se describió en la sección 1D.3, es igualmente aplicable a las determinaciones potenciométricas. En este caso, el potencial del sistema de electrodos se mide antes y después de la adición de un pequeño volumen, o volúmenes, de un patrón a un volumen conocido de la muestra. Se supone que esta adición no altera la fuerza iónica y, por tanto, tampoco el coeficiente de actividad γ_X del analito. Además, se supone que el patrón añadido no altera de manera significativa el potencial de unión.

El método de adición estándar se ha aplicado a la determinación de cloruro y fluoruro en muestras de luminóforos comerciales.³³ En esta aplicación se utilizaron electrodos indicadores de estado sólido para cloruro y fluoruro junto con un electrodo de referencia; el patrón añadido contenía cantidades conocidas de los dos aniones. La desviación estándar relativa de las mediciones de muestras patrón repetidas resultó ser de 0.7% para el fluoruro y de 0.4% para el cloruro. En el uso rutinario con muestras reales, el método de adición estándar dio desviaciones estándar relativas de 1.1% para el fluoruro y 0.8% para el cloruro. Cuando se analizaron muestras similares mediante los métodos usuales de calibración de electrodos, la precisión



Simulación: aprenda más acerca de la **calibración de los sistemas potenciométricos**.

³³L. G. Bruton, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, p. 579.

fue peor por casi un factor de 2. Métodos similares se utilizan para determinar fluoruro y cloruro en materiales geológicos con límites de detección de 5-10 µg/g y 40-100 µg/g, respectivamente.

23H.5 Mediciones potenciométricas de pH con un electrodo de vidrio

El electrodo de vidrio³⁴ es sin lugar a dudas el indicador más importante para el ion hidrógeno. Su uso es conveniente y está sujeto a pocas de las interferencias que afectan a otros electrodos sensibles al pH. Los electrodos de vidrio tienen un costo relativamente bajo y se ofrecen en muchas formas y tamaños. En la figura 23.3 se ilustra un modelo ordinario; el electrodo de referencia es por lo regular un electrodo de plata-cloruro de plata.

El electrodo de vidrio es una herramienta muy versátil para la medición de pH en condiciones muy diversas. El electrodo se puede utilizar sin interferencias en soluciones que contienen oxidantes fuertes, reductores, gases y proteínas. Por lo regular se usa un electrodo de referencia de calomel en lugar de uno plata-cloruro de plata en presencia de proteínas porque los iones plata reaccionan con ellas. Se puede determinar el pH de fluidos viscosos o hasta semisólidos de esta manera. Hay de electrodos para aplicaciones especiales; por ejemplo, entre éstos están los pequeños electrodos para medir el pH en una gota (o menos) de solución o en una cavidad de un diente, microelectrodos que facilitan la medición del pH dentro de una célula viva, sistemas que se insertan en la corriente de un líquido que fluye para medir en forma continua el pH, un pequeño electrodo de vidrio que puede tragarse para indicar la acidez del contenido del estómago (el electrodo de referencia se mantiene en la boca) y electrodos combinados que contienen tanto el electrodo indicador como el de referencia en una sonda única.³⁵

Resumen de los errores que afectan las mediciones de pH con el electrodo de vidrio

La omnipresencia del medidor de pH y la aplicabilidad general del electrodo de vidrio tienden a hacernos creer que cualquier medida obtenida con tal instrumento debe ser correcta. Es conveniente ser precavidos frente a esta falsa sensación de seguridad debido a que este sistema de electrodos tiene claras limitaciones

que ya se trataron en las secciones precedentes y aquí sólo se resumen.

- 1. Error alcalino.** Los electrodos de vidrio modernos son algo sensibles a iones de metales alcalinos para valores de pH superiores a 11 o 12.
- 2. Error ácido.** A un pH menor de 0.5, los valores obtenidos con un electrodo de vidrio tienden a ser algo elevados.
- 3. Deshidratación.** La deshidratación del electrodo puede dar lugar a un funcionamiento inestable y a errores.
- 4. Errores en las soluciones con fuerzas iónicas bajas.** Se ha observado que pueden presentarse errores importantes, tanto como 1 o 2 unidades de pH, cuando se mide el pH de muestras con baja fuerza iónica, como las de lagos o arroyos, con un sistema de electrodos de vidrio-calomel.³⁶ Está comprobado que la fuente principal de tales errores son los potenciales de unión no reproducibles que resultan de una obturación parcial del tapón fritado o de la fibra porosa que se utiliza para restringir el flujo de líquido desde el puente salino hacia la solución de analito. Con el fin de superar este problema, se han diseñado uniones de difusión libre de diversos tipos y una se produce comercialmente. En ésta, se adiciona una solución de electrolito con una jeringa a través de un tubo capilar, la punta del cual está en contacto con la solución de la muestra (véase la figura 23.18). Antes de cada medición, se introducen 6 µL de electrolito de modo que una porción fresca de electrolito esté en contacto con la solución de analito.
- 5. Variación en el potencial de unión.** Es necesario enfatizar que la variación del potencial de unión entre el patrón y la muestra ocasiona una incertidumbre fundamental en la medición de pH, a la que no puede aplicarse ninguna corrección. Por lo general, no se obtienen mediciones absolutas más confiables que 0.01 unidades de pH. Incluso una confiabilidad de 0.03 unidades de pH requiere un cuidado considerable. Por otro lado, a menudo es posible detectar diferencias de pH entre soluciones similares o cambios de pH en una misma solución del orden de 0.001 unidades. Por esta razón, muchos medidores de pH están diseñados para permitir lecturas de menos de 0.01 unidades. La unión de difusión libre que se describe en la sección 23H.5 y que se ilustra en la figura 23.18 tiene la capacidad de reducir al mínimo la variación en el potencial de unión.
- 6. Error en el pH de la solución amortiguadora patrón.** Cualquier inexactitud en la preparación de la so-

³⁴ Para una discusión detallada de las definiciones, patrones, procedimientos y errores relacionados con la medición del pH, consulte R. P. Buck *et al.*, *Pure Appl. Chem.*, **2002**, 74, p. 2169 (<http://www.iupac.org/publications/pac/2002/pdf/7411x2169.pdf>) y R. G. Bates, *Determination of pH: Theory and Practice*, 2a. ed. Nueva York: Wiley, 1973.

³⁵ Para detalles de la fabricación de una sonda representativa para pH véase http://www.radiometer-analytical.com/pdf/general/Electrode_manufacturing.pdf.

³⁶ Véase W. Davison, *Trends Anal. Chem.*, **1990**, 9, p. 80; W. Davison y C. Woof, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, p. 2567; T. R. Harbinson y W. Davison, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 2450; A. Kopelove, S. Franklin y G. M. Miller, *Amer. Lab.*, **1989** (6), p. 40.

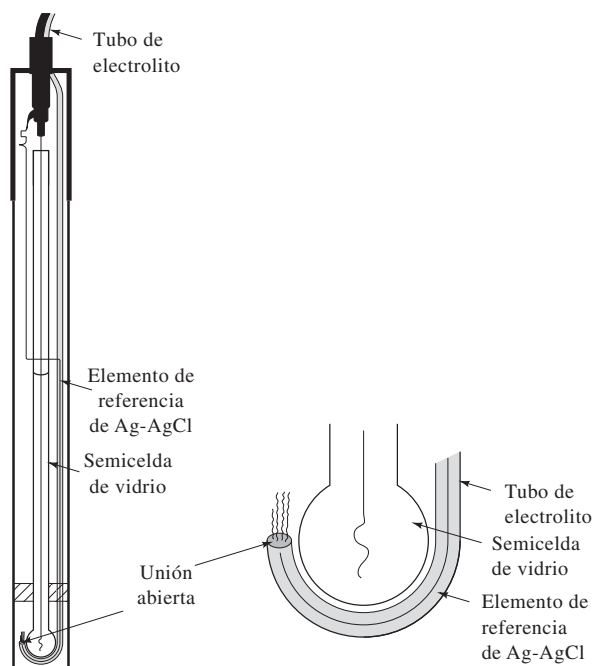


FIGURA 23.18 Sistema de electrodo de pH combinado con una unión de difusión libre. (Cortesía de Hach Company, Loveland, CO. Con autorización.)

lución amortiguadora que se utiliza para la calibración, o los cambios en su composición durante el almacenamiento, se propagan como errores en las mediciones de pH. Una causa frecuente del deterioro es la acción de las bacterias en los componentes orgánicos de las soluciones amortiguadoras.

7. Errores por los cambios de temperatura. Cuando las mediciones de pH se efectúan a temperatura distinta de 25°C, los medidores de pH se tienen que ajustar para compensar el cambio en la respuesta nernstiana del electrodo de vidrio. La compensación se logra a menudo mediante circuitos de compensación automática de la temperatura o a través de los programas de computadora que se incluyen en los medidores modernos; pero con los viejos medidores podría ser necesario el ajuste manual de la pendiente o de la temperatura.

Definición operacional de pH

La utilidad del pH como una medida de la acidez o alcalinidad de los medios acuosos, la amplia disponibilidad comercial de electrodos de vidrio y la proliferación de medidores de pH de estado sólido baratos han hecho de las medidas potenciométricas del pH una de las técnicas analíticas más usuales en toda la ciencia. Por tanto, es muy importante que el pH se defina de una manera que sea fácilmente reproducible en

diversos momentos y por varios laboratorios en todo el mundo. Para cumplir con este requisito, es necesario definir el pH en términos operacionales, es decir, por la manera en que se lleva a cabo la medición. Sólo entonces el pH medido por un operario será el mismo que el medido por otro.

La definición operacional de pH aprobada por el National Institute of Standards and Technology (NIST), por organizaciones similares de otros países y por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) se basa en la calibración directa del aparato medidor con soluciones amortiguadoras patrón cuidadosamente establecidas seguida de la determinación potenciométrica del pH de las soluciones desconocidas.

Por ejemplo, considere los sistemas de referencia de vidrio de la figura 23.3. Cuando estos electrodos se sumergen en una solución amortiguadora patrón a 25°C, es aplicable la ecuación 23.26 y se puede escribir

$$\text{pH}_S = -\frac{E_S - K}{0.0592}$$

donde E_S es el potencial de celda cuando los electrodos se sumergen en la solución amortiguadora patrón. De manera similar, si el potencial de celda es E_U cuando los electrodos se sumergen en una solución de pH desconocido también a 25°C, se tiene

$$\text{pH}_U = -\frac{(E_U - K)}{0.0592}$$

Al restar la primera ecuación de la segunda y despejar pH_U , se llega a

$$\text{pH}_U = \text{pH}_S - \frac{(E_U - E_S)}{0.0592} \quad (23.32)$$

La ecuación 23.32 se ha adoptado en todo el mundo como la definición operacional de pH.³⁷

Los trabajadores del NIST y los de otros centros han utilizado celdas sin uniones líquidas para estudiar en forma extensa las soluciones amortiguadoras patrón primario. Algunas de las propiedades de estas soluciones amortiguadoras se proporcionan en la tabla 23.7 y se estudian con detalle en otra parte.³⁸ Para usos generales, la solución amortiguadora se puede preparar

³⁷ La ecuación 23.32 se aplica sólo en soluciones a 25°C. Una ecuación más general es

$$\text{pH}_U = \text{pH}_S - \frac{(E_U - E_S)F}{2.303RT} = \text{pH}_S - \frac{(E_U - E_S)F}{1.984 \times 10^{-4} T}$$

donde T es la temperatura de la muestra y la solución amortiguadora patrón y pH_S es el pH del patrón a la temperatura T .

³⁸ R. G. Bates, *Determination of pH*, 2a. ed., cap. 4, Nueva York: Wiley, 1973.

TABLA 23.7 Valores de pH de soluciones patrón de referencia según el NIST, de 0°C a 60°C.^a

Temperatura, °C	0.05 m ^a KH ₃ (C ₂ O ₄) ₂ · 2H ₂ O 189b	Tartrato de KH 0.01 m 188	Ftalato de KH 0.05 m 185h	0.025 m KH ₂ PO ₄ /0.025 m Na ₂ HPO ₄ 186g	0.008695 m KH ₂ PO ₄ /0.03043 m Na ₂ HPO ₄ 186g	0.01 m Na ₄ B ₄ O ₇ 187e	0.025 m NaHCO ₃ /0.025 m ^a Na ₂ CO ₃ 191a/192a
0	—	3.711	—	—	—	—	—
5	1.709	3.689	4.004	6.952	7.503	9.393	—
10	1.709	3.671	4.001	6.923	7.475	9.333	—
15	1.711	3.657	4.001	6.899	7.451	9.278	10.117
20	1.714	3.647	4.003	6.880	7.432	9.230	10.063
25	1.719	3.639	4.008	6.864	7.416	9.186	10.012
30	1.724	3.635	4.015	6.853	7.404	9.146	—
35	1.731	3.632	4.023	6.844	7.396	9.110	9.928
37	—	3.631 ^d	4.027	6.841	7.394	9.096	—
40	1.738	3.632	4.034	6.837	7.390	9.077	—
45	1.746	3.635	4.046	6.835	7.387	9.047	—
50	1.754	3.639	4.060	6.833	7.385	9.020	—
55	—	3.644	—	—	—	—	—
60	—	3.651	—	—	—	—	—
Capacidad de amortigua- miento, ^b (mol/unidad de pH)	0.070	0.027	0.016	0.029	0.016	0.020	0.029
ΔpH _{1/2} para dilución 1:1 ^c	0.186	0.049	0.052	0.080	0.07	0.01	0.079
Coefficiente de temperatura, pH/K	+0.001	−0.0014	−0.0012	−0.0028	−0.0028	−0.0082	−0.0096

Adaptado de Y. C. Wu, W. F. Koch y R. A. Durst, *Standard Reference Materials: Standardization of pH Measurements*, NIST Special Publication p. 260-53. Gaithersburg, MD: U.S. Department of Commerce, 1988, http://ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232/SP_PUBLICATIONS/documents/SP260-53.pdf. Valores actualizados de los certificados NIST SRM más recientes.

m = molalidad (moles de soluto/kg de H₂O).

^aTodas las incertidumbres son ±0.005 pH excepto para soluciones de KHC₂O₄·2H₂C₂O₄, las cuales tienen una incertidumbre de ±0.01 pH.

^bLa capacidad de amortiguamiento es la cantidad de moles de un ácido monoprótico fuerte o de una base que provoca un cambio de pH de 1.0 unidades en 1.0 L.

^cCambio de pH que tiene lugar cuando un volumen de una solución amortiguadora se diluye con un volumen de H₂O.

^d38°C.

a partir de reactivos de laboratorio baratos. Para trabajos cuidadosos, las soluciones amortiguadoras certificadas se adquieren en el NIST.³⁹

23I TITULACIONES POTENCIOMÉTRICAS

El potencial de un electrodo indicador adecuado es apropiado para establecer el punto de equivalencia de una titulación (potenciométrica).⁴⁰ Una titulación potenciométrica proporciona una información diferente de la de una medición potenciométrica directa. Por ejemplo, la medición directa de soluciones de ácido acético 0.100 M y ácido clorhídrico 0.100 M con un

electrodo sensible al pH produce valores de pH muy diferentes debido a que el ácido acético sólo está parcialmente disociado. Por otro lado, las titulaciones potenciométricas de volúmenes iguales de los dos ácidos requieren la misma cantidad de base patrón para su neutralización.

El punto final potenciométrico es ampliamente aplicable y proporciona datos más exactos que el método correspondiente que utiliza indicadores. Es en particular útil para la titulación de soluciones coloreadas o turbias y para detectar la presencia de especies insospechadas en una solución. Pero requiere más tiempo que una titulación que utilice un indicador, a no ser que se utilice un titulador automático. No se tratan aquí los detalles de las técnicas de valoración potenciométrica

³⁹ Véase <https://srms.nist.gov/detail.cfm>, keyword pH.

⁴⁰ Para más información de este método vea E. P. Sergeant, *Potentiometry and Potentiometric Titrations*, Nueva York: Wiley, 1984, reimpresión: Melbourne, FL: Krieger, 1991.



Simulación: aprenda más acerca de las titulaciones potenciométricas.



FIGURA 23.19 Titulador automático de alto rendimiento. Trabaja con hasta seis mecanismos impulsores para buretas, contiene programas de computación que el usuario puede modificar, permite una alta producción de muestras con un soporte giratorio para las mismas que no se muestra. El instrumento se puede adaptar para diversos tipos de titulaciones. (Copyright 2006 Mettler-Toledo, Inc.)



Simulación: aprenda más acerca de las titulaciones derivadas.

porque la mayoría de los textos elementales de análisis tratan este tema con amplitud.⁴¹

Diversas compañías fabrican tituladores automáticos. Uno de dichos instrumentos se ilustra en la fotografía de la figura 23.19. Estos dispositivos están equipados con un depósito de titulante, un despachador de titulante, como una bomba con jeringa y un acomodo de tubos y válvulas para servir volúmenes medidos de titulante a una velocidad aceptable. El titulador obtiene la información de una sonda de pH u otro sensor para supervisar el avance de la titulación. El punto final de la titulación lo determina un programa que ya está incorporado y se basa en las técnicas de la primera y segunda derivadas⁴² o algún otro método especificado o programado por el usuario. Muchos de estos instrumentos son capaces de calcular las concentraciones de analito a partir de datos de concentración patrón que el mismo usuario introduce, y los resultados del experimento se imprimen, se almacenan o se transmiten por medio de una interfase en serie u otra adecuada hasta un sistema que administra la información del laboratorio (véase sección 4H.2). Los tituladores automáticos son útiles en especial en los laboratorios industriales o clínicos en los que se analizan en forma rutinaria grandes cantidades de muestras.

⁴¹ Por ejemplo, véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., cap. 21, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

⁴² S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 134-142.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

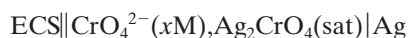
*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 23.1** ¿Qué se quiere decir cuando se afirma que un electrodo indicador tiene comportamiento nernstiano?
- 23.2** ¿Cuál es la causa del error alcalino en la medición del pH con un electrodo de vidrio?
- 23.3** Compare los coeficientes de temperatura promedio en el intervalo de 15 a 35°C de los cinco electrodos de referencia que aparecen en la tabla 23.1.
- 23.4** ¿Qué ocurre en la punta sensible al pH de un electrodo de vidrio recién fabricado cuando se sumerge en agua?
- 23.5** Mencione las diferencias entre un electrodo de primera clase y un electrodo de segunda clase.
- 23.6** ¿Cuáles son las diferencias entre una sonda sensible al gas y otros electrodos de membrana?

- 23.7** ¿Cuál es la causa de
- el potencial de asimetría en un electrodo de membrana?
 - el potencial límite en un electrodo de membrana?
 - el potencial de unión en un sistema de electrodos referencia-vidrio?
 - el potencial de un electrodo de membrana cristalina que se utiliza para determinar la concentración de F^- ?
- 23.8** Enliste las diversas fuentes de incertidumbre en las mediciones del pH con un sistema de electrodos referencia-vidrio.
- 23.9** ¿Qué es un ionóforo? ¿Cuál es el objetivo de los ionóforos en los electrodos de membrana?
- 23.10** Elabore una lista de las ventajas e inconvenientes de una titulación potenciométrica respecto a una titulación con indicadores visuales.
- 23.11** ¿Cuál es la *definición operacional* de pH y cómo se usa?
- 23.12** ¿Cuáles son las ventajas de los electrodos selectivos de iones microfabricados? Describa las aplicaciones características de este tipo de sensor.
- *23.13** Calcule el potencial teórico de las siguientes celdas. (Suponga en cada caso que las actividades son casi iguales a las concentraciones molares y que la temperatura es 25°C .)
- $\text{ECS} \parallel \text{Fe}^{3+}(0.0250 \text{ M}), \text{Fe}^{2+}(0.0150 \text{ M}) \mid \text{Pt}$
 - $\text{ECS} \parallel \text{Zn}^{2+}(0.00228 \text{ M}) \mid \text{Zn}$
 - Referencia Ag-AgCl saturado $\parallel \text{Ti}^{3+}(0.0250 \text{ M}), \text{Ti}^{2+}(0.0450 \text{ M}) \mid \text{Pt}$
 - Referencia Ag-AgCl saturado $\parallel \text{I}_3^-(0.00667 \text{ M}), \text{I}^-(0.00433 \text{ M}) \mid \text{Pt}$
- *23.14** a) Calcule el potencial estándar para la reacción
- $$\text{CuBr}(s) + e^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s) + \text{Br}_2$$
- Para CuBr, $K_{\text{pe}} = 5.2 \times 10^{-9}$.
- Elabore un esquema de una celda con un electrodo indicador de cobre y un electrodo de referencia de calomel saturado que pueda utilizarse para la determinación de Br_2 .
 - Deduzca una ecuación que relacione el potencial medido en la celda del inciso b) con el pBr (suponga que el potencial de unión es cero).
 - Calcule el pBr de una solución que contiene bromuro, que está saturada con CuBr y está dentro de la celda que se describe en el inciso b) si el potencial resultante es -0.095 V .
- *23.15** a) Calcule el potencial estándar para la reacción
- $$\text{Ag}_3\text{AsO}_4(s) + 3e^- \rightleftharpoons 3\text{Ag}(s) + \text{AsO}_4^{3-}$$
- Para Ag_3AsO_4 , $K_{\text{pe}} = 1.2 \times 10^{-22}$.
- Elabore un esquema de una celda con un electrodo indicador de plata y un electrodo de referencia de calomel saturado que se pueda utilizar para la determinación de AsO_4^{3-} .
 - Deduzca una ecuación que relacione el potencial medido en la celda del inciso b) con el pAsO_4 (suponga que el potencial de unión es cero).
 - Calcule el pAsO_4 de una solución que está saturada con Ag_3AsO_4 y está en la celda descrita en el inciso b) si el potencial resultante es 0.247 V .
- *23.16** La siguiente celda se empleó para la determinación del pCrO_4 :



Calcule el pCrO_4 si el potencial de la celda es -0.386 V .

***23.17** La siguiente celda se empleó para determinar el pSO_4 de una solución:

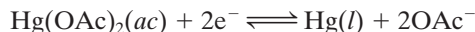


Calcule el pSO_4 si el potencial fue -0.537 V.

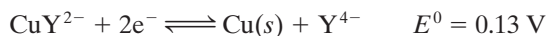
***23.18** La constante de formación del complejo de acetato de mercurio(II) es



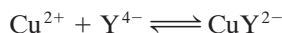
Calcule el potencial estándar de la semirreacción



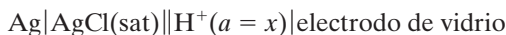
***23.19** El potencial estándar de electrodo para la reducción del complejo de EDTA con $Cu(II)$ es



Calcule la constante de formación para la reacción



***23.20** La celda



tiene un potencial de -0.2094 V cuando la solución que está en el compartimiento de la derecha es un amortiguador de pH 4.006. Se obtuvieron los potenciales siguientes cuando la solución amortiguadora se reemplazó con una solución desconocida: a) -0.2806 V y b) -0.2132 V. Calcule el pH y la actividad del ion hidrógeno de cada solución desconocida. c) Suponga una incertidumbre de 0.001 V en el potencial de unión, ¿cuál es el intervalo de los valores de las actividades del ion hidrógeno dentro del cual se espera que quede el valor verdadero?

***23.21** Se observó que la celda siguiente tiene un potencial de 0.124 V:



Cuando se reemplazó la solución de actividad conocida de cobre por una solución desconocida, se determinó que el potencial era 0.086 V. ¿Cuál fue el pCu de esta solución desconocida? No tome en cuenta el potencial de unión.

***23.22** Se encontró que la celda siguiente tiene un potencial de -1.007 V:



Calcule el producto de solubilidad de CdX_2 , sin considerar el potencial de unión.

***23.23** Se observó que la celda siguiente tiene un potencial de -0.492 V:



Calcule la constante de disociación de HA , no tome en cuenta el potencial de unión.



23.24 Una alícuota de 40.00 mL de 0.0500 M HNO_2 se diluye hasta 75.0 mL y se titula con 0.0800 M Ce^{4+} . Suponga que la concentración de ion hidrógeno es 1.00 M a lo largo de la titulación. (Utilice 1.44 V para el potencial formal del sistema del cerio.)

- Calcule el potencial del electrodo indicador respecto a un electrodo de referencia $Ag-AgCl(sat)$ después de la adición de $5.00, 10.00, 15.00, 20.00, 25.00, 40.00, 45.00, 49.00, 49.50, 49.60, 49.70, 49.80, 49.90, 49.95, 49.99, 50.00, 50.01, 50.05, 50.10, 50.20, 50.30, 50.40, 50.50, 51.00, 55.00, 60.00, 75.00$ y 90.00 mL de cerio(IV).
- Dibuje la curva de titulación para estos datos.

- c) Genere una curva de la primera y la segunda derivadas para estos datos.⁴³
¿El volumen al cual la curva de la segunda derivada cruza el cero corresponde al punto de equivalencia teórico? ¿Por qué sí o por qué no?
- *23.25** Se encontró con que la celda siguiente tiene un potencial de 0.2897 V:
- $$\text{ECS}||\text{Mg}^{2+}(a = 3.32 \times 10^{-3} \text{ M})|\text{electrodo de membrana para Mg}^{2+}$$
- a) Cuando la solución de actividad conocida de magnesio se reemplazó con la solución problema, se determinó que el potencial era de 0.2041 V. ¿Cuál era el pMg de la solución problema?
- b) Si se supone una incertidumbre de ± 0.002 V en el potencial de unión, ¿cuál es el intervalo de las actividades del Mg^{2+} dentro del cual se podría esperar que esté el valor verdadero?
- c) ¿Cuál es el error relativo en $[\text{Mg}^{2+}]$ asociado con la incertidumbre en E_j ?
- *23.26** Una muestra de 0.400 g de pasta dental se hirvió con 50 mL de una solución que contenía una solución amortiguadora de citrato y NaCl para extraer el ion fluoruro. Después de enfriarla, la solución se diluyó exactamente a 100 mL. Se encontró que el potencial de un sistema de electrodo selectivo de iones con electrodo de referencia Ag-AgCl(sat) en una alícuota de 25.0 mL de la muestra era -0.1823 V. La adición de 5.0 mL de una solución que contiene 0.00107 mg F^-/mL hizo cambiar el potencial a -0.2446 V. Calcule el porcentaje en peso de F^- en la muestra.



Problema de reto

- 23.27** Ceresa, Pretsch y Bakker⁴⁴ efectuaron una investigación sobre tres electrodos selectivos de iones para determinar las concentraciones de calcio. Los tres electrodos utilizaron la misma membrana, pero diferente composición de la solución interna. El electrodo 1 era uno ordinario selectivo de iones con una solución interna de CaCl_2 1.00×10^{-3} M y NaCl 0.10 M. El electrodo 2 (baja actividad de Ca^{2+}) tenía una solución interna de la misma concentración analítica de CaCl_2 , pero con EDTA 5.0×10^{-2} M ajustada a un pH de 9.0 con NaOH 6.0×10^{-2} M. El electrodo 3 (alta actividad de Ca^{2+}) tenía una solución interna de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1.00 M.
- a) Determine la concentración de Ca^{2+} en la solución interna del electrodo 2.
- b) Determine la fuerza iónica de la solución en el electrodo 2.
- c) Mediante la ecuación de Debye-Hückel determine la actividad de Ca^{2+} en el electrodo 2. Utilice 0.6 nm como el valor α_x para Ca^{2+} (véase apéndice 2).
- d) El electrodo 1 se usó en una celda con un electrodo de referencia de calomel para medir las soluciones de calcio patrón con actividades que variaban de 0.001 M a 1.00×10^{-9} M. Se obtuvieron los siguientes datos.

Actividad del Ca^{2+} , M	Potencial de celda, mV
1.0×10^{-3}	93
1.0×10^{-4}	73
1.0×10^{-5}	37
1.0×10^{-6}	2
1.0×10^{-7}	-23
1.0×10^{-8}	-51
1.0×10^{-9}	-55

⁴³ S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, pp. 134-140. Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

⁴⁴ A. Ceresa, E. Pretsch y E. Bakker, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 2054.

Grafique el potencial de celda contra el pCa y determine el valor de pCa en el que la gráfica se desvía más de 5% de la linealidad (para el límite de linealidad; véase sección 1E.2). Para la porción lineal, determine la pendiente y la ordenada al origen de la gráfica. ¿La gráfica se apega a la ecuación 23.29 como es de esperarse?

- e) Para el electrodo 2 se obtuvieron los siguientes resultados.

Actividad del Ca^{2+} , M	Potencial de celda, mV
1.0×10^{-3}	228
1.0×10^{-4}	190
1.0×10^{-5}	165
1.0×10^{-6}	139
5.6×10^{-7}	105
3.2×10^{-7}	63
1.8×10^{-7}	36
1.0×10^{-7}	23
1.0×10^{-8}	18
1.0×10^{-9}	17

Una vez más grafique el potencial de celda contra el pCa y determine el intervalo de la linealidad para el electrodo 2. Determine la pendiente y dónde corta al eje de las y la porción lineal. ¿Este electrodo se apega a la ecuación 21.24 respecto a las actividades más altas del Ca^{2+} ?

- f) Se dice que el electrodo 2 es supernernstiano para las concentraciones desde 10^{-7} M a 10^{-6} M. ¿Por qué se utiliza este término? Si usted tiene acceso a una biblioteca que esté suscrita a *Analytical Chemistry* o tiene acceso por la red a una revista, lea el artículo. Se dice que este electrodo captura Ca^{2+} . ¿Qué significa esto y cómo se podría explicar la respuesta?
- g) El electrodo 3 dio los resultados siguientes.

Actividad del Ca^{2+} , M	Potencial de celda, mV
1.0×10^{-3}	175
1.0×10^{-4}	150
1.0×10^{-5}	123
1.0×10^{-6}	88
1.0×10^{-7}	75
1.0×10^{-8}	72
1.0×10^{-9}	71

Grafique el potencial de celda contra el pCa y determine el valor de la linealidad. Determine otra vez la pendiente y la ordenada al origen.

¿Se apega el electrodo a la ecuación 23.29?

- h) Se dice que el electrodo 3 libera Ca^{2+} . Explique este término con base en el artículo y explique cómo podría sustentar su respuesta.
- i) ¿El artículo da otras explicaciones para los resultados experimentales? Si es así, describa las alternativas.

Coulombimetría

Tres métodos electroanalíticos se basan en la oxidación o reducción electrolítica de un analito durante un tiempo suficiente para asegurar su conversión cuantitativa en un nuevo estado de oxidación. Estos métodos son **coulombimetría a potencial constante, coulombimetría a corriente constante, (o valoraciones coulombimétricas) y electrogravimetría**. En los métodos electrogravimétricos se pesa el producto de la electrólisis que se depositó en uno de los electrodos. En cambio, en los dos procedimientos coulombimétricos, la cantidad de electricidad necesaria para completar la electrólisis sirve como una medida de la cantidad de analito presente.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

En general, los tres métodos poseen una moderada selectividad, sensibilidad y rapidez; en muchos casos están entre los métodos más exactos y precisos, y lo frecuente son las incertidumbres relativas de unas décimas de porcentaje. Por último, a diferencia de todos los otros métodos que se tratan en esta obra, estos tres no requieren calibración respecto a patrones, es decir, la relación funcional entre la cantidad medida y la masa de analito se puede deducir de la teoría. Las aplicaciones de los métodos electrogravimétricos se tratan en muchos libros de texto elementales,¹ razón por la cual no se estudian aquí con detalle. No obstante, antes de analizar los dos métodos coulombimétricos, se estudian los procesos que se llevan a cabo en un depósito electrolítico.

24A RELACIONES CORRIENTE-VOLTAJE DURANTE LA ELECTRÓLISIS

Una electrólisis puede llevarse a cabo en una de las tres maneras siguientes: 1) con un voltaje de celda aplicado constante, 2) con corriente de electrólisis constante, o bien, 3) con un potencial constante de electrodo de trabajo. Es útil considerar las consecuencias de cada uno de estos modos de operación. Para los tres, el comportamiento de la celda se rige por una ecuación similar a la 22.20.

$$E_{\text{apl}} = (E_r - E_l) + (\eta_{\text{rc}} + \eta_{\text{rk}}) - (\eta_{\text{lc}} + \eta_{\text{lk}}) - IR \quad (24.1)$$

donde E_{apl} es el voltaje aplicado desde una fuente externa y E_r y E_l son los potenciales reversibles o termodinámicos de los electrodos de la derecha y de la izquierda, respectivamente. Los valores η_{rc} y η_{rk} son excesos de voltaje debidos a la polarización de concentración y a la polarización cinética en el electrodo de la derecha; η_{lc} y η_{lk} son los excesos de voltaje correspondientes en el electrodo de la izquierda (véase sección 22E.2). Los valores de E_r y E_l se calculan a partir de los potenciales estándar que usan la ecuación de Nernst. En muchos casos, sólo el electrodo de la derecha es polarizable porque el de la izquierda es un electrodo de referencia no polarizable. El exceso de voltaje η es el potencial extra, por arriba del potencial termodinámico, que se requiere para desencadenar la reacción del electrodo a una cierta velocidad y, por consiguiente, producir corriente en la celda.² De los términos del segundo miembro de la ecuación 24.1

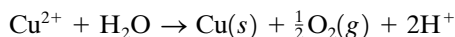
¹ Véase por ejemplo D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., cap. 22, Belmont, CA: Brooks-Cole, 2004.

² A lo largo de este capítulo, los potenciales de unión se pasan por alto porque por lo regular son pequeños y carecen de importancia para la exposición.

sólo E_r y E_i se pueden calcular con la teoría; el resto de ellos sólo se puede evaluar en forma experimental.

24A.1 Funcionamiento de una celda a un potencial aplicado fijo

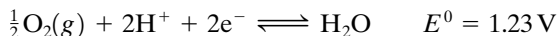
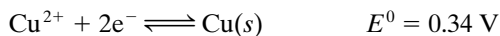
La manera más simple de llevar a cabo una electrólisis analítica es mantener el potencial que se aplica a la celda en un valor constante. En la práctica, la electrólisis a un potencial de celda constante se limita a separar cationes que se reducen con facilidad de aquellos que son más difíciles de reducir que el ion hidrógeno o el ion nitrato. La razón de esta limitación se ilustra en la figura 24.1, en la que se muestran los cambios de corriente, caída de IR y potencial del cátodo E_c durante la electrólisis en la celda para la determinación de cobre(II). La celda consta de dos electrodos de platino, cada uno con un área superficial de 150 cm^2 , sumergidos en 200 mL de una solución que es 0.0220 M en ion cobre(II) y 1.00 M en ion hidrógeno. La resistencia de la celda es 0.50Ω . Al aplicar una diferencia de potencial apropiada entre los dos electrodos, el cobre se deposita en el cátodo y se desprende oxígeno a una presión parcial de 1.00 atm en el ánodo. La reacción global en la celda es



El analito aquí son los iones de cobre(II) en una solución que contiene un exceso de ácido sulfúrico o ácido nítrico.

Potencial termodinámico inicial de la celda

Los datos de potenciales estándar para las dos semireacciones de la celda motivo de estudio son



Si se utiliza el método que se siguió en el ejemplo 22.6, se puede demostrar que el potencial termodinámico para esta celda es -0.94 V . Por tanto, no se espera paso de corriente si se aplican potenciales menos negativos; a potenciales mayores, debe observarse un aumento lineal en la corriente en ausencia de polarización cinética o de concentración. Cuando se aplica un potencial de alrededor de -2.5 V a la celda, la corriente inicial es de casi 1.5 A, como se observa en la figura 24.1a. La deposición electrolítica de cobre se completa a este potencial aplicado.

Como se ve en la figura 24.1b, la caída de IR disminuye en forma continua a medida que ocurre la reacción. La principal razón de dicha disminución es la polarización de concentración en el cátodo, lo cual limita la velocidad a la cual los iones cobre son llevados

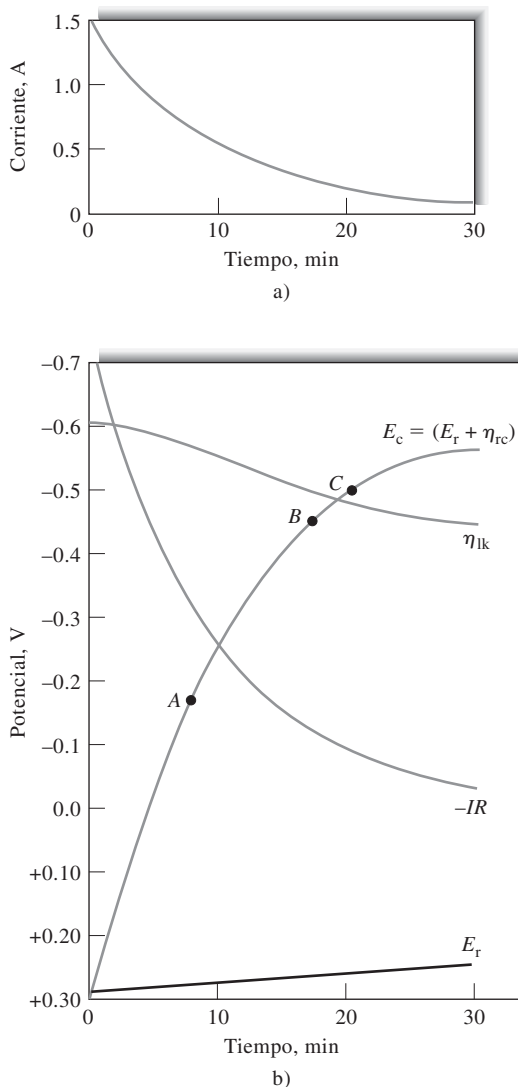


FIGURA 24.1 Cambios en a) la corriente y b) en los potenciales durante el depósito electrolítico de Cu^{2+} . Los puntos A y B en la curva del potencial de cátodo son los potenciales a los cuales el Pb y el Cd empezarían a codepositarse si estuvieran presentes. El punto C es el potencial al cual el H_2 empezaría a formarse en el cátodo. Cualquiera de estos procesos distorsionaría la curva ABC.

a la superficie del electrodo y, por tanto, la corriente. Como se muestra en la ecuación 24.1, el decremento en IR se debe compensar con un aumento en el potencial del cátodo (más negativo), porque el potencial de celda aplicado es constante.

Por último, el decremento en la corriente y el aumento en el potencial del cátodo son menores en el punto B por la reducción de los iones hidrógeno. Puesto que la solución contiene un gran exceso de ácido, la corriente ya no está ahora limitada por la polarización de concentración, y el codepósito de cobre e hidrógeno

continúa de manera simultánea hasta que el resto de los iones cobre se depositan. En estas condiciones, se dice que al cátodo lo despolarizan los iones hidrógeno.

Considere ahora el destino de algún ion metálico, como el plomo(II), que comienza a depositarse en el punto *A* en la curva de potencial del cátodo. El plomo(II) se codepositaría muy bien antes que el depósito de cobre se termine y por tanto interferiría con la determinación del cobre. En cambio, un ion metálico como el cobalto(II) que reacciona en un potencial de cátodo que corresponde al punto *C* de la curva no interferiría, porque la despolarización a causa de la formación de gas hidrógeno evita que el cátodo alcance este potencial. En el mejor de los casos, una electrólisis a potencial constante se puede efectuar sólo para separar los cationes que se reducen con facilidad, como Pb(II), Cd(II), Ag(I), Tl(I), Cu(II) y Zn(II), de aquellos que son más difíciles de reducir que el ion hidrógeno, como el As(III). Como se sugirió en el párrafo anterior, la separación del hidrógeno se presenta cerca del fin de la electrólisis y evita que interfieran cationes que se reducen a potenciales más negativos.

El codepósito de hidrógeno durante la electrólisis ocasiona a menudo la formación de depósitos que no se adhieren bien. En general dichos depósitos son inadecuados para fines analíticos. Este problema se puede solucionar con la introducción de otra especie que se reduzca a potenciales menos negativos que el ion hidrógeno y no afecte en forma adversa las propiedades físicas del depósito. Uno de tales despolarizadores de cátodo es el ion nitrato. El uso de la hidracina y la hidroxilamina es también común.

En la práctica, con los instrumentos modernos que funcionan con amplificadores operacionales, las celdas electrolíticas rara vez operan a un potencial de celda constante. Ahora el potencial en el electrodo que opera se controla mediante un dispositivo que se llama *potencioestato*, que se describe en la sección 24C.1. Enseguida se estudia el depósito electrolítico, pero los principios se aplican también a la coulombimetría y a las titulaciones coulombimétricas.

Cambios de corriente durante una electrólisis a potencial aplicado constante

Es útil considerar los cambios de corriente en la celda en estudio cuando el potencial se mantiene constante a -2.5 V durante la electrólisis. En estas condiciones, la corriente disminuye con el tiempo debido al agotamiento de los iones cobre en la solución, así como a un aumento en la polarización de concentración catódica. En realidad, con la aparición de la polarización

de concentración, la corriente disminuye de forma exponencial con el tiempo. Es decir,

$$I_t = I_0 e^{-kt}$$

donde I_t es la corriente t minutos después de la aparición de la polarización e I_0 es la corriente inicial. Lingane³ demostró que los valores para la constante k se pueden determinar a partir de la relación

$$k = \frac{25.8DA}{V\delta}$$

donde D es el coeficiente de difusión en (cm^2/s), o la velocidad a la cual se difunde el reactivo a un gradiente de concentración unitario. El parámetro A es el área superficial del electrodo en (cm^2), V es volumen de la disolución en (cm^3) y δ es el espesor de la capa superficial en la que existe el gradiente de concentración. Los valores característicos de D y δ son $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $2 \times 10^{-3} \text{ cm}$. (La constante 25.8 incluye un factor de 60 (s/min) para hacer que k sea compatible con las unidades de t en la ecuación para I_t .) Cuando el potencial inicial aplicado es -2.5 V, se observa que se produce una polarización de concentración, y por tanto una disminución exponencial de la corriente, inmediatamente después de aplicar el potencial. En la figura 24.1a se representa este comportamiento; la curva que se muestra se determinó a partir de la celda en estudio con ayuda de las dos ecuaciones anteriores. Después de 30 minutos, la corriente disminuyó desde los 1.5 A iniciales hasta 0.08 A; durante este tiempo, aproximadamente 96% del cobre se había depositado.

24A.2 Electrólisis a corriente constante

La electrodeposición analítica que se está estudiando, al igual que otras, puede llevarse a cabo si se mantiene constante la corriente en lugar del voltaje aplicado. Para conservar constante la corriente, es necesario aumentar en forma periódica el voltaje aplicado mientras se efectúa la electrólisis.

En la sección anterior se explicó que la polarización de concentración en el cátodo ocasiona una disminución de la corriente. Al inicio, este efecto se puede compensar en parte si se aumenta el potencial aplicado. Las fuerzas electrostáticas pospondrían el inicio de la polarización de concentración aumentando la rapidez a la cual los iones cobre llegan a la superficie del electrodo. Sin embargo, pronto la solución queda tan mermada en iones cobre que la difusión, la atracción electrostática y la agitación no pueden mantener



Simulación: aprenda más acerca de la **electrólisis**.

³Véase J. J. Lingane, *Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., pp. 223-229, Nueva York: Interscience, 1958.

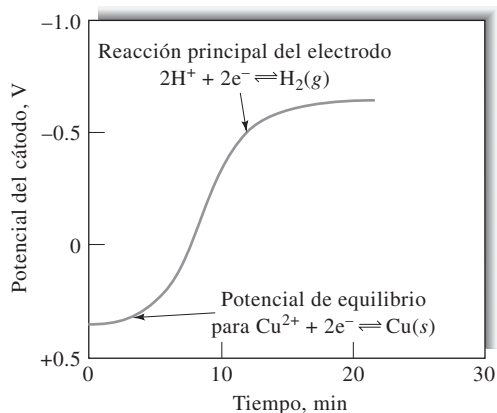


FIGURA 24.2 Cambios en el potencial del cátodo durante el depósito de cobre con una corriente constante de 1.5 A. El potencial del cátodo es igual a $E_r + \eta_{rc}$.

la superficie del electrodo abastecida con suficientes iones cobre para mantener la corriente deseada. Cuando esto ocurre, los incrementos posteriores en E_{apl} causan cambios rápidos en η_{rc} y, por tanto, en el potencial del cátodo; entonces tiene lugar el codepósito de hidrógeno, o de otras especies reducibles. Por último, el potencial del cátodo se estabiliza en un valor establecido por el potencial estándar y el exceso de voltaje de la nueva reacción en el electrodo; además, no son ya necesarios grandes aumentos del potencial de la celda para mantener una corriente constante. El cobre continúa depositándose mientras los iones cobre(II) alcancen la superficie del electrodo. Sin embargo, la contribución de este proceso a la corriente total se hace cada vez más y más pequeña a medida que el depósito se acerca más y más a su término. Pronto predomina otro proceso, tal como la reducción de los iones hidrógeno o nitrato. Los cambios en el potencial del cátodo en condiciones de corriente constante se muestran en la figura 24.2.

24A.3 Electrólisis a potenciales constantes de electrodo de trabajo

De acuerdo con la ecuación de Nernst, se deduce que una disminución de diez veces en la concentración del ion que se está depositando requiere un desplazamiento negativo en el potencial de sólo $0.0592/n$ V. Por tanto, los métodos electroanalíticos son razonablemente selectivos. Por ejemplo, cuando la concentración de cobre de una solución disminuye desde 0.10 M a 10^{-6} M, el potencial termodinámico del cátodo E_r cambia desde un valor inicial de +0.31 hasta +0.16 V. Entonces, en teoría debería ser factible separar el cobre de cualquier otro elemento que no se deposite en este intervalo de

potencial de 0.15 V. Las especies que se depositen cuantitativamente a potenciales más positivos que +0.31 V se podrían eliminar por prerreducción; los iones que necesiten potenciales más negativos que +0.16 V no interferirían en el depósito de cobre. Por tanto, si se está dispuesto a aceptar una reducción en la concentración del analito de hasta 10^{-6} M como una separación cuantitativa, se deduce que, en teoría, los iones divalentes que difieren en sus potenciales estándar en casi 0.15 V o más pueden separarse en forma cuantitativa por electrodeposición, siempre que sus concentraciones iniciales sean casi iguales. En forma correspondiente, los iones monovalentes y trivalentes necesitarán diferencias de alrededor de 0.30 y 0.10 V, respectivamente.

Para abordar estas separaciones teóricas dentro de un periodo de electrólisis razonable, se requiere una técnica más compleja que las empleadas hasta ahora, porque si no se restringiera la polarización de concentración en el cátodo, ésta impediría todas las separaciones salvo las más simples. La variación en el potencial del cátodo está regida por la disminución en la caída de IR (figura 24.1b). Por consiguiente, cuando se aplican al principio corrientes relativamente elevadas, es de esperar que al final el cambio en el potencial del cátodo sea elevado. Por otro lado, si la celda opera a corrientes bajas para que se reduzca la variación en el potencial del cátodo, el tiempo necesario para completar el depósito puede ser excesivamente largo. Una solución directa para este dilema es iniciar la electrólisis aplicando a la celda un potencial que sea lo bastante elevado para asegurar una corriente razonable; luego el potencial disminuye en forma continua para mantener el potencial del cátodo al nivel necesario para efectuar la separación deseada. Por desgracia, no es posible predecir los cambios necesarios en el potencial aplicado de acuerdo con las bases teóricas, debido a las incertidumbres en las variables que afectan la deposición, como los efectos del exceso de voltaje y quizá los cambios en la conductividad. De hecho, tampoco ayuda el medir la diferencia de potencial entre los electrodos, puesto que esta medida sólo proporciona el potencial total de celda, E_{apl} . La opción es medir el potencial del electrodo de trabajo respecto a un tercer electrodo cuyo potencial en la solución es conocido y constante, es decir, un electrodo de referencia. El voltaje aplicado entre el electrodo de trabajo y su contraelectrodo puede ajustarse a un nivel que controle al cátodo (o al ánodo) en el potencial deseado respecto al electrodo de referencia. Esta técnica se denomina *electrólisis a potencial controlado* o, a veces, *electrólisis potencioestática*.

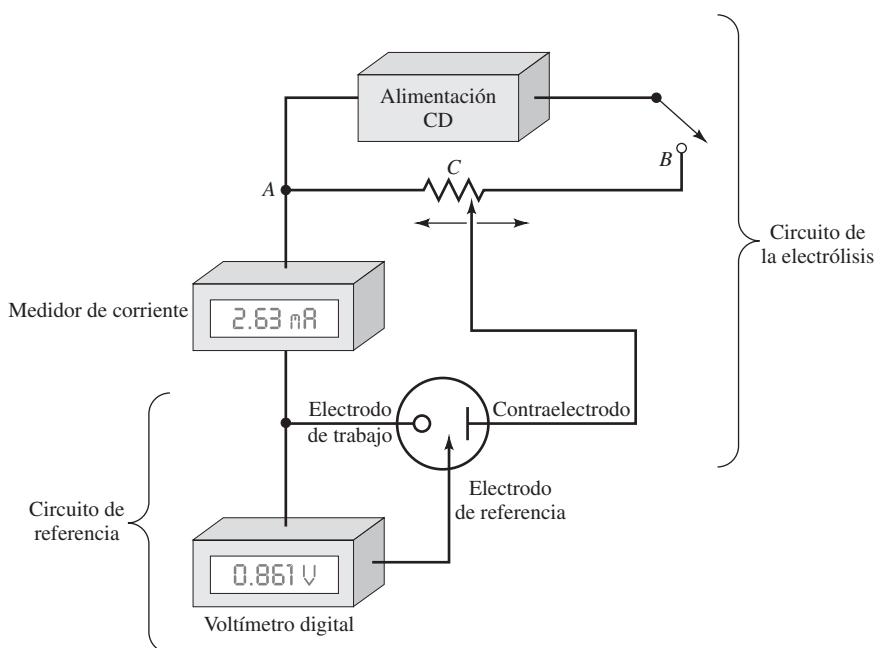


FIGURA 24.3 Aparato para electrólisis a potencial controlado. El voltímetro digital controla el potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia. El voltaje que se aplica entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo se varía al ajustar el contacto C en el potenciómetro para mantener el electrodo de trabajo (el cátodo en este ejemplo) a un potencial constante contra un electrodo de referencia. La corriente en el electrodo de referencia es en esencia cero siempre. Los potenciostatos modernos son totalmente automáticos y con frecuencia son controlados por una computadora. Los símbolos de los electrodos que se muestran (—○ De trabajo, → De referencia, |— Contraelectrodo) son la notación que se acepta en la actualidad.

Los detalles experimentales que permiten llevar a cabo una electrólisis a potencial de cátodo controlado se presentan en la sección 24C.1. Por ahora, es suficiente señalar que la diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y el cátodo se mide con un voltímetro. El voltaje que se aplica entre el electrodo de trabajo y su contraelectrodo se controla con un divisor de voltaje a fin de que el potencial del cátodo se mantenga a un nivel adecuado para la separación. La figura 24.3 es un esquema de un instrumento manual que facilita el depósito a un potencial de cátodo constante.

Un instrumento del tipo que se muestra en la figura 24.3 funciona a potenciales aplicados iniciales relativamente elevados para dar corrientes altas. Sin embargo, a medida que la electrólisis avanza, es necesario disminuir el voltaje aplicado a través de AC. Esta disminución reduce a su vez la corriente. La finalización de la electrólisis se indica por la aproximación de la

corriente a cero. Los cambios que tienen lugar en una electrólisis representativa a potencial de cátodo constante se representan en la figura 24.4. A diferencia de los métodos electrolíticos que se explicaron ya, poner en práctica esta técnica en forma manual exige una atención constante. Por fortuna, el método de electrólisis a potencial constante se puede automatizar de manera fácil. Un potenciostato, tal como el que se muestra en la figura 24.6, es apropiado para el control del potencial del electrodo de trabajo respecto al electrodo de referencia.

24B INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS COULOMBIMÉTRICOS DE ANÁLISIS

La coulombimetría abarca un grupo de métodos analíticos para los que se requiere medir la cantidad de electricidad, en coulombs, necesaria para transformar cuantitativamente el analito en un estado de oxidación diferente. Al igual que los métodos gravimétricos, la coulombimetría ofrece la ventaja de que la constante



Simulación: aprenda más acerca de la **electrólisis**.

de proporcionalidad entre la cantidad medida (carga en coulombs) y la masa de analito se puede calcular a partir de constantes físicas conocidas; por tanto, no se requiere de calibración o estandarización. Los métodos coulombimétricos son a menudo tan exactos como los procedimientos gravimétricos o volumétricos, y son por lo regular más rápidos y más adecuados que estos últimos. Para finalizar, los procedimientos coulombimétricos se pueden volver automáticos con facilidad.⁴

24B.1 Unidades para cantidad de electricidad

La cantidad de electricidad o carga se expresa en coulombs (C). Un coulomb es la cantidad de carga que es transportada en un segundo por una corriente constante de un ampere. Por tanto, para una corriente constante de I amperes durante t segundos, la carga en coulombs Q viene dada por la expresión

$$Q = It \quad (24.3)$$

Para una corriente variable i , la carga se define por la integral

$$Q = \int_0^t i \, dt \quad (24.4)$$

El faraday F es la carga en coulombs de un mol de electrones. La carga del electrón es 1.60218×10^{-19} C, por lo que se puede escribir

$$\begin{aligned} F &= 6.02214 \times 10^{23} \frac{\text{e}^-}{\text{mol e}^-} \times 1.60218 \times 10^{-19} \frac{\text{C}}{\text{e}^-} \\ &= 96\,485 \frac{\text{C}}{\text{mol e}^-} \end{aligned}$$

La ley de Faraday relaciona la cantidad de moles del analito n_A con la carga

$$n_A = \frac{Q}{nF} \quad (24.5)$$

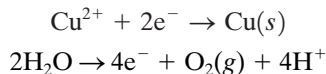
donde n es la cantidad de moles de electrones en la semirreacción del analito. Como se puede ver en el ejemplo 24.1, es posible usar estas definiciones para calcular la masa de una especie química que se forma en un electrodo a causa de una corriente de magnitud conocida.

EJEMPLO 24.1

Se utilizó una corriente constante de 0.800 A para depositar cobre en el cátodo y oxígeno en el ánodo de una celda electrolítica. Calcule los gramos de cada producto que se formaron en 15.2 minutos, suponiendo que no hay otras reacciones redox.

Solución

Las masas equivalentes se determinan a partir de las dos semirreacciones



Por consiguiente, 1 mol de cobre equivale a 2 moles de electrones y 1 mol de oxígeno corresponde a 4 moles de electrones.

De acuerdo con la ecuación 24.3, se tiene

$$\begin{aligned} Q &= 0.800 \text{ A} \times 15.2 \text{ min} \times 60 \text{ s/min} \\ &= 729.6 \text{ A} \cdot \text{s} = 729.6 \text{ C} \end{aligned}$$

Se puede determinar la cantidad de moles de Cu y de O₂ con la ecuación 24.5:

$$\begin{aligned} n_{\text{Cu}} &= \frac{Q}{nF} = \frac{729.6 \text{ C}}{2 \text{ mol e}^-/\text{mol Cu} \times 96\,485 \text{ C/mol e}^-} \\ &= 3.781 \times 10^{-3} \text{ mol Cu} \\ n_{\text{O}_2} &= \frac{Q}{nF} = \frac{729.6 \text{ C}}{4 \text{ mol e}^-/\text{mol O}_2 \times 96\,485 \text{ C/mol e}^-} \\ &= 1.890 \times 10^{-3} \text{ mol O}_2 \end{aligned}$$

Las masas de Cu y O₂ se obtienen de la manera siguiente:

$$\begin{aligned} m_{\text{Cu}} &= n_{\text{Cu}} M_{\text{Cu}} = 3.781 \times 10^{-3} \text{ mol Cu} \times \frac{63.55 \text{ g Cu}}{1 \text{ mol Cu}} \\ &= 0.240 \text{ g Cu} \\ m_{\text{O}_2} &= n_{\text{O}_2} M_{\text{O}_2} = 1.890 \times 10^{-3} \text{ mol O}_2 \times \frac{32.00 \text{ g O}_2}{1 \text{ mol O}_2} \\ &= 0.0605 \text{ g O}_2 \end{aligned}$$

24B.2 Tipos de métodos coulombimétricos

Se utilizan dos técnicas generales en el análisis coulombimétrico: *coulombimetría a potencial controlado* (potenciostática) y la *coulombimetría a corriente controlada* (amperostática). En la primera, el potencial del electrodo de trabajo (electrodo en el que tiene lugar la reacción analítica) se mantiene a un valor constante tal que la oxidación o reducción cuantitativa del analito ocurra sin intervención de las especies menos reactivas.

⁴Si desea más información relacionada con los métodos coulombimétricos, consulte J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, sección 14, pp. 14.118-14.133, Nueva York: McGraw-Hill, 1995; D. J. Curran en *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heinemann, eds., pp. 739-768, Nueva York: Marcel Dekker, 1996; J. A. Plambeck, *Electroanalytical Chemistry*, cap. 12, Nueva York: Wiley, 1982.

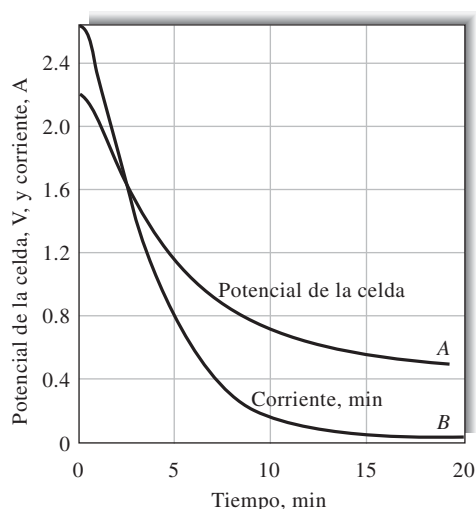


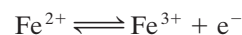
FIGURA 24.4 Cambios en el potencial aplicado y en la corriente durante una electrólisis a potencial de cátodo controlado. Deposición de cobre sobre un cátodo mantenido a -0.36 contra un electrodo de calomel saturado. (Datos experimentales de J. J. Lingane, *Anal. Chem. Acta*, **1948**, 2, p. 590, Con autorización.)

vas de la muestra o del solvente. En este método, la corriente es inicialmente elevada, pero disminuye con rapidez y se aproxima a cero a medida que el analito se elimina de la solución (véase la figura 24.4). La cantidad de carga necesaria se mide casi siempre con un integrador electrónico.

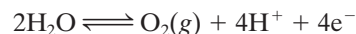
En la coulombimetría a corriente controlada hay una corriente constante, la cual atraviesa una celda hasta que un indicador señala la terminación de la reacción analítica. La cantidad de carga necesaria para alcanzar el punto final se calcula entonces a partir de la magnitud de la corriente y del tiempo que ésta circula. Este método ha encontrado más aplicaciones que la coulombimetría potencioestática. Con frecuencia se le denomina *titulación coulombimétrica* por las razones que se exponen en la sección 24D.

Un requisito fundamental de todos los métodos coulombimétricos es que el analito reaccione con una eficiencia de 100% con la corriente. Este requisito quiere decir que cada faraday de carga eléctrica debe producir un cambio químico que corresponda a $1/n$ moles de analito, donde n es la cantidad de electrones que equivale a un mol de analito. Pero una eficiencia de la corriente de 100% no significa que el analito tenga por fuerza que participar de modo directo en el proceso de transferencia de electrones en el electrodo. En realidad, más veces de las que uno se imagina, el analito

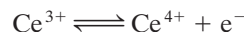
participa por lo menos en parte en una reacción que es secundaria respecto a la reacción del electrodo. Por ejemplo, al inicio de la oxidación del hierro(II) en un ánodo de platino toda la corriente proviene de la reacción



Sin embargo, a medida que disminuye la concentración de hierro(II), la polarización de concentración hace que el potencial del ánodo aumente hasta que la descomposición del agua ocurre como un proceso competitivo. Es decir,



La carga requerida para oxidar por completo el hierro (II) de la solución excedería entonces la demandada en teoría. Para evitar el error, se introduce un exceso no medido de cerio(III) al principio de la electrólisis. Este ion se oxida a un potencial anódico menor que el agua:



El cerio(IV) producido se difunde rápidamente desde la superficie del electrodo, donde entonces oxida una cantidad equivalente de hierro(II):



El efecto neto es una oxidación electroquímica del hierro(II) con una eficacia de la corriente de 100% a pesar de que sólo una fracción de los iones hierro(II) se oxidan directamente en la superficie del electrodo.

La determinación coulombimétrica de cloruro es otro ejemplo de un proceso indirecto. En este caso, un electrodo de plata sirve de ánodo y los iones plata son producidos por la corriente. Estos cationes se difunden en la solución y precipitan con el cloruro. Se alcanza una eficiencia de la corriente de 100% respecto al ion cloruro aun cuando este ion ni se oxida ni se reduce en la celda.

24C COULOMBIMETRÍA A POTENCIAL CONTROLADO

En la *coulombimetría a potencial controlado*, el potencial del electrodo de trabajo se mantiene en un valor constante tal que hace que el analito conduzca carga en la interfase electrodo-solución. La carga que se requiere para convertir el analito en su producto de reacción se determina entonces mediante la integración de la curva corriente contra tiempo durante la electrólisis. Un análisis de este tipo posee todas las ventajas de un método electrogravimétrico y no es necesario pesar un producto. Por tanto, esta técnica se puede aplicar a sistemas que den depósitos con propiedades físicas deficientes así como a reacciones que no den productos



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **coulombimetría**.

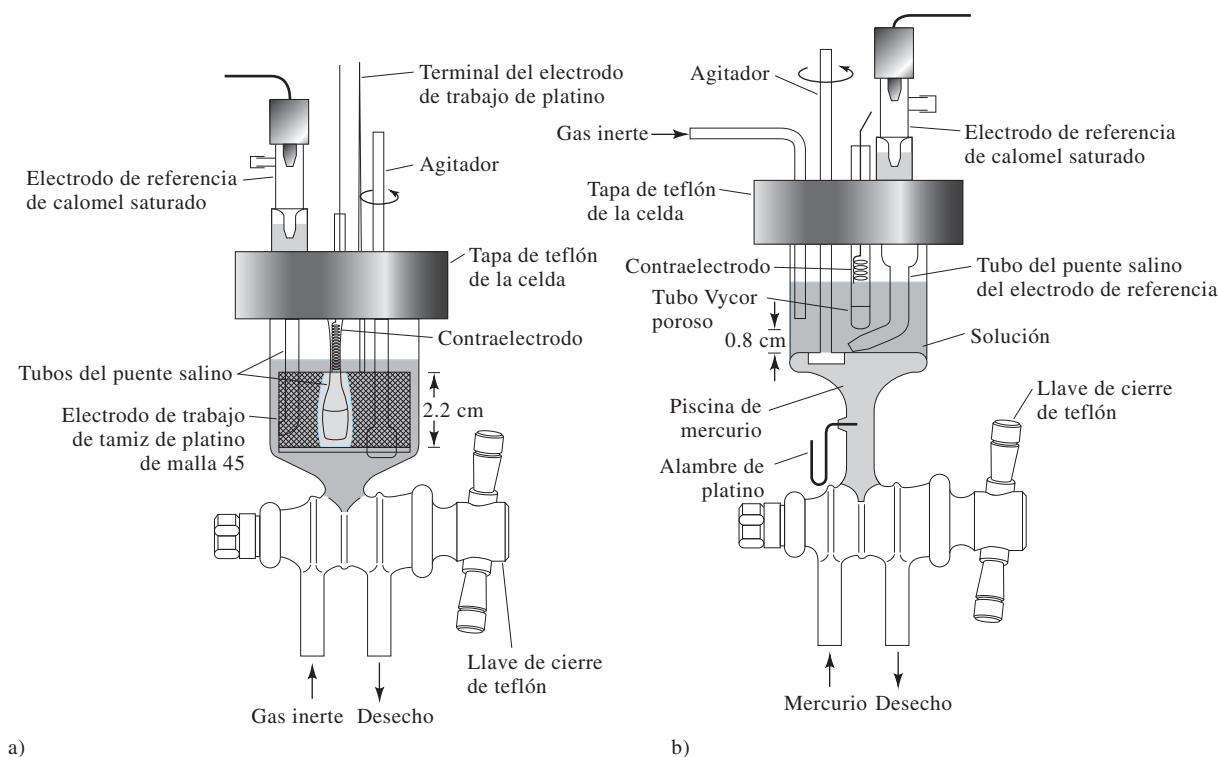


FIGURA 24.5 Celdas de electrólisis para coulombimetría potencioestática. Electrodo de trabajo: a) tamiz de platino; b) piscina de mercurio. (Reproducido con permiso de J. E. Harrar y C. L. Pomernacki, *Anal. Chem.*, **1973**, 45, p. 57. Copyright 1973 American Chemical Society.)

sólidos. Por ejemplo, el arsénico puede determinarse mediante coulombimetría por oxidación electrolítica del ácido arsenioso (H_3AsO_3) a ácido arsénico (H_3AsO_4) en un ánodo de platino. De manera similar, la conversión analítica del hierro(II) en hierro(III) se puede lograr con el control adecuado del potencial del ánodo.

24C.1 Instrumentos

Los instrumentos que se utilizan en la coulombimetría potencioestática son una celda de electrólisis, un potencioestato (véase la sección 3D.1) y un integrador electrónico para determinar la carga consumida.

Celdas

En la figura 24.5 se ilustran dos tipos de celdas que se utilizan en la coulombimetría potencioestática. La primera consta de un electrodo de trabajo de tamiz de platino y un contraelectrodo de alambre de platino, que está separado de la solución por analizar mediante un tubo poroso que contiene el mismo electrolito soporte que la solución por analizar (figura 24.5a). A veces es necesario separar el contraelectrodo para evitar que sus productos de reacción interfieran en el análisis.

Un electrodo de referencia de calomel saturado o de Ag-AgCl está en contacto con la solución por analizar mediante un puente salino. A menudo este puente también contiene el mismo electrolito que la solución por analizar.

La segunda clase de celda es del tipo piscina de mercurio. Un cátodo de mercurio es útil en particular para separar elementos fácilmente reducibles como etapa preliminar en un análisis. Por ejemplo, cobre, níquel, cobalto, plata y cadmio se separan con facilidad de iones como aluminio, titanio, metales alcalinos y los fosfatos. Los elementos precipitados se disuelven en el mercurio; tiene lugar poco desprendimiento de hidrógeno aun cuando se aplican potenciales elevados debido a los efectos del elevado exceso de voltaje. Una celda coulombimétrica, como la que se muestra en la figura 24.5b, es también útil para la determinación coulombimétrica de iones metálicos y ciertos tipos de compuestos orgánicos.

Potencioestatos

Un potencioestato es un dispositivo electrónico que mantiene el potencial de un electrodo de trabajo en un valor constante respecto al electrodo de referencia.

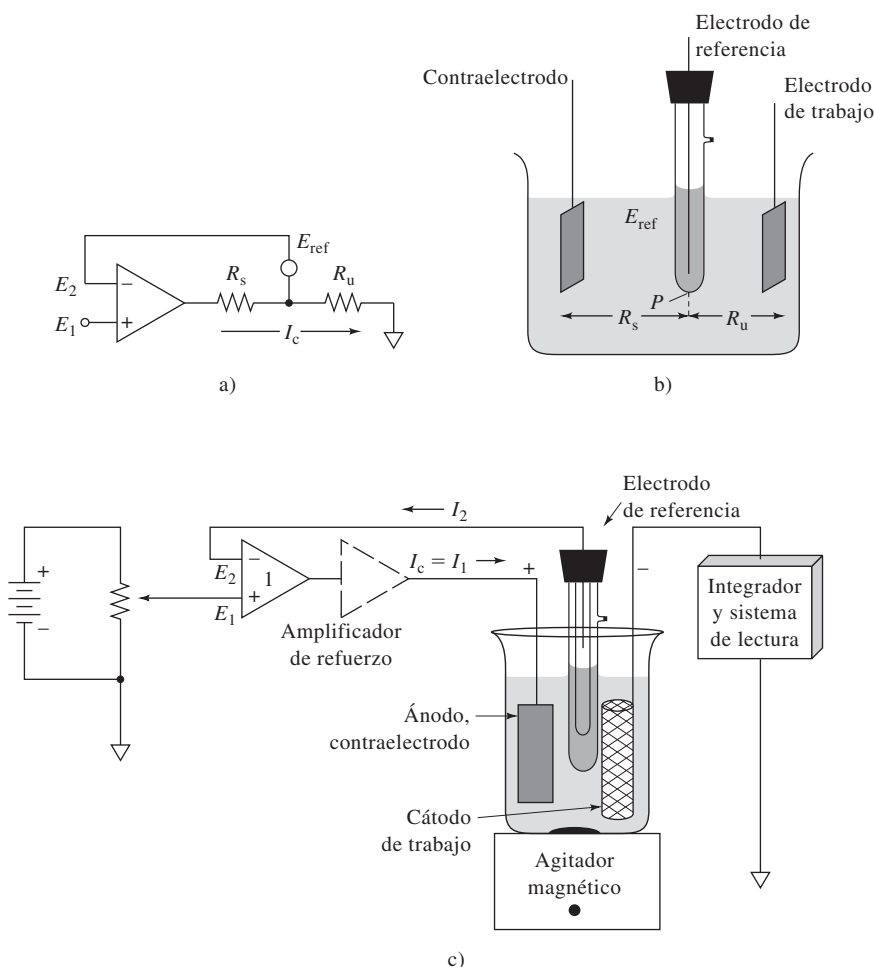


FIGURA 24.6 Esquema de un sistema para coulombimetría a potencial controlado. a) Circuito equivalente. b) Resistencias dentro de la celda. c) Circuito en la práctica. La corriente de la celda I_c pasa al módulo integrador-sistema de lectura, el cual proporciona una cifra proporcional a la cantidad total de carga que pasa por la celda.

Dos de estos dispositivos se muestran en la figura 3.14. En la figura 24.6c hay un esquema de un aparato para coulombimetría a potencial controlado que contiene un tipo algo diferente de potencióstato. Con el objeto de comprender cómo funciona este circuito, considere el circuito equivalente que se observa en la figura 24.6a. Las dos resistencias en este diagrama corresponden a las resistencias en las dos partes de la celda electroquímica que se muestra en la figura 24.6b. En este caso, R_s es la resistencia de la celda entre el contraelectrodo y la punta P del electrodo de referencia, y R_u es la denominada *resistencia no compensada de celda*, que es la resistencia de la celda entre P y el electrodo de trabajo. Debido a la resistencia extremadamente elevada de las entradas del amplificador operacional, no hay corriente en el lazo de realimentación hasta la entrada inversora, pero la diferencia de potencial entre P y la entrada inversora del amplificador operacional es

simplemente el potencial del electrodo de referencia E_{ref} .

Recuerde que en una configuración no inversora, el amplificador operacional trabaja para mantener iguales E_1 y E_2 y que la corriente en la celda I_c es suministrada por el amplificador operacional para mantener esta condición. Si se considera la trayectoria entre la entrada inversora y el circuito común en la salida, se ve que

$$E_2 = E_1 = E_{ref} + I_c R_u = E_{ref} + E_c$$

donde E_c , el potencial del cátodo, es en esencia igual a la diferencia de potencial entre P y el cátodo de trabajo (véase la figura 24.6b). Puesto que E_1 y E_{ref} son constantes, $I_c R_u$ debe ser también constante. Si R_u o R_s cambian en cualquier sentido durante la electrólisis, el voltaje de salida del amplificador operacional cambia de tal manera que mantiene a $E_c = I_c R_u$ en un valor constante. Si R_u aumenta como resultado de un au-

mento de la resistencia de la celda o de la polarización de concentración, el voltaje de salida del amplificador operacional disminuye, lo que causa una disminución en I_c . Si R_u disminuye, el voltaje de salida del amplificador operacional aumenta lo necesario para mantener E_c constante.

El circuito práctico de la figura 24.6c muestra otros componentes que son necesarios en la coulombimetría potencioestática. Entre otros elementos, este circuito posee una fuente de potencial variable conectada a la entrada no inversora del amplificador operacional para que pueda variarse el potencial controlado por el potencioestado, un amplificador de refuerzo para proporcionar las elevadas corrientes que a menudo son necesarias, y un integrador y un sistema de lectura. La presencia del amplificador de refuerzo no tiene efecto sobre el circuito de control del potencial. En el circuito, $I_1 = I_c - I_2$, pero como la corriente polarizada de entrada I_2 del amplificador operacional 1 es insignificante, $I_c \approx I_1$, la cual pasa al integrador y al sistema de lectura.

Integradores

Como se mostró en la sección 3E.3, se pueden construir integradores analógicos a partir de circuitos amplificadores operacionales. Sin embargo, los aparatos más modernos para coulombimetría potencioestática están equipados con integradores digitales para determinar la cantidad de carga necesaria para completar la electrólisis. Un tipo de integrador digital está constituido por un convertidor voltaje-frecuencia conectado a un registrador. La corriente de la celda I_c de la figura 24.6c pasa por un pequeño resistor estándar R en el módulo integrador-sistema de lectura, y el voltaje $I_c R$ pasa por el convertidor voltaje-frecuencia, el cual produce una frecuencia que es proporcional a la corriente instantánea I_c . El número total de ciclos del convertidor voltaje-frecuencia que ocurre durante un experimento es proporcional a la cantidad de carga necesaria para completar la electrólisis. Estos pulsos se cuentan para obtener un número en el sistema de lectura que es proporcional a la carga, la cual a su vez es proporcional a la cantidad de analito.

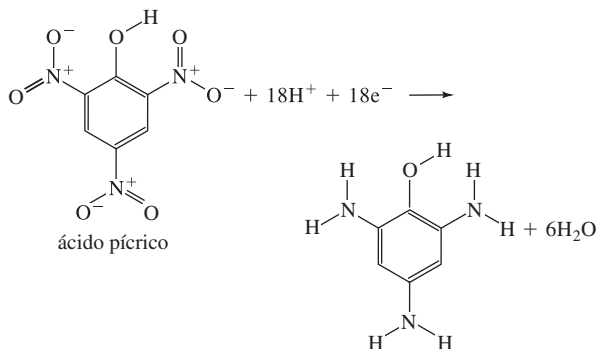
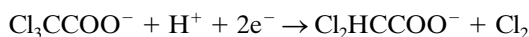
En los instrumentos coulombimétricos computarizados, el voltaje $I_c R$ se transforma en un número mediante un convertidor de señales analógicas en digitales, y los datos resultantes de voltaje contra tiempo se integran mediante cualquiera de los algoritmos de integración digital para llegar a una cantidad que sea proporcional a la carga.⁵

⁵S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 201-206.

24C.2 Aplicaciones

Los métodos coulombimétricos a potencial controlado se han aplicado para determinar más de cincuenta elementos en compuestos inorgánicos.⁶ Desde siempre, el mercurio se ha usado como el material para el electrodo de trabajo y se han descrito métodos para el depósito de más de dos docenas de metales en este electrodo. En los años recientes se han utilizado muchos otros materiales para los electrodos, como el platino y varias formas de carbono. La coulombimetría ha encontrado amplia utilización en el campo de la energía nuclear para la determinación prácticamente sin interferencias de uranio y plutonio. Por ejemplo, la relación entre uranio y oxígeno en el combustible nuclear usado se determinó mediante coulombimetría a potencial controlado con una precisión de desviación estándar relativa de 0.06%.⁷

La coulombimetría potencioestática también ofrece posibilidades para la determinación electrolítica (y la síntesis) de compuestos orgánicos. Por ejemplo, Meites y Meites⁸ han demostrado que el ácido tricloroacético y el ácido pícrico se reducen cuantitativamente en un cátodo de mercurio cuyo potencial se controla de manera apropiada:



Las mediciones coulombimétricas permiten determinar estos compuestos con un error relativo de algunas décimas porcentuales.

La coulombimetría se utiliza para detección en la cromatografía de líquidos (sección 28C.6). Una innovación relativamente reciente es el detector coulombimétrico que está compuesto de un cierto número de pares (cuatro, ocho, doce o dieciséis) de electrodos

⁶Para un resumen de las aplicaciones, véase J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, sección 14, pp. 14.119-14.123, Nueva York: McGraw-Hill, 1995; A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., pp. 427-431, Nueva York: Wiley, 2001.

⁷S. R. Sarkar, K. Une y Y. Tominaga, *J. Radioanal. Nuc. Chem.*, **1997**, 220, p. 155.

⁸T. Meites y L. Meites, *Anal. Chem.*, **1955**, 27, p. 1531; **1956**, 28, p. 103.

miniatura de grafito poroso de gran área superficial instalados en serie en la salida de un cromatógrafo de líquidos.⁹ Los pares de electrodos están conectados a un potencióstato multicanal controlado mediante computadora que mantiene cada uno de los pares a un voltaje distinto, y así se logra selectividad en la detección de especies electroactivas. Las corrientes se supervisan en cada uno de los pares de electrodos con casi 100% de eficiencia y se integran para conseguir detectar hasta 16 especies de modo simultáneo. El programa de computadora que analiza la información proporciona la capacidad de manipular en forma numérica la señal de cada canal. Por ejemplo, si dos compuestos son electroactivos en un canal y sólo uno de ellos se detecta en el otro canal, los dos canales se pueden restar y así obtener una señal proporcional al segundo compuesto. El sistema se ha usado para determinar todos los componentes en mezclas de guanosina, cinurenina, 3-nitro-tirosina, ácido 5-hidroxiindol-3-acético, ácido homovanílico y serotonina con precisiones de 2% a 5% de desviación estándar relativa a concentraciones de 4 ng/mL a 4 µg/mL.¹⁰ El intervalo dinámico de concentraciones accesible para el detector coulombimétrico va desde femtomoles a micromoles en la misma muestra. Estos dispositivos se han usado para detectar una amplia diversidad de compuestos electroactivos importantes en biología y medicina.

24D TITULACIONES COULOMBIMÉTRICAS

En las titulaciones coulombimétricas, una corriente constante genera electrolíticamente un titulante. En algunos análisis, en el proceso de electrodo activo sólo se genera el reactivo.¹¹ Un ejemplo es la titulación de haluros con iones plata producidos en un ánodo de plata. En otras titulaciones, el analito a veces interacciona también directamente con el electrodo generador. Un ejemplo de este tipo de titulación es la oxidación coulombimétrica de hierro(II), en parte por el cerio(IV) generado electrolíticamente y en parte por una reacción de electrodo directa (sección 24B.2). En cualquier caso, el proceso neto debe tener una eficiencia de corriente próxima a 100% respecto a un cambio químico único en el analito.

La corriente en una titulación coulombimétrica se mantiene cuidadosamente en un nivel constante y conocido con toda exactitud mediante un amperostato. El producto de esta corriente en amperes y del tiempo en segundos que se requiere para alcanzar el punto fi-

nal es la cantidad de coulombs, que es proporcional a la cantidad de analito utilizado en la electrólisis. El hecho de mantener la corriente constante en esta operación impide la oxidación o reducción cuantitativa de especies desconocidas en el electrodo generador, porque la polarización de concentración es inevitable antes de que se termine la electrólisis. Entonces, el potencial de electrodo debe aumentar si se ha de mantener la corriente constante (sección 24A.2). A menos que este aumento de potencial produzca un reactivo que sea capaz de reaccionar con el analito, la eficiencia de la corriente será menor que 100%. Entonces, en una valoración coulombimétrica, al menos parte de la reacción en la que interviene el analito (y con frecuencia toda ella), tiene lugar lejos de la superficie del electrodo de trabajo.

Una titulación coulombimétrica, al igual que un procedimiento volumétrico más ordinario, requiere algunos medios para detectar el punto de equivalencia químico. La mayoría de los métodos de detección de puntos finales aplicables al análisis volumétrico son igualmente satisfactorios. La observación visual de los cambios de color de indicadores, así como mediciones potenciométricas, amperométricas y fotométricas han dado resultados satisfactorios.

24D.1 Instrumentos eléctricos

Los tituladores coulombimétricos se pueden adquirir en diversas casas comerciales. Además, pueden montarse con facilidad a partir de componentes que se compran en la mayoría de los laboratorios analíticos. En la figura 24.7 se ilustra un diagrama conceptual de un aparato para titulaciones coulombimétricas en el

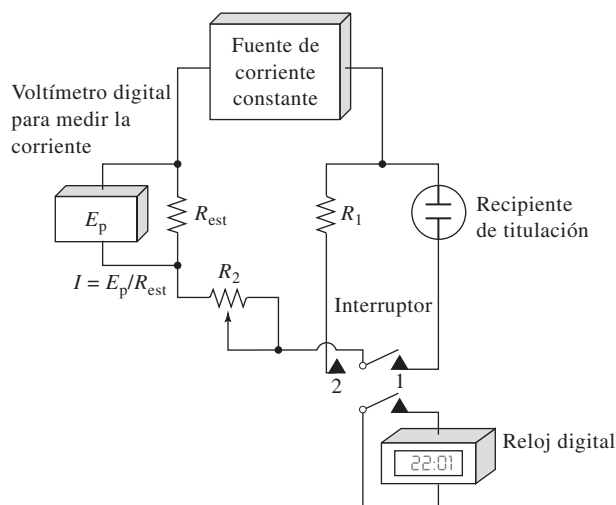


FIGURA 24.7 Esquema de un aparato para titulaciones coulombimétricas manuales. Los tituladores coulombimétricos comerciales son por completo electrónicos, y por lo regular los controla una computadora.

⁹CoulArray® Multi-channel Electrode Array Detector for HPLC, ESA Biosciences, Inc., Chelmsford, MA.

¹⁰J. K. Yoo, P. Cheng, *J. Chromatography B*, **2004**, *810*, p. 93.

¹¹Para más detalles sobre la técnica véase D. J. Curran en *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, eds., pp. 750-768, Nueva York: Marcel Dekker, 1996.

que se pueden apreciar sus componentes principales. Entre ellos están una fuente de corriente constante y un interruptor que conecta en forma simultánea la corriente e inicia un reloj electrónico. También se muestra un medidor para evaluar con exactitud la corriente. En la figura 24.7, la caída de voltaje en el resistor estándar R_{est} se usa para esta medición. En las publicaciones especializadas se describen muchos amperostatos electrónicos. Estos instrumentos se pueden construir con facilidad usando amplificadores operacionales baratos (por ejemplo, véase la figura 3.15).

La figura 24.8 es una fotografía de uno de los diversos tituladores coulombimétricos automatizados que hay en el mercado. La mayoría de estos dispositivos se apoya en un punto final potenciométrico. Algunos de los instrumentos comerciales se utilizan en varias tareas y con ellos se puede determinar una variedad de especies. Otros están diseñados para un solo análisis. Algunos ejemplos de estos últimos son los tituladores de cloruro, en los cuales el ion plata se genera coulombimétricamente; los de dióxido de azufre, en los que el bromo generado en el ánodo oxida el analito y se obtienen iones sulfato; los de dióxido de carbono, en los cuales el gas, absorbido en monoetanolamina, se titula con una base generada coulombimétricamente, y los tituladores de agua en los cuales el reactivo de Karl Fischer¹² es generado mediante electrólisis.

El instrumento en la figura 24.8 está diseñado específicamente para la determinación del agua según Karl Fischer. A menudo, estos dispositivos se conectan a una impresora para tener en papel los resultados y las curvas de titulación. Casi siempre están equipados con una interfase en serie para conectarse a una computadora externa, pero el funcionamiento del instrumento está bajo el control de una computadora interna. El dispositivo que se muestra tiene cinco métodos estándar programados y es capaz de almacenar hasta 50 métodos definidos por el usuario. La precisión de las determinaciones está entre una desviación estándar relativa de 0.5% y 5% para el intervalo de valores de 10 ppm a 100 ppm de agua. Además de la determinación de agua, el dispositivo tiene métodos programados para calcular el llamado *índice de bromo*, el cual es en esencia una medida de la concentración de enlaces dobles, o grado de saturación, en una muestra de una mezcla de compuestos orgánicos, como gasolina. El titulante es bromo generado electrolíticamente.

Celdas para titulaciones coulombimétricas

En la figura 24.9 se muestra una celda característica para titulación coulombimétrica. Consta de un elec-



FIGURA 24.8 Titulador coulombimétrico automatizado. Una computadora interna controla todas las funciones del instrumento y los resultados de las determinaciones aparecen en la pantalla de cristal líquido. (Cortesía de Mettler-Toledo, Inc., Columbus, OH.)

trodo generador en el que se forma el reactivo y un electrodo auxiliar para completar el circuito. El electrodo generador, que debe tener un área superficial relativamente grande, es a menudo una lámina rectangular o un alambre de platino en espiral. También se puede utilizar un electrodo en forma de tamiz como el cátodo que se observa en la figura 24.5a. Los productos que se forman en el segundo electrodo representan con frecuencia fuentes potenciales de interferencia. Por ejemplo, la generación anódica de agentes oxidantes se acompaña con frecuencia del desprendimiento de hidrógeno en el cátodo. A menos que se permita que este gas escape de la solución, es probable que reaccione con el agente oxidante. Para eliminar este tipo de dificultad, el segundo electrodo se aísla mediante un disco sinterizado o algún otro medio poroso. En lugar del aislamiento del electrodo auxiliar se puede usar un dispositivo como el que se muestra en la figura 24.10 en el que el reactivo se genera afuera. El aparato está dispuesto de tal manera que el flujo de electrolito continúa brevemente después de que se interrumpe la corriente, arrastrando así el reactivo residual al recipiente de la titulación. Observe que el aparato que se muestra en la figura 24.10 proporciona iones hidrógeno o hidróxido, lo cual depende de qué brazo se utilice. La celda también se emplea para generar otros reactivos, como yodo producido por la oxidación de yoduro en el ánodo.

¹²D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., sección 20C-5, pp. 580-582, Belmont, CA: Brooks-Cole, 2004.

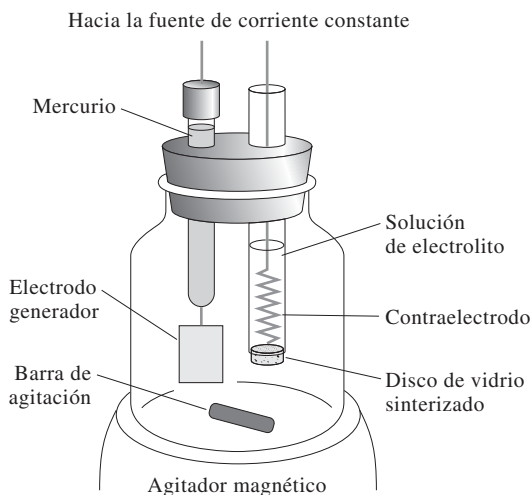


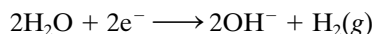
FIGURA 24.9 Celda típica para valoraciones coulombimétricas.

24D.2 Aplicaciones de las titulaciones coulombimétricas

Se han perfeccionado titulaciones coulombimétricas para todos los tipos de reacciones volumétricas.¹³ En los siguientes párrafos se describen algunas aplicaciones seleccionadas.

Titulaciones de neutralización

Tanto los ácidos débiles como los fuertes pueden titularse con un elevado grado de exactitud utilizando iones hidróxido generados en un cátodo mediante la reacción



¹³ Un resumen de las aplicaciones se encuentra en J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, sección 14, pp. 14.127-14.133, Nueva York: McGraw-Hill, 1995.

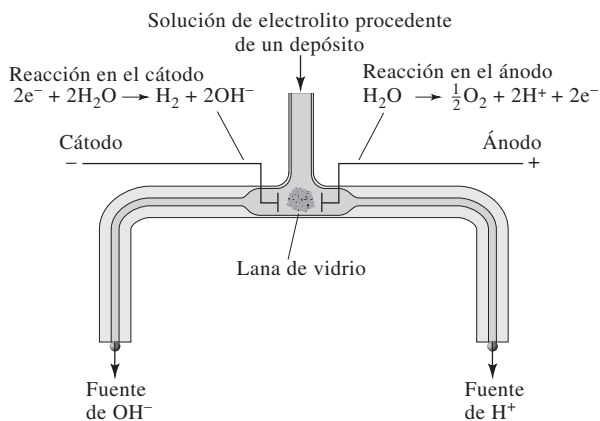
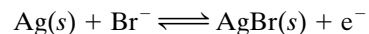
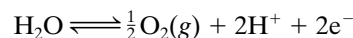


FIGURA 24.10 Celda para la generación externa de ácido y base.

Se pueden utilizar las celdas que se muestran en las figuras 24.9 y 24.10. Una alternativa adecuada es poner un alambre de plata en lugar del ánodo de platino, siempre que se adicionen iones cloruro o bromuro a la solución del analito. La reacción en el ánodo es entonces



El bromuro de plata no interfiere con la reacción de neutralización como lo harían los iones hidrógeno que se forman en la mayoría de los ánodos. Para estas titulaciones pueden utilizarse puntos finales potenciométricos y con indicadores. Los problemas asociados con la estimación del punto de equivalencia son idénticos a los que se presentan en el análisis volumétrico ordinario. Sin embargo, una ventaja real del método coulombimétrico es que la interferencia que causa el ion carbonato es bastante menos conflictiva. Sólo es necesario eliminar el dióxido de carbono de la solución que contiene al analito por aireación con gas libre de dióxido de carbono antes de empezar el análisis. La titulación coulombimétrica de bases fuertes y débiles se lleva a cabo con iones hidrógeno generados en un ánodo de platino.

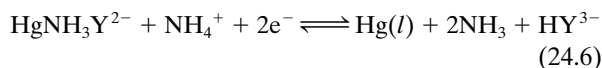


En estos experimentos el cátodo debe aislarse de la solución o el reactivo debe generarse en forma externa para evitar la interferencia por parte de los iones hidróxido que se producen en ese electrodo.

Titulaciones para precipitación y formación de complejos

Se perfeccionó una variedad de titulaciones coulombimétricas que utilizan iones plata generados en el ánodo (véase la tabla 24.1). Puede utilizarse una celda como la que se muestra en la figura 24.9 con un electrodo generador construido a partir de un alambre grueso de plata de cierta longitud. Los puntos finales se detectan potenciométricamente o con indicadores químicos. Se han descrito análisis similares basados en la generación de ion mercurio(I) en un ánodo de mercurio.

Una titulación coulombimétrica interesante es la que usa una solución del complejo aminado de mercurio(II) del ácido etilendiaminotetracético (H_4Y).¹⁴ El agente complejante se libera en la solución como resultado de la siguiente reacción en un cátodo de mercurio:



¹⁴ C. N. Reilly y W. W. Porterfield, *Anal. Chem.*, **1956**, 28, p. 443.

TABLA 24.1 Resumen de titulaciones coulombimétricas que involucran reacciones de neutralización, precipitación y formación de complejos.

Especies determinadas	Reacción en el electrodo generador	Reacción analítica secundaria
Ácidos	$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{OH}^- + \text{H}_2$	$\text{OH}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$
Bases	$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{e}^-$	$\text{H}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$
Cl^- , Br^- , I^-	$\text{Ag} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + \text{e}^-$	$\text{Ag}^+ + \text{X}^- \rightleftharpoons \text{AgX(s)}$
Mercaptanos (RSH)	$\text{Ag} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + \text{e}^-$	$\text{Ag}^+ + \text{RSH} \rightleftharpoons \text{AgSR(s)} + \text{H}^+$
Cl^- , Br^- , I^-	$2\text{Hg} \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+} + 2\text{e}^-$	$\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{X}^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2\text{X}_2(\text{s})$
Zn^{2+}	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	$3\text{Zn}^{2+} + 2\text{K}^+ + 2\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} \rightleftharpoons \text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2(\text{s})$
Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+}	Véase ecuación 24.6	$\text{HY}^{3-} + \text{Ca}^{2+} \rightleftharpoons \text{CaY}^{2-} + \text{H}^+$, etc.

Nota del CE: los mercaptanos son compuestos orgánicos de fórmula general RSH, en los que R representa un grupo alifático o aromático, la S es azufre y la H es hidrógeno.

Debido a que el quelato de mercurio es más estable que los complejos correspondientes con calcio, cinc, plomo o cobre, la complejación de estos iones no tendrá lugar hasta que el proceso en el electrodo libere el ligando.

Titulación coulombimétrica de cloruro en fluidos corporales

El método de referencia aceptado para determinar cloruro en suero sanguíneo, plasma, orina, sudor y otros fluidos corporales es el procedimiento de titulación coulombimétrica.¹⁵ En esta técnica los iones plata se generan coulombimétricamente. Los iones plata reaccionan con los iones cloruro para formar cloruro de plata insoluble. Por lo regular, el punto final se detecta por amperometría (véase sección 25C.4) cuando un ligero exceso de Ag⁺ produce un incremento repentino en la corriente. En principio, la cantidad absoluta de Ag⁺ necesaria para reaccionar cuantitativamente con Cl⁻ se puede obtener a partir de la aplicación de la ley de Faraday. En la práctica se usa la calibración. Primero se mide el tiempo *t*_s que se requiere para titular una solución patrón de cloruro con una cantidad conocida de moles de cloruro usando una corriente constante *I*. Luego la misma corriente constante se utiliza en la titulación de la solución desconocida y se mide el tiempo *t*_u. La cantidad de moles de cloruro en la sustancia en estudio se obtiene como sigue:

$$(n_{\text{Cl}^-})_{\text{u}} = \frac{t_{\text{u}}}{t_{\text{s}}} \times (n_{\text{Cl}^-})_{\text{s}}$$

Si los volúmenes de la solución patrón y de la solución desconocida son iguales, se pueden poner concentra-

ciones en lugar de moles en esta ecuación. En la figura 24.11 se muestra un titulador coulombimétrico de uso comercial para medir cloro.

Otros métodos comunes para determinar el cloruro son los electrodos selectivos de iones (véase sección 23D), las titulaciones fotométricas (véase sección 14E) y la espectrometría de masas de dilución de isótopos.

Titulaciones oxidación-reducción

En la tabla 24.2 se indica la variedad de reactivos que pueden generarse coulombimétricamente y los análisis en los que se han empleado. Entre los agentes oxidantes, el bromo electrogenerado es particularmente útil y es la base de una multitud de métodos. Son tam-



FIGURA 24.11 Medidor de cloro digital comercial. Este titulador coulombimétrico está diseñado para determinar el ion cloruro en muestras clínicas como suero, orina y sudor. Se utiliza en el diagnóstico de fibrosis quística. El medidor también se usa en laboratorios ambientales. (Cortesía de Labconco Corp., Kansas City, MO.)

¹⁵C. A. Burtis y E. R. Ashwood, *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 5a. ed., p. 500, Philadelphia: Saunders, 2001; L. A. Kaplan y A. J. Pesce, *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, p. 1060, St. Louis, MO: C. V. Mosby, 1984.

TABLA 24.2 Resumen de las titulaciones coulombimétricas en las que hay reacciones de oxidación y reducción.

Reactivo	Reacción en el electrodo generador	Sustancias por determinar
Br ₂	$2\text{Br}^- \rightleftharpoons \text{Br}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), Sb(III), U(IV), Ti(I), I ⁻ , SCN ⁻ , NH ₃ , N ₂ H ₄ , NH ₂ OH, fenol, anilina, gas mostaza, mercaptanos, 8-hidroxiquinolina, oleínas
Cl ₂	$2\text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{Cl}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), I ⁻ , estireno, ácidos grasos
I ₂	$2\text{I}^- \rightleftharpoons \text{I}_2 + 2\text{e}^-$	As(III), Sb(III), S ₂ O ₃ ²⁻ , H ₂ S, ácido ascórbico
Ce ⁴⁺	$\text{Ce}^{3+} \rightleftharpoons \text{Ce}^{4+} + \text{e}^-$	Fe(II), Ti(III), U(IV), As(III), I ⁻ , Fe(CN) ₆ ⁴⁻
Mn ³⁺	$\text{Mn}^{2+} \rightleftharpoons \text{Mn}^{3+} + \text{e}^-$	H ₂ C ₂ O ₄ , Fe(II), As(III)
Ag ²⁺	$\text{Ag}^+ \rightleftharpoons \text{Ag}^{2+} + \text{e}^-$	Ce(III), V(IV), H ₂ C ₂ O ₄ , As(III)
Fe ²⁺	$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	Cr(VI), Mn(VII), V(V), Ce(IV)
Ti ³⁺	$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	Fe(III), V(V), Ce(IV), U(VI)
CuCl ₃ ²⁻	$\text{Cu}^{2+} + 3\text{Cl}^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{CuCl}_3^{2-}$	V(V), Cr(VI), IO ₃ ⁻
U ⁴⁺	$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	Cr(VI), Ce(IV)

bién de interés algunos reactivos poco corrientes que no se utilizan normalmente en análisis volumétricos debido a la inestabilidad de sus soluciones. Entre éstos están el ion plata con dos cargas positivas, el manganeso de tres cargas positivas y el complejo de cloruro con cobre monovalente.

Una interesante aplicación reciente de las titulaciones coulombimétricas es la determinación de la capacidad total antioxidante en el suero humano.¹⁶ Muchos antioxidantes aparecen en el suero: compuestos de bajo peso molecular, como los tocoferoles, ascorbato, carotenos beta, glutatión, ácido úrico y bilirrubina, y proteínas como albúmina, transferrina, ceruloplasmina, ferritina, dismutasa de superóxido, catalasa y peroxidasa de glutatión. Con mucho, el más grande contribuyente a la capacidad antioxidante total es la albúmina sérica. La titulación coulombimétrica de muestras de suero con bromo electrogenerado da un valor de la capacidad antioxidante, la cual a veces es una variable clínica importante en la evaluación del estado de pacientes sometidos a hemodiálisis. Este método para determinar la capacidad antioxidante es directo y muy preciso (desviación estándar relativa de ± 0.04 por ciento).

Comparación de las titulaciones coulombimétricas y volumétricas

Es interesante señalar varias analogías entre los métodos de titulación coulombimétricos y volumétricos. Ambos requieren un punto final observable, por lo que están sujetos a errores de titulación. Además, en ambas técnicas la cantidad de analito se determina al

evaluar su capacidad de combinación, en un caso, con una solución patrón, y en el otro, con los electrones. Las reacciones también deben cumplir requisitos similares, es decir, deben ser rápidas, esencialmente completas y libres de reacciones secundarias. Por último, existe una estrecha analogía entre los diversos componentes del instrumento que se muestra en la figura 24.7 y los aparatos y soluciones que se emplean en un análisis volumétrico ordinario. La fuente de corriente constante de magnitud conocida tiene la misma función que la solución patrón en un método volumétrico. El reloj y el interruptor se corresponden exactamente con la bureta, el interruptor desempeña la misma función que la llave de cierre. Durante las primeras etapas de una titulación coulombimétrica, el interruptor se mantiene cerrado durante periodos largos. Sin embargo, cuando se aproxima el punto final, se llevan a cabo pequeñas adiciones del “reactivo” cerrando el interruptor durante intervalos cada vez más cortos. La similitud con la manera de utilizar una bureta es obvia.

Se puede afirmar que las valoraciones coulombimétricas presentan ventajas importantes en comparación con los procesos volumétricos clásicos. La más importante de dichas ventajas es la eliminación de los problemas relacionados con la preparación, estandarización y almacenamiento de las soluciones patrón. Esta ventaja es muy importante con reactivos lábiles, como el cloro, bromo o el ion titanio(III). Debido a su inestabilidad, estas especies son inadecuadas como reactivos volumétricos. Su uso en análisis coulombimétricos es directo porque reaccionan con el analito inmediatamente después de ser generados.

Cuando se requieren pequeñas cantidades de reactivo, una titulación coulombimétrica ofrece una con-

¹⁶G. K. Ziyatdinova, H. C. Budnikov, V. I. Pogorel'tzev y T. S. Ganeev, *Talanta*, **2006**, 68, p. 800.

siderable ventaja. Si se elige la corriente adecuada, se pueden introducir microcantidades de una sustancia con facilidad y exactitud. El proceso volumétrico equivalente requiere la entrega de pequeños volúmenes de soluciones muy diluidas, un recurso siempre difícil.

Se puede utilizar una fuente de corriente constante simple para generar reactivos de precipitación, de formación de complejos, de oxidorreducción o de neutralización. Además el método coulombimétrico se adapta con facilidad a las titulaciones automáticas, porque el control de la corriente se consigue con facilidad.

Las titulaciones coulombimétricas están sujetas a cinco posibles fuentes de error: 1) variación de la corriente durante la electrólisis, 2) el proceso se desvía de la eficiencia de corriente de 100%, 3) error al medir la corriente, 4) error al medir el tiempo y 5) error de titulación debido a la diferencia entre el punto de equivalencia y el punto final. La última de estas limitaciones es común también en los métodos volumétricos. En el caso de situaciones en las cuales el error del indicador es el factor limitante, es probable que los dos métodos tengan una exactitud similar.

Por medio de instrumentos sencillos se alcanzan fácilmente corrientes constantes con un error relativo de 0.2%; a través de aparatos algo más complejos la corriente se puede llegar a controlar a 0.01%. Por tanto, en general, los errores debidos a fluctuaciones en la corriente rara vez son de importancia.

Es difícil hacer generalizaciones respecto a la magnitud de la incertidumbre asociada con el proceso en el electrodo, pero aparecen a menudo en la bibliografía especializadas eficiencias de la corriente de 99.5% y hasta superiores a 99.9%. Las corrientes se miden fácilmente hasta un $\pm 0.1\%$ de error relativo.

Entonces, para resumir, las mediciones corriente-tiempo que se requieren para una titulación coulombimétrica son inherentemente tanto o más exactas que las medidas similares de volumen-molaridad en un análisis volumétrico clásico, en particular cuando se usan pequeñas cantidades de reactivo. A menudo, la exactitud de una titulación no está limitada por estas medidas, sino por la sensibilidad del punto final; respecto a esto, los dos procedimientos son equivalentes.

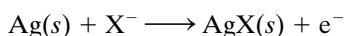
PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- ***24.1** El plomo se deposita en el cátodo a partir de una solución 0.100 M en Pb^{2+} y 0.200 M en HClO_4 . Se desprende oxígeno a una presión de 0.800 atm en el ánodo de platino de 30 cm^2 . La celda tiene una resistencia de 0.950 Ω . *a)* Calcule el potencial termodinámico de la celda. *b)* Calcule la caída de IR si se utiliza una corriente de 0.250 A.
- ***24.2** Calcule la diferencia mínima en los potenciales estándar de electrodo necesaria para disminuir la concentración del metal M_1 hasta 2.00×10^{-4} M en una solución 1.00×10^{-1} M del metal menos reducible M_2 donde *a)* M_2 es monovalente y M_1 es divalente, *b)* M_2 y M_1 son divalentes, *c)* M_2 es trivalente y M_1 es monovalente, *d)* M_2 es divalente y M_1 es monovalente, *e)* M_2 es divalente y M_1 es trivalente.
- 24.3** Se desea separar y determinar bismuto, cobre y plata en una solución que es 0.0550 M en BiO^+ , 0.125 M en Cu^{2+} , 0.0962 M en Ag^+ y 0.500 M en HClO_4 . *a)* Use 1.00×10^{-6} M como criterio de separación cuantitativa y determine si la separación de las tres especies es posible mediante electrólisis a potencial del cátodo controlado. *b)* Si algunas separaciones son posibles, evalúe el intervalo (contra Ag-AgCl) dentro del que se debe controlar el potencial del cátodo para el depósito de cada una.
- 24.4** Los iones haluro se pueden depositar en un ánodo de plata cuya reacción es



Suponga que la celda se formó al sumergir un ánodo de plata en una solución del analito que era 0.0250 M en iones Cl^- , Br^- y I^- y al conectar la semicelda a un cátodo de calomel saturado por medio de un puente salino.

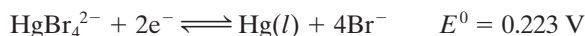
- ¿Qué haluro se formaría primero y a qué potencial? ¿La celda es galvánica o electrolítica?
- ¿Pueden el I^- y el Br^- separarse cuantitativamente? (Tome 1.00×10^{-5} M como criterio para la separación cuantitativa de un ion.) Si la separación es posible, ¿qué intervalo de potenciales de celda podría utilizarse?
- Repita el inciso b) para I^- y Cl^- .
- Repita el inciso b) para Br^- y Cl^- .

***24.5** ¿Qué potencial de cátodo (contra electrodo de calomel saturado) se necesitaría para disminuir la concentración total de Hg(II) de las siguientes soluciones hasta 1.00×10^{-6} M (suponga que el producto de reacción es Hg elemental en cada uno de los casos)?:

- una solución acuosa de Hg^{2+} .
- una solución con una concentración de SCN^- en el equilibrio de 0.150 M.



- una solución con una concentración de Br^- en el equilibrio de 0.150 M.

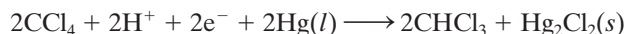


***24.6** Calcule el tiempo que se requiere aplicar una corriente constante de 0.750 A para depositar 0.270 g de a) Co(II) como el elemento sobre un cátodo y b) como Co_3O_4 sobre un ánodo. Suponga una eficiencia de 100% en la corriente en ambos casos.

***24.7** Calcule el tiempo que se requiere aplicar una corriente constante de 0.905 A para depositar 0.300 g de a) Tl(III) como el elemento sobre un cátodo, b) Tl(I) como Tl_2O_3 sobre un ánodo y c) Tl(I) como el elemento en un cátodo.



24.8 A un potencial de -1.0 V (contra electrodo de calomel saturado), el tetracloruro de carbono en metanol se redujo a cloroformo en un cátodo de Hg:



A -1.80 V, el cloroformo reacciona además para dar metano:

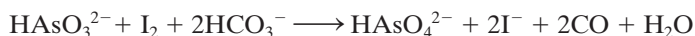


Varias muestras de 0.750 g que contenían CCl_4 , CHCl_3 , y especies orgánicas inertes se disolvieron en metanol y se electrolizaron a -1.0 V hasta que la corriente se aproximó a cero. Un coulombímetro indicó la carga requerida para completar la reacción, como se puede ver en la segunda columna de la tabla que sigue. El potencial del cátodo se ajustó luego a -1.80 V. La carga adicional que se requirió para terminar la reacción a este potencial se presenta en la tercera columna de la tabla. Calcule el porcentaje de CCl_4 y CHCl_3 en cada mezcla.

Muestra núm.	Carga necesaria a -1.0 V, C	Carga necesaria a -1.8 V, C
1	11.63	68.60
2	21.52	85.33
3	6.22	45.98
4	12.92	55.31

***24.9** Una muestra de 6.39 g de una preparación para el control de hormigas se descompuso por calcinación húmeda con H_2SO_4 y HNO_3 . El arsénico del residuo

se redujo al estado trivalente con hidracina. Después de eliminar el exceso de agente reductor, el arsénico(III) se oxidó con I_2 generado electrolíticamente *en un medio ligeramente alcalino*:



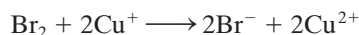
La titulación se completó después de que hubo pasado una corriente constante de 127.6 mA durante 11 minutos y 54 s. Exprese los resultados de este análisis en términos del porcentaje de As_2O_3 en la muestra original.

- *24.10** Una muestra de 0.0809 g de un ácido orgánico purificado se disolvió en una mezcla de alcohol y agua, y se tituló con iones hidróxido generados coulombimétricamente. Con una corriente de 0.0441 A, se necesitaron 266 s para alcanzar el punto final con fenolftaleína. Calcule la masa equivalente del ácido.

- *24.11** Se pueden determinar trazas de anilina por reacción con un exceso de Br_2 generado electrolíticamente:



Se invirtió entonces la polaridad del electrodo de trabajo y el exceso de bromo se determinó mediante una titulación coulombimétrica que involucraba la generación de $Cu(I)$:



Se añadieron cantidades apropiadas de KBr y sulfato de cobre(II) a una muestra de 25.0 mL que contenía anilina. Calcule la masa en microgramos de $C_6H_5NH_2$ en la muestra a partir de los siguientes datos:

Electrodo de trabajo que funciona como	Tiempo de generación (min) con una corriente constante de 1.00 mA
Ánodo	3.76
Cátodo	0.270

-  **24.12** Trace una curva de titulación coulombimétrica de 100.0 mL de una solución de 1M H_2SO_4 que contiene $Fe(II)$ titulado con $Ce(IV)$ generado a partir de $Ce(III)$ 0.075 M. La titulación se supervisa mediante potenciometría. La cantidad inicial de $Fe(II)$ presente es de 0.05182 mmol. Se aplica una corriente constante de 20.0 mA. Determine el tiempo que corresponde al punto de equivalencia. Luego, para casi 10 valores de tiempo antes del punto de equivalencia, aplique la estequiometría de la reacción para calcular la cantidad de Fe^{3+} producido y la cantidad de Fe^{2+} que queda. Mediante la ecuación de Nernst calcule el potencial del sistema. Calcule también el potencial del punto de equivalencia de la manera en que se acostumbra en una titulación redox. Para alrededor de 10 tiempos antes del punto de equivalencia determine la cantidad de Ce^{4+} producido con electrólisis y la cantidad de Ce^{3+} restante. Grafique la curva del potencial del sistema contra tiempo de electrólisis.

 Problema de reto

- 24.13** El ion sulfuro (S^{2-}) se forma en las aguas negras gracias a la acción de las bacterias anaerobias sobre la materia orgánica. El sulfuro se puede protonar rápidamente para formar H_2S tóxico y volátil. Además de su toxicidad y su olor desagradable, el sulfuro y el H_2S ocasionan problemas de corrosión porque se transforman con facilidad en ácido sulfúrico cuando las condiciones se vuelven

aerobias. Un método común para determinar el sulfuro es mediante la titulación coulombimétrica con ion plata generado. En el electrodo generador, la reacción es $\text{Ag} \rightarrow \text{Ag}^+ + \text{e}^-$. La reacción de titulación es $\text{S}^{2-} + 2\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}_2\text{S}(s)$.

- Se usó un medidor de cloruro digital para determinar la masa de sulfuro en una muestra de aguas negras. La lectura del medidor es directamente en ng de Cl^- . En las determinaciones de cloruro se usa la misma reacción del generador, pero la reacción de titulación es $\text{Cl}^- + \text{Ag}^+ \rightarrow \text{AgCl}(s)$. Deduzca una ecuación que relacione la cantidad deseada, masa de S^{2-} (ng), con la lectura del medidor de cloruro en masa de Cl^- (ng).
- La lectura de un patrón de aguas negras particular fue de 1689.6 ng Cl^- . ¿Qué carga total en coulombs se requeriría para generar la Ag^+ necesaria para precipitar el sulfuro que hay en este patrón?
- Los resultados siguientes se obtuvieron en muestras de 20.00 mL que contenían cantidades conocidas de sulfuro.¹⁷ Cada patrón se analizó por triplicado y se registró la masa de cloruro. Convierta cada uno de los resultados del cloruro en masa de S^{2-} (ng).

Masa conocida de S^{2-} , ng	Masa de Cl^- determinada, ng		
6365	10 447.0	10 918.1	10 654.9
4773	8416.9	8366.0	8416.9
3580	6528.3	6320.4	6638.9
1989	3779.4	3763.9	3936.4
796	1682.9	1713.9	1669.7
699	1127.9	1180.9	1174.3
466	705.5	736.4	707.7
373	506.4	521.9	508.6
233	278.6	278.6	247.7
0	-22.1	-19.9	-17.7

- Determine la masa promedio de S^{2-} (ng), la desviación estándar y la desviación estándar relativa porcentual de cada uno de los patrones.
- Elabore una gráfica de la masa promedio de S^{2-} determinado (ng) contra la masa real (ng). Calcule la pendiente, la intersección con el eje de las y, el error estándar y el valor de R^2 . Comente sobre el ajuste de los datos a un modelo lineal.
- Determine el límite de detección (ng) y en partes por millón con un factor k de 2 (véase la ecuación 1.12).
- Una muestra de aguas negras desconocida dio una lectura promedio de 893.2 ng de Cl^- . ¿Cuál es la masa del sulfuro (ng)? Si 20.00 mL de la muestra de aguas negras se introdujo en un recipiente para titulación, ¿cuál es la concentración de S^{2-} en partes por millón?

¹⁷D. T. Pierce, M. S. Applebee, C. Lacher y J. Bessie, *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, 32, p. 1734.

Voltametría

La *voltametría* abarca un grupo de métodos electroanalíticos en los que la información sobre el analito se deduce de la medición de la corriente en función del potencial aplicado, en condiciones que favorezcan la polarización de un electrodo indicador o de trabajo. Cuando la corriente proporcional a la concentración del analito se controla a un potencial fijo, la técnica se denomina **amperometría**. En general, con el objetivo de aumentar la polarización, los electrodos de trabajo en voltametría y amperometría tienen áreas superficiales de unos pocos milímetros cuadrados cuando mucho y, en algunas aplicaciones, unos pocos micrómetros cuadrados o incluso menos.

Para empezar se señalan a continuación las diferencias básicas entre la voltametría y los dos tipos de métodos electroquímicos que se trataron en capítulos anteriores. La voltametría se basa en la medición de la corriente que se desarrolla en una celda electroquímica en condiciones de polarización de concentración. Recuerde que, de acuerdo con la sección 22E.2, un electrodo polarizado es aquel al que se le ha aplicado un voltaje superior al pronosticado por la ecuación de Nernst para hacer que haya oxidación o reducción. En cambio, las mediciones potenciométricas se hacen con valores de corriente que se aproximan a cero y en ausencia de polarización. La voltametría difiere de la coulombimetría en que, en esta última, se toman medidas para minimizar o compensar los efectos de la polarización de concentración. Además, en la voltametría tiene lugar un consumo mínimo de analito, mientras que en la coulombimetría prácticamente todo el analito pasa a otro estado.

Químicos especializados en química orgánica, física y biología usan ampliamente la voltametría con fines no analíticos, como estudios fundamentales de los procesos de oxidación y reducción en diferentes medios, procesos de adsorción sobre superficies y mecanismos de transferencia de electrones en superficies de electrodos químicamente modificados.

En el pasado, el campo de la voltametría evolucionó a partir de la *polarografía*, que es un tipo particular de voltametría que fue inventado por el químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky a principios de los años veinte.¹ La polarografía difiere de otros tipos de voltametría en que el electrodo de trabajo es el sin par *electrodo de goteo de mercurio* (DME, por sus siglas en inglés). Hubo un tiempo en que la polarografía era una herramienta importante que utilizaban los químicos para identificar iones inorgánicos y algunas especies orgánicas en soluciones acuosas. Sin embargo, a finales de los años cincuenta y principios de los sesenta, muchas de estas aplicaciones analíticas fueron sustituidas por diversos métodos espectroscópicos y la polarografía dejó de ser un método importante de análisis, excepto para algunas aplicaciones especiales, como la determinación del oxígeno molecular en soluciones. A mediados de los años sesenta se desarrollaron diversas modificaciones importantes de las técnicas voltamétricas clásicas que aumentaron de manera significativa la sensibilidad y la selectividad del método. Al mismo tiempo, el surgimiento de los amplificadores operacionales de bajo costo facilitó el desarrollo comercial de instrumentos relativamente baratos que in-



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

¹J. Heyrovsky, *Chem. Listy*, **1922**, 16, p. 256. Heyrovsky fue galardonado con el Premio Nobel en Química en 1959 por el descubrimiento y desarrollo de la polarografía.

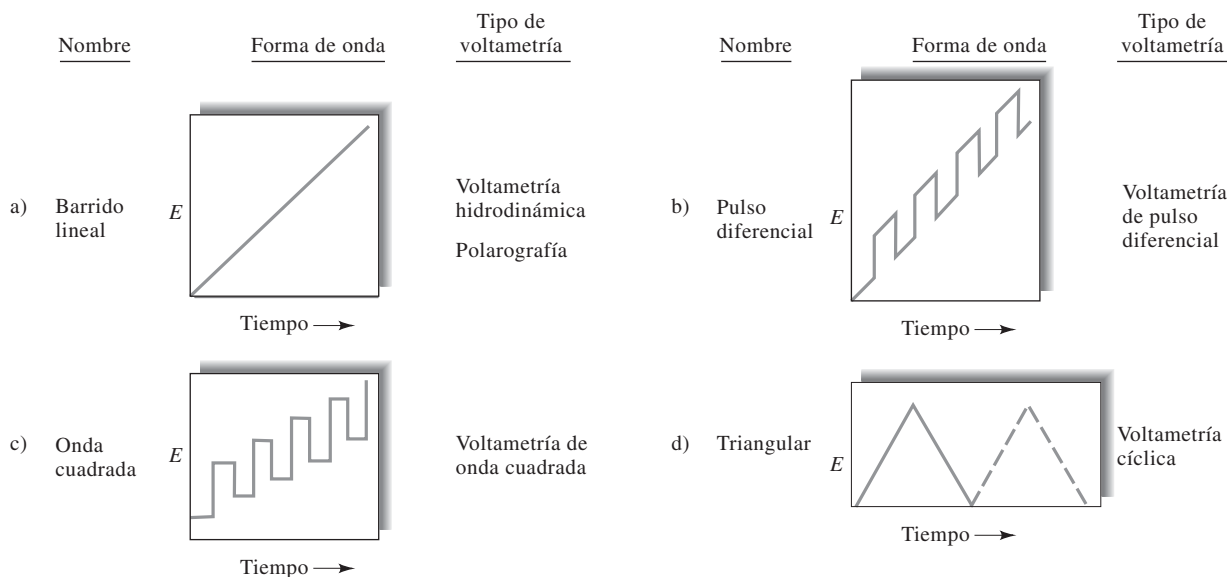


FIGURA 25.1 Señales de voltaje contra excitación en el tiempo que se utilizan en voltametría.

corporaban muchas de estas modificaciones y los hacían asequibles para todos los químicos. El resultado fue el resurgimiento del interés en los métodos polarográficos para la determinación de una multitud de especies, en particular de aquellas de interés farmacéutico, ambiental y biológico.² Desde la invención de la polarografía, se han publicado por lo menos 60 000 trabajos de investigación sobre este tema. La actividad de investigación en este campo, el cual dominó la química electroanalítica durante más de cinco décadas, manifestó un máximo al publicarse casi 2000 artículos en los medios especializados sólo en 1973. Desde ese momento, el interés en los métodos polarográficos ha mantenido una declinación constante, a razón de casi dos veces la velocidad de crecimiento de las publicaciones de química general, hasta que en 2005 aparecieron sólo alrededor de 300 trabajos sobre estos métodos. Esta baja se debe en gran medida a cuestiones relacionadas con las grandes cantidades de mercurio que se utilizan en los laboratorios, con el ambiente, con los aparatos que son de gran tamaño y con la disponibilidad actual de métodos más rápidos y más apropiados, sobre todo espectroscópicos. Por estas razones, la polarografía se trata sólo brevemente y se refiere al estudiante a numerosas fuentes sobre el tema.³

²A. Bond, *Broadening Electrochemical Horizons: Principles and Illustration of Voltammetric and Related Techniques*, Nueva York: Oxford, 2003; C. M. A. Brett y A. M. Oliveira Brett en *Encyclopedia of Electrochemistry*, A. J. Bard y M. Stratmann, eds., vol. 3, *Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, P. Unwin, ed., Nueva York: Wiley, 2002, pp. 105-124.

³A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001, cap. 7, pp. 261-304; *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, eds., Nueva York: Dekker, 1996, pp. 444-461.

Aunque la importancia de la polarografía ha declinado, la voltametría y la amperometría en electrodos de trabajo diferentes al electrodo de goteo de mercurio han crecido a una velocidad impresionante.⁴ Además, la voltametría y la amperometría junto con la cromatografía de líquidos se han convertido en herramientas poderosas para los análisis de mezclas complejas. La voltametría moderna también será una herramienta excelente en diversas áreas de la química, bioquímica, ciencia de materiales e ingeniería y las ciencias ambientales para estudiar los procesos de oxidación, reducción y adsorción.⁵

25A SEÑALES DE EXCITACIÓN EN VOLTAMETRÍA

En voltametría se aplica una señal de excitación de potencial variable a un electrodo de trabajo en una celda electroquímica. Esta señal de excitación causa una respuesta de corriente característica, que es la cantidad mensurable en este método. En la figura 25.1 se muestran las formas de cuatro de las señales de excitación más comunes en voltametría, aunque la clásica es el barrido lineal que se muestra en la figura 25.1a, en la

⁴Desde 1973 a 2005, la cantidad por año de artículos sobre voltametría y amperometría aumentó 3 y 2.5 veces, respectivamente, respecto a la producción de artículos de todas las áreas de química.

⁵Entre las referencias generales sobre voltametría están A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001; S. P. Kounaves en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Frank A. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997, pp. 711-728; *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, eds., Nueva York: Dekker, 1996; *Analytical Voltammetry*, M. R. Smyth y F. G. Vos, eds., Nueva York: Elsevier, 1992.

que el voltaje que se aplica a la celda aumenta linealmente (por lo común en el intervalo de 2 a 3 V) en función del tiempo. La corriente que se desarrolla en la celda se registra entonces en función del tiempo y, por tanto, en función del voltaje aplicado. En amperometría, la corriente se registra a un voltaje aplicado fijo.

En las figuras 25.1b y c se muestran dos señales de excitación de pulsos. Las corrientes se miden en diferentes momentos durante la vida de dichos pulsos. Con la forma de onda triangular que se muestra en la figura 25.1d, el potencial varía en forma cíclica entre dos valores; primero aumenta linealmente hasta un máximo y después disminuye linealmente con la misma pendiente hasta su valor original. Este proceso se puede repetir numerosas veces mientras la corriente se registra en función del tiempo. Un ciclo completo puede durar 100 segundos o más, o completarse en menos de un segundo.

A la derecha de cada una de las formas de onda de la figura 25.1 se indica el tipo de voltimetría que utilizan las diversas señales de excitación. Estas técnicas se tratan en las secciones siguientes.

25B INSTRUMENTOS EN VOLTAMETRÍA

La figura 25.2 es un esquema en el que se muestran los componentes de un potencióstato de amplificador operacional moderno (véase sección 24C.1) con el que se pueden efectuar medidas voltamétricas de barrido lineal. La celda consta de tres electrodos sumergidos en una solución que contiene al analito y también un exceso de un electrolito no reactivo llamado *electrolito soporte*. Uno de los tres electrodos es el de trabajo, cuyo potencial se hace variar linealmente con el tiem-

po. Sus dimensiones se conservan de tamaño reducido con el objetivo de intensificar su tendencia a ser polarizado (véase la sección 22E.2). El segundo electrodo es uno de referencia, casi siempre uno de calomel saturado o de plata-cloruro de plata, cuyo potencial permanece constante durante todo el experimento. El tercero es un contraelectrodo, que a menudo es una espiral de alambre de platino que simplemente conduce la electricidad desde la fuente de la señal, a través de la solución, hasta el electrodo de trabajo.

La fuente de la señal es un generador de voltaje de barrido lineal similar al circuito de integración que se muestra en la figura 3.16c. La salida de este tipo de fuente se describe mediante la ecuación 3.22. Por consiguiente, para un potencial de entrada de cd constante E_i , el potencial de salida E_o es

$$E_o = -\frac{E_i}{R_i C_f} \int_0^t dt = -\frac{E_i t}{R_i C_f} \quad (25.1)$$

La señal de salida procedente de la fuente se alimenta a un circuito potencióstático similar al que se muestra en la figura 25.2 (véase también la figura 24.6c). La resistencia eléctrica del circuito de control que contiene el electrodo de referencia es tan grande ($>10^{11} \Omega$) que prácticamente no pasa corriente por él. Por tanto, toda la corriente de la fuente circula del contraelectrodo al electrodo de trabajo. Además, el circuito de control ajusta esta corriente de manera que la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia es idéntica al voltaje de salida procedente del generador de voltaje lineal. La corriente resultante, que es directamente proporcional a la diferencia



Clase interactiva: aprenda más acerca de los instrumentos voltamétricos y las formas de onda.

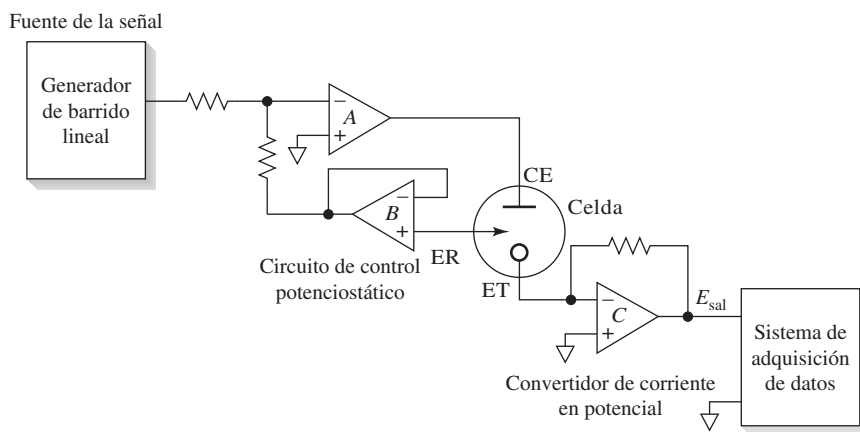


FIGURA 25.2 Potencióstato de amplificador operacional. La celda de tres electrodos tiene un electrodo de trabajo (ET), electrodo de referencia (ER) y un contraelectrodo (CE).

de potencial entre el par electrodo de trabajo-electrodo de referencia, se convierte entonces en un voltaje que el sistema de adquisición de datos registra en función del tiempo.⁶ Es importante destacar que la variable independiente en este experimento es el potencial del electrodo de trabajo respecto al electrodo de referencia, y no el potencial entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. El electrodo de trabajo está a un potencial virtual común durante todo el curso del experimento (véase sección 3B.3).

25B.1 Electrodo de trabajo

Los electrodos de trabajo que se emplean en voltametría tienen una variedad de configuraciones y formas.⁷ A menudo son pequeños discos planos de un conductor que se montan a presión en una varilla de material inerte, como Teflón o Kel-F, que tiene incorporado un alambre de contacto (véase figura 25.3a). El conductor puede ser un metal noble, como platino u oro; un material de carbono, como pasta de carbono, fibra de carbono, grafito pirolítico o carbono vítreo, diamante o nanotubos de carbono; un semiconductor, como estaño u óxido de indio; o un metal revestido con una película de mercurio. Como se muestra en la figura 25.4, el intervalo de potenciales en el que estos electrodos se utilizan en soluciones acuosas varía y depende no sólo del material del electrodo, sino también de la composición de la solución en que está sumergido. En general, las limitaciones de los potenciales positivos son causadas por las elevadas corrientes que se desarrollan debido a la oxidación del agua para dar oxígeno molecular. Los límites negativos se deben a la reducción del agua para producir hidrógeno. Observe que los elevados potenciales negativos se pueden tolerar con electrodos de mercurio debido al elevado exceso de voltaje del hidrógeno en este metal.

⁶Al principio, la voltametría se efectuaba con un sistema de dos electrodos en vez del sistema de tres electrodos que se observa en la figura 25.2. Con el primer sistema, el segundo electrodo puede ser uno grande metálico o uno de referencia suficientemente grande como para impedir su polarización durante el experimento. Este último combina las funciones del electrodo de referencia y del contraelectrodo en la figura 25.2. En el sistema de dos electrodos, se supone que el potencial del segundo de éstos es constante durante todo el barrido, de manera que el potencial del electrodo de trabajo es simplemente la diferencia entre el potencial aplicado y el potencial del segundo electrodo. Sin embargo, esta suposición no es válida con soluciones de elevada resistencia eléctrica porque la caída de IR es importante y aumenta a medida que la corriente se incrementa. El resultado es que se obtienen voltamogramas distorsionados. En la actualidad, casi toda la voltametría se lleva a cabo con sistemas de tres electrodos.

⁷Las dimensiones de muchos de los electrodos de trabajo que se describen en este capítulo son milimétricas. Ahora hay mucho interés en los estudios con electrodos de dimensiones micrométricas y más pequeños que se denominan *microelectrodos*. Éstos ofrecen varias ventajas en comparación con los electrodos de trabajo clásicos. Algunas de las características únicas de los microelectrodos se describen en la sección 25I.

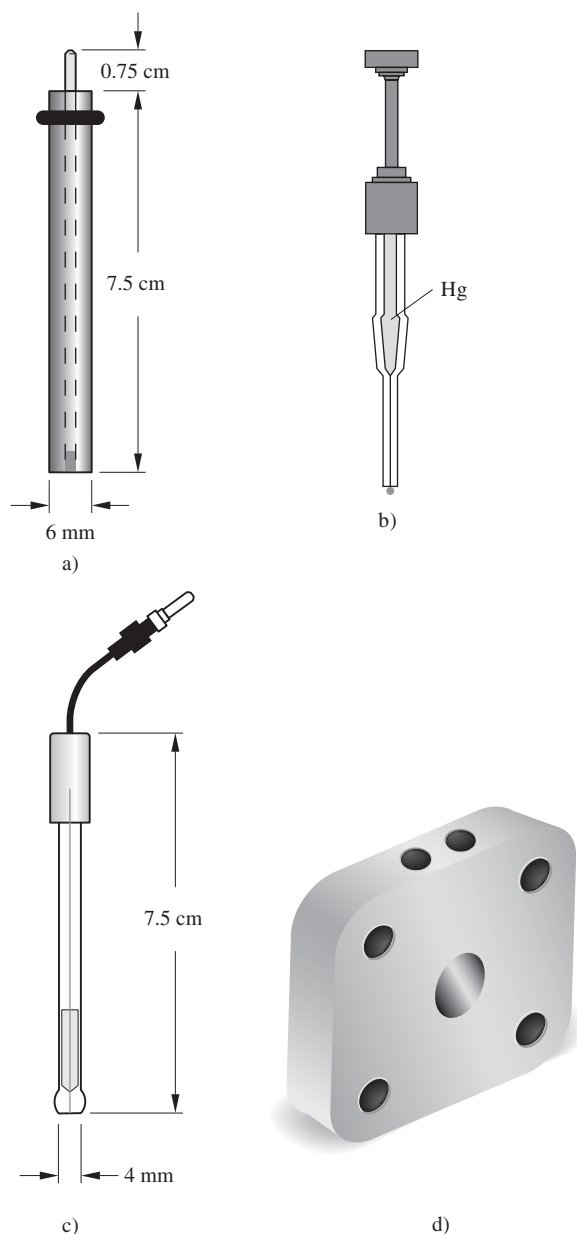
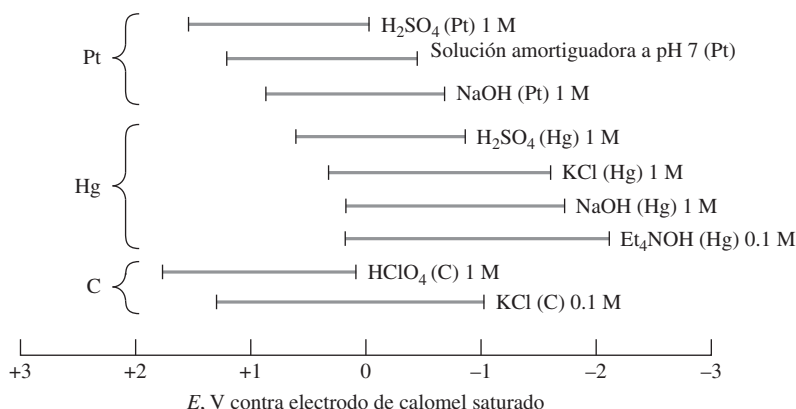


FIGURA 25.3 Algunos tipos comunes de electrodos voltamétricos comerciales: a) electrodo de disco; b) electrodo de gota de mercurio colgante; c) microelectrodo; d) electrodo de flujo tipo emparedado. (Electrodos a), c) y d) cortesía de Bioanalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN con autorización.)

Los electrodos de trabajo de mercurio se usan ampliamente en voltametría por diversas razones. Una de ellas es el intervalo relativamente grande de potenciales negativos antes descrito. Además, es fácil formar una superficie metálica limpia con el simple hecho de producir una nueva gota. La posibilidad de obtener con facilidad una superficie nueva es importante por-

FIGURA 25.4 Intervalos de potencial para tres tipos de electrodos en diversos electrolitos de soporte. (Adaptado de A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., cuarta de forros, Nueva York: Wiley, 2001. Reproducido con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)



que las corrientes que se miden en voltimetría son muy sensibles a la limpieza y libres de irregularidades. Una ventaja más de los electrodos de mercurio es que numerosos iones metálicos se reducen de manera reversible a amalgamas en la superficie de un electrodo de mercurio, lo que simplifica los procesos químicos. Los electrodos de mercurio son de diferentes formas. La más simple es un electrodo de película de mercurio formado por el electrodeposición del metal sobre un electrodo de disco, tal como se muestra en la figura 25.3a. La figura 25.3b ilustra un electrodo de gota colgante de mercurio que ya está disponible en el comercio y consiste en un tubo capilar muy delgado conectado a un depósito que contiene el mercurio. El metal es forzado a salir del capilar mediante un émbolo accionado por un tornillo micrométrico que permite la formación de gotas cuyas áreas superficiales son reproducibles con un error de 5% o menor.

La figura 25.3c muestra un microelectrodo representativo comercial. Tales electrodos constan de alambres o fibras metálicos de pequeños diámetros (5 a 100 μm) dentro de cuerpos de vidrio templado. El extremo aplanado del microelectrodo está pulido con un acabado de espejo, que se puede conservar usando alúmina o pulimento de diamante o ambos. La conexión eléctrica es una terminal revestida con oro de 0.060 pulgadas. Los microelectrodos se fabrican con una diversidad de materiales, entre los cuales están fibra de carbono, platino, oro y plata. Se pueden incorporar otros materiales en los microelectrodos si están en la forma de alambre o de fibra y se forma un buen sello con resina epóxica. El electrodo que se muestra mide aproximadamente 7.5 cm de largo y 4 mm de diámetro exterior.

La figura 25.3d muestra un electrodo de trabajo comercial del tipo emparedado para voltimetría o amperometría en corrientes de fluidos. El bloque está hecho de polieterecetona (PEEK, por sus siglas en inglés);

se fabrica con varias formas y diferentes dimensiones de electrodos (3 mm y 6 mm; véase el área gris oscuro en la figura) y varias configuraciones (doble de 3 mm y cuádruple de 2 mm). Revise en la figura 25.17 un diagrama que indica cómo se usan los electrodos en las corrientes de fluidos. Los electrodos de trabajo pueden ser de carbono vítreo, pasta de carbono, oro, cobre, níquel, platino u otro material que el cliente desee.

25B.2 Electrodos modificados

Un área activa de investigación en electroquímica es el perfeccionamiento de electrodos producidos por modificación química de varios sustratos conductores.⁸ Dichos electrodos se hacen a la medida para ejecutar una gran variedad de funciones. Entre las modificaciones están la aplicación irreversible de sustancias adsorbentes con funcionalidades deseadas, enlace covalente de componentes a la superficie y revestimiento del electrodo con películas de polímero o de otras sustancias. El proceso de unión covalente se muestra en la figura 25.5 para un electrodo metálico y un electrodo de carbono. Primero, la superficie del electrodo se oxida para crear grupos funcionales en la superficie, como se muestra en las figuras 25.5a y b. Luego, se unen a la superficie agentes enlazantes, como organosilanos (figura 25.5c) o aminas (figura 25.5d), antes de unir el grupo objetivo. Las películas de polímero se preparan a partir de polímeros disueltos y se aplican mediante revestimiento por inmersión, revestimiento por centrifugación, electrodeposición o enlace covalente. También se pueden producir a partir de monómeros mediante métodos de polimerización térmicos, con plasma, fotoquímicos o electroquímicos. Los biosensores de enzimas inmovilizadas, como los sensores amperométricos

⁸Más información en R. W. Murray, "Molecular Design of Electrode Surfaces", en *Techniques in Chemistry*, vol. 22, W. Weissberger, founding ed., Nueva York: Wiley, 1992; A. J. Bard, *Integrated Chemical Systems*, Nueva York: Wiley, 1994.

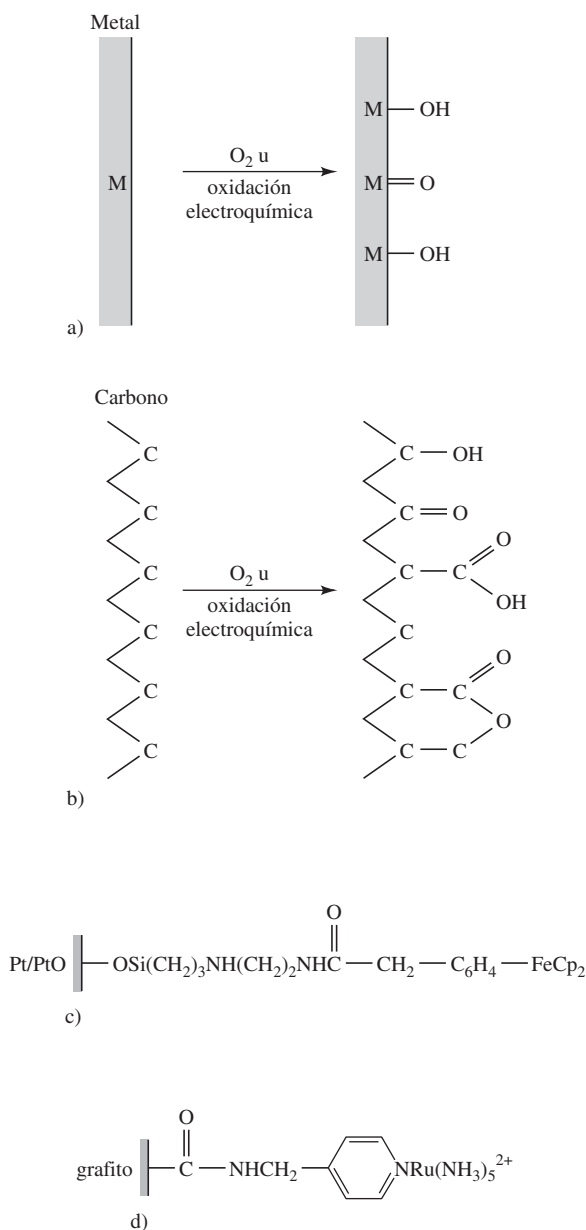


FIGURA 25.5 Grupos funcionales formados sobre a) un metal o b) una superficie de carbono por oxidación. (Con autorización de A. J. Bard, *Integrated Chemical Systems*, Nueva York: Wiley, 1994.) c) A menudo, un agente enlazante como el organosilano está unido a la superficie que se ha hecho funcional. Los componentes reactivos, como ferrocenos, viologenos y complejos metálicos de bipyridina, se unen entonces para formar las superficies modificadas. Se ilustra un electrodo de Pt con un ferroceno unido. (Tomado de J. R. Lenhard y R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, p. 7870. Con autorización.) En d) se muestra un electrodo de grafito con py-Ru(NH₃)₅. (Con autorización de C. A. Koval y F. C. Anson, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, p. 223.)

que se describen en la sección 25C.4, son un tipo de electrodo modificado. Se pueden preparar mediante enlace covalente, adsorción o captación de gel. Otro modo de fijación en el caso de la modificación de electrodos es mediante *monocapas autoensambladas* (SAM, por sus siglas en inglés).⁹ En el procedimiento más común, un hidrocarburo de cadena larga con un grupo tiol en uno de los extremos y un grupo amino o carboxilo en el otro se aplica a un electrodo con película prístina de oro o de mercurio. Las moléculas del hidrocarburo se ensamblan entre sí en un acomodo muy ordenado y el grupo tiol queda unido a la superficie del metal y el grupo funcional elegido queda expuesto. Las configuraciones pueden hacerse después más funcionales mediante enlace covalente o adsorción de la especie molecular deseada.

Los electrodos modificados tienen muchas aplicaciones. Uno de los intereses principales es el campo de la electrocatálisis. En ésta se buscan los electrodos capaces de reducir oxígeno del agua para usarlos en las celdas de combustibles y baterías. Otra aplicación está en la producción de dispositivos electrocromicos que cambian de color en la oxidación o reducción. Dichos dispositivos se usan en pantallas o en *ventanas y espejos inteligentes*. Los dispositivos electroquímicos que sirven como dispositivos electrónicos moleculares, como diodos y transistores, también son motivo de estudio intenso. Por último, el uso analítico más importante de tales electrodos es como sensores que detecten una especie particular o un grupo funcional específico (véase figura 1.7).

25B.3 Voltamogramas

En la figura 25.6 se ilustra la apariencia de un voltamograma de barrido lineal típico para una electrólisis en la que hay reducción de una especie del analito A para dar un producto P en un electrodo de película de mercurio. En este caso se supone que el electrodo de trabajo está conectado al polo negativo del generador de barrido lineal de manera que los potenciales aplicados se dan con signo negativo tal como se muestra. Por convención, las corrientes catódicas se tratan siempre como positivas y las corrientes anódicas se dan con signo negativo.¹⁰ En este experimento hipotético

⁹H. O. Finklea en *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, A. J. Bard e I. Rubinstein, eds., vol. 19, pp. 109-335, Nueva York: Dekker, 1996.

¹⁰Esta convención, que se originó a partir de los primeros estudios polarográficos, no se acepta en todo el mundo. Muchos investigadores prefieren asignar el signo positivo a las corrientes anódicas. Al leer los artículos especializados es importante verificar cuál es la convención que están utilizando. Véase A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., p. 6, Nueva York: Wiley, 2001.

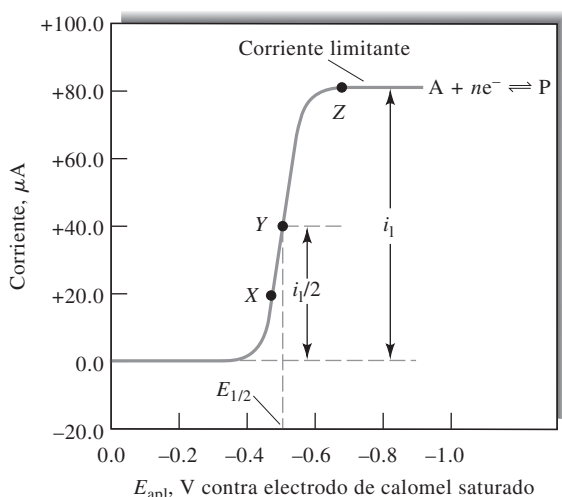


FIGURA 25.6 Voltamograma de barrido lineal para la reducción de una especie hipotética A para dar un producto P. La corriente límite i_l es proporcional a la concentración del analito y se usa en el análisis cuantitativo. El potencial de semionda $E_{1/2}$ se relaciona con el potencial estándar de la semirreacción y a menudo se usa en la identificación cualitativa de especies. El potencial de semionda es el potencial aplicado al cual la corriente i es $i_l/2$.

se supone que la solución es aproximadamente 10^{-4} M en A, cero M en P y 0.1 M en KCl, el cual sirve como electrolito soporte. La semirreacción en el electrodo de trabajo es la reacción reversible



Por conveniencia se han pasado por alto las cargas en A y en P, y asimismo se ha supuesto que el potencial estándar para la semirreacción es -0.26 V.

En general, los voltamogramas de barrido lineal adquieren la forma de una curva sigmoidea y se denominan *ondas voltamétricas*. La corriente constante que aparece después del aumento de la pendiente se llama corriente de difusión limitada o simplemente *corriente límite* i_l porque la velocidad a la cual el reactivo puede llegar a la superficie del electrodo por un proceso de transporte de masa limita la corriente. Por lo regular, las corrientes limitantes suelen ser directamente proporcionales a la concentración de reactivo. Por tanto, es posible escribir

$$i_l = kc_A$$

donde c_A es la concentración del analito y k es una constante. La voltimetría de barrido lineal cuantitativa se basa en esta relación.

El potencial al cual la corriente es igual a la mitad de la corriente límite se llama *potencial de semionda* y

se representa con el símbolo $E_{1/2}$. Después de corregir el potencial del electrodo de referencia (0.242 V para un electrodo de calomel saturado) el potencial de semionda está relacionado de manera muy cercana con el potencial estándar de la semirreacción, pero por lo regular no es idéntico a éste. A veces, los potenciales de semionda son útiles para identificar los componentes de una solución.

Las corrientes limitantes reproducibles se pueden alcanzar rápidamente cuando la solución del analito o el electrodo de trabajo estén en movimiento continuo y reproducible. La voltimetría de barrido lineal en la cual la solución o el electrodo se mantienen en movimiento se llama *voltimetría hidrodinámica*. En este capítulo se analiza este tema de manera detallada.

25B.4 Modelo de circuito de un electrodo de trabajo

A menudo es útil e instructivo representar la celda electroquímica como un circuito eléctrico que responde a la excitación de la misma manera que la celda. En este análisis la atención se centra sólo en el electrodo de trabajo y se supone que el contraelectrodo es inerte, grande, no polarizable y sólo sirve para hacer contacto con la solución del analito. En la figura 25.7 se muestra un esquema de tres de los modelos de circuitos posibles para la celda electroquímica. En la figura 25.7a, se presenta el *circuito Randles*,¹¹ que consta de la resistencia de la solución R_Ω , la capacitancia de doble capa C_d , y la *impedancia faradaica* Z_f . El diagrama físico del electrodo que está arriba del circuito indica la correspondencia entre los elementos del circuito y las características del electrodo. Aunque R_Ω y C_d representan el comportamiento de los electrodos reales con mucha exactitud en un amplio intervalo de frecuencias y sus valores son independientes de la frecuencia, la impedancia faradaica no lo es. La razón es que, en general, Z_f tiene que modelar cualquier proceso de transferencia de electrones o de masas que ocurra en la celda, y estos procesos dependen de la frecuencia. La representación más sencilla de la impedancia faradaica contiene una resistencia en serie R_s y la *pseudo-capacitancia* C_s (figura 25.7b), que se denomina así a causa de su dependencia de la frecuencia.¹²

En el pasado se diseñaron métodos ingeniosos para determinar los valores de R_Ω y C_d . Por ejemplo, suponga que se aplica una señal de excitación sinusoidal de pequeña amplitud a una celda que contiene un electro-

¹¹ J. E. B. Randles, *Disc. Faraday Soc.*, **1947**, *1*, p. 11.

¹² A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a ed., p. 376, Nueva York: Wiley, 2001.

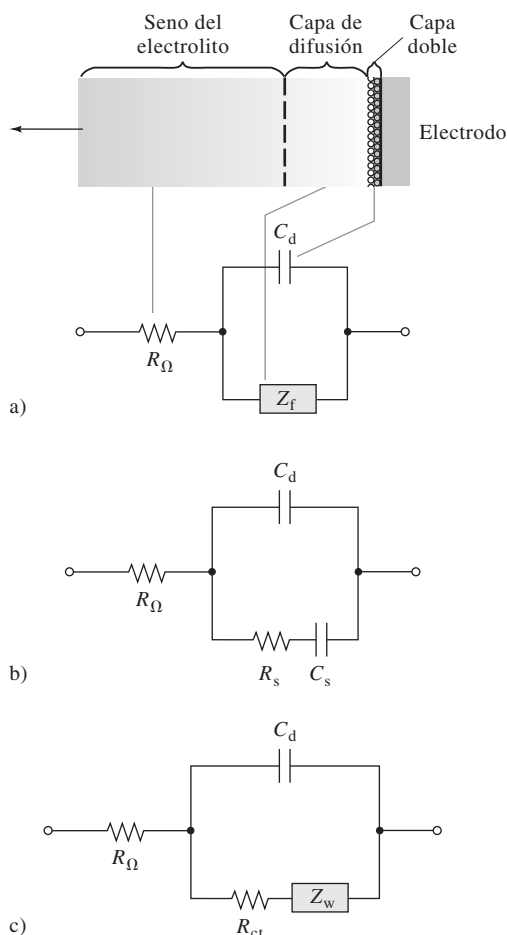


FIGURA 25.7 Modelo de circuito de una celda electroquímica. R_Ω es la resistencia de la celda, C_d es la capacitancia de doble capa y Z_f es la impedancia faradaica, la cual se podría representar por alguno de los circuitos equivalentes que se muestran. R_s es la resistencia de la celda, C_s es la llamada pseudocapacitancia y Z_w es la impedancia de Warburg. (Adaptado a partir de A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., p. 376, Nueva York: Wiley, 2001. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

do de trabajo representado por la figura 25.7b. Además se supone que el valor del voltaje aplicado es insuficiente para iniciar los procesos faradaicos. A frecuencias relativamente altas, la reactancia capacitiva $X_C = 1/(2\pi f C_d)$ será muy pequeña (véase sección 2B.4) y C_d actúa en esencia como un cortocircuito. Si se mide entonces la corriente máxima I_p en el circuito, se encuentra $R_\Omega = V_p/I_p$. En realidad, el anterior es un método muy usado para determinar la conductancia de la solución $G = 1/R_\Omega = I_p/V_p$. De manera similar, cada uno de los elementos de circuito del modelo puede ser aislado y sus valores calculados mediante la aplicación de técnicas para medir circuitos *ca*.

En la figura 25.7c se ilustra un tercer modelo para el electrodo de trabajo en el cual la impedancia faradaica está representada como la combinación en serie de la resistencia de transferencia de carga R_{ct} y la *impedancia de Warburg* Z_w . La resistencia de transferencia de carga se expresa como $R_{ct} = -\eta/i$, donde η es el exceso de potencial del proceso faradaico que ocurre en el electrodo de trabajo (véase sección 22E.2), e i es la corriente.¹³ La impedancia de Warburg es un circuito que depende de la frecuencia análogo a la resistencia del electrodo de trabajo para el transporte de masa de las moléculas del analito por la interfase electrodo-solución. Cuando las condiciones experimentales son tales que la impedancia de Warburg se puede despreciar, la resistencia de la transferencia de carga se puede medir con facilidad, por ejemplo, a frecuencias de excitación cercanas a cero.

Con los instrumentos computarizados para el análisis de frecuencia y los programas para computadora modernos es posible tomar los datos de impedancia en las celdas y calcular los valores de todos los componentes de los modelos de los circuitos que aparecen en la figura 25.7. Este tipo de análisis, llamado *espectroscopia de impedancia electroquímica*, revela la naturaleza de los procesos faradaicos y, a menudo, ayuda en la investigación de los mecanismos de las reacciones de transferencia de electrones.¹⁴ En la sección siguiente se exploran los procesos en la interfase electrodo-solución que origina la impedancia faradaica.

25C VOLTAMETRÍA HIDRODINÁMICA

La voltimetría hidrodinámica se ejecuta de diversas maneras. En una de ellas, la solución se somete a una agitación vigorosa cuando está en contacto con un electrodo de trabajo fijo. En la figura 25.8 se representa una celda o cubeta típica para la voltimetría hidrodinámica. En este caso, la remoción se consigue con un agitador magnético corriente. Otra posibilidad es hacer girar el electrodo de trabajo a una velocidad elevada y constante dentro de la solución, para producir así un efecto de agitación (véase figura 25.21a). Otra alternativa para llevar a cabo la voltimetría hidrodinámica es hacer fluir la solución del analito por un tubo en el que se ha montado el electrodo de trabajo (figura 25.17). Esta última técnica se usa ampliamente para detectar analitos oxidables o reducibles a medida que salen de una columna de cromatografía de líquidos (sección 28C.6) o de diversas válvulas de inyección de flujo.

¹³ *Ibid.*, p. 102.

¹⁴ *Ibid.*, pp. 383-388; M. E. Orazem y B. Tribollet, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, Nueva York: Wiley, 2006.

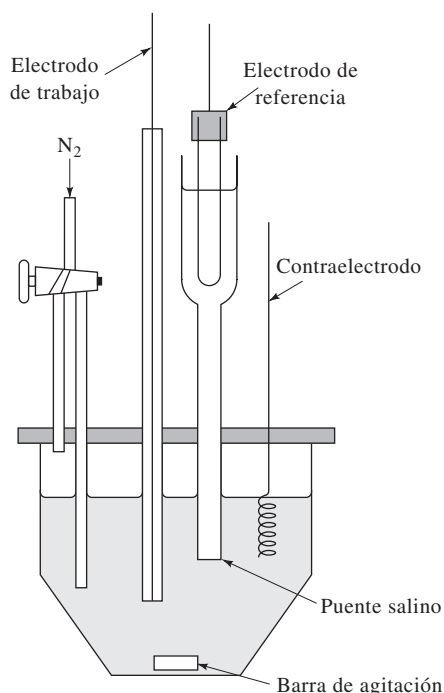


FIGURA 25.8 Celda o cubeta de tres electrodos para voltimetría hidrodinámica.

Como ya se explicó en la sección 22E.3, durante una electrólisis el reactivo es transportado a la superficie del electrodo mediante tres mecanismos: *migración* a causa de la influencia de un campo eléctrico, *convección* resultante de la agitación o la vibración y *difusión* por las diferencias de concentración entre la capa de líquido en contacto con la superficie del electrodo y el seno de la solución. En voltimetría se pretende reducir al mínimo el efecto de la migración al introducir un exceso de un electrolito de soporte inactivo. Cuando la concentración de electrolito soporte excede la del analito en 50 o 100 veces, la fracción de corriente total transportada por el analito se aproxima a cero. Como resultado, la velocidad de migración del analito hacia el electrodo de carga opuesta es prácticamente independiente del potencial aplicado.

25C.1 Perfiles de concentración en las superficies de los electrodos

A lo largo de este estudio se considera que la reacción de electrodo que se indica en la ecuación 25.2 tiene lugar en un electrodo que está en una solución de A que contiene también un exceso de electrolito soporte. Se supone que la concentración inicial de A es c_A y la del producto P es cero. Asimismo, se supone que la reac-

ción de reducción es rápida y reversible de modo que las concentraciones de A y P en la capa de la solución inmediatamente adyacente al electrodo se expresan en cada momento mediante la ecuación de Nernst:

$$E_{\text{apl}} = E_A^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{c_P^0}{c_A^0} - E_{\text{ref}} \quad (25.3)$$

donde E_{apl} es el potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia y c_P^0 y c_A^0 son las concentraciones molares de P y A en una capa delgada de solución sólo en la superficie del electrodo. Se supone también que debido a que el electrodo es tan pequeño, la electrólisis, durante cortos lapsos, no altera de manera apreciable la concentración en el seno de la solución. Por tanto, la concentración de A en el seno de la solución c_A no cambia durante la electrólisis y la concentración de P en el seno de la solución c_P continúa siendo cero ($c_P \approx 0$), para todos los efectos prácticos.

Perfiles para electrodos planos en soluciones no agitadas

Antes de describir el comportamiento de un electrodo en esta solución en condiciones hidrodinámicas, es instructivo considerar lo que ocurre cuando se aplica un potencial a un electrodo plano, tal como el que se muestra en la figura 25.3a, en ausencia de convección, es decir, en una solución sin agitación. En estas condiciones, el transporte de masa del analito hacia la superficie del electrodo es sólo por difusión.

Suponga que se aplica al electrodo de trabajo un potencial de excitación de onda cuadrada E_{apl} durante un periodo t tal como se muestra en la figura 25.9a. Suponga además que E_{apl} es lo suficientemente elevado como para que la relación c_P^0/c_A^0 en la ecuación 25.3 sea de 1000 o superior. En estas condiciones, la concentración de A en la superficie del electrodo, para efectos

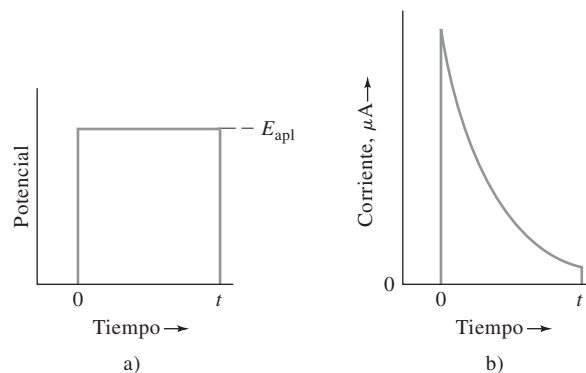


FIGURA 25.9 Respuesta de corriente ante un potencial escalonado que se aplica a un electrodo plano en una solución sin agitar. a) Potencial de excitación. b) Respuesta de corriente.



Simulación: aprenda más acerca de la **difusión en electrodos**.

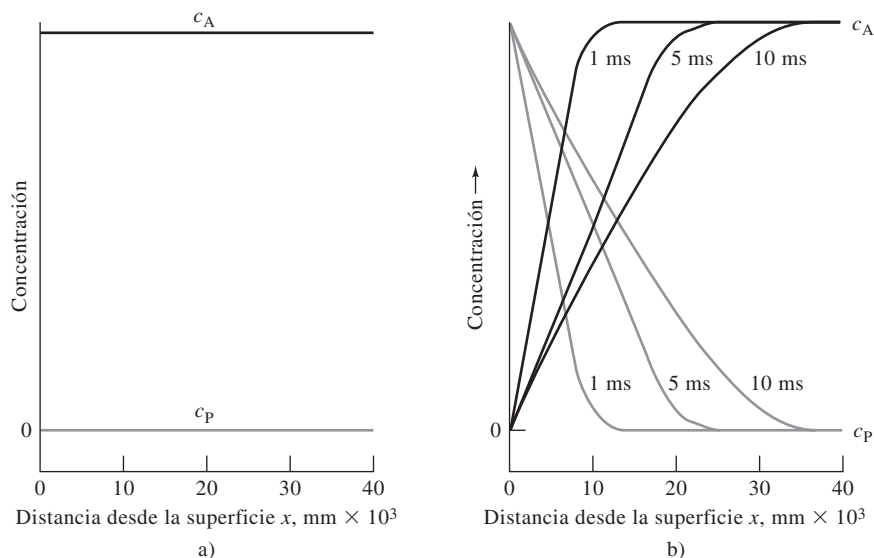


FIGURA 25.10 Perfiles de concentración en función de la distancia durante la reducción controlada por difusión de A para dar P en un electrodo de trabajo plano. a) $E_{\text{apl}} = 0 \text{ V}$. b) $E_{\text{apl}} = \text{punto Z en la figura 25.6}$; tiempo transcurrido: 1, 5 y 10 ms.

prácticos, se reduce inmediatamente a cero ($c_A^0 \rightarrow 0$). La respuesta de corriente a esta señal de excitación en escalón se muestra en la figura 25.9b. Al principio la corriente alcanza un valor máximo que es el que se requiere para convertir prácticamente todo el A de la capa superficial de la solución en P. La difusión desde el seno de la solución lleva entonces más A hacia la capa superficial, donde tiene lugar la reducción. Sin embargo, la corriente necesaria para mantener la concentración de A en el nivel que requiere la ecuación 25.3 disminuye con rapidez en el tiempo porque A debe recorrer cada vez mayores distancias para alcanzar la capa superficial, donde se puede reducir. Por tanto, tal como se ve en la figura 25.9b, la corriente disminuye rápidamente después de su aparición inicial.

La figura 25.10 muestra los perfiles de concentración para A y para P después de 0, 1, 5 y 10 ms de electrólisis en el sistema en estudio. En este ejemplo, las concentraciones de A (líneas continuas negras) y de P (líneas continuas grises) se representan aquí en función de la distancia desde la superficie del electrodo. La figura 25.10a indica que la solución es homogénea antes de la aplicación del potencial en escalera, y la concentración de A es c_A en la superficie del electrodo al igual que en el seno de la solución; la concentración de P es cero en ambas regiones. Un milisegundo después de aplicar el potencial (figura 25.10b), los perfiles han cambiado de manera drástica. En la superficie del electrodo la concentración de A se reduce práctica-

mente a cero mientras que la concentración de P aumenta y llega a ser igual a la concentración original de A; es decir, $c_P^0 = c_A$. Al alejarse de la superficie, la concentración de A aumenta en forma lineal con la distancia y se aproxima a c_A a alrededor de 0.01 mm de la superficie. En esta misma región tiene lugar una disminución lineal de la concentración de P. Como se muestra en la figura, con el paso del tiempo, estos gradientes de concentración se adentran cada vez más en la solución. La corriente i necesaria para producir estos gradientes es proporcional a las pendientes de los tramos rectos de las líneas continuas de la figura 25.10b. Es decir,

$$i = nFAD_A \left(\frac{\partial c_A}{\partial x} \right) \quad (25.4)$$

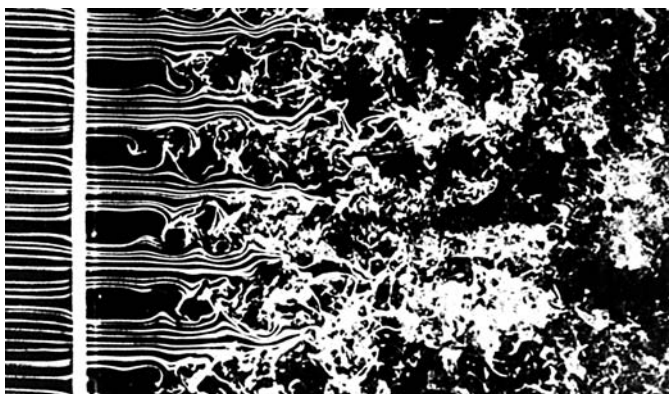
donde i es la corriente en amperes, n es el número de moles de electrones por mol de analito, F es el faraday, A es el área superficial del electrodo (cm^2), D_A es el coeficiente de difusión para A (cm^2/s) y c_A es la concentración de A (mol/cm^3). Como se puede ver en la figura 25.10b, estas pendientes ($\partial c_A / \partial x$) se vuelven más pequeñas con el tiempo, como lo hace la corriente. Al producto $D_A(\partial c_A / \partial x)$ se le denomina *flujo*, el cual es la cantidad de moles de A por unidad de tiempo por unidad de área que se difunde hacia el electrodo.

Es impráctico obtener corrientes limitantes con electrodos planos en soluciones sin agitación porque las corrientes disminuyen de manera continua respecto al tiempo a medida que se reducen las pendientes de los perfiles de concentración.



Simulación: aprenda más acerca de los **perfiles de concentración en los electrodos**.

FIGURA 25.11 Representación de los patrones de flujo en una corriente de fluido. El flujo turbulento, que se muestra a la derecha, se transforma en flujo laminar a medida que la velocidad promedio disminuye a la izquierda. En el flujo turbulento, que se muestra a la derecha, las moléculas se mueven de modo irregular, en zigzag, y hay remolinos en el movimiento. En el flujo laminar, las líneas de corriente se vuelven estables a medida que las capas de líquido se deslizan una sobre otra de manera regular. (Tomado de *An Album of Fluid Motion*, ensamble de Milton Van Dyke, núm. 152, fotografía de Thomas Corke y Hassan Nagib, Stanford, CA: Parabolic Press, 1982.)



Perfiles para electrodos en soluciones agitadas

Considere los perfiles de concentración en función de la distancia cuando la reducción que se describió en la sección anterior se lleva a cabo en un electrodo de trabajo sumergido en una solución que está vigorosamente agitada. Para entender el efecto de la agitación, es necesario tener una imagen de los modelos de flujo de líquido en una solución agitada que contiene un pequeño electrodo plano. Como se puede ver en la figura 25.11, es posible identificar dos tipos de flujo que dependen de la velocidad de flujo promedio. El *flujo laminar* se presenta a velocidades de flujo bajas y el movimiento es uniforme y regular, como se puede ver a la izquierda de la figura. En cambio, en el *flujo turbulento* hay altas velocidades, y el movimiento es irregular y fluctuante, como se aprecia a la derecha. En la celda electroquímica con agitación se tiene una re-

gión de flujo turbulento en el seno de la solución, lejos del electrodo, y una región de flujo laminar cerca del mismo. Estas regiones se ilustran en la figura 25.12. En la región del flujo laminar las capas de líquido se deslizan una junto a otra en una dirección paralela a la superficie del electrodo. Muy cerca del electrodo, a una distancia de δ cm de la superficie, las fuerzas de fricción dan origen a una región donde la velocidad de flujo es en esencia cero. La capa delgada de solución en esta región es una capa estancada llamada *capa de difusión de Nernst*. Es sólo dentro de dicha capa donde las concentraciones de reactivo y producto varían en función de la distancia desde la superficie del electrodo y en donde hay gradientes de concentración. Es decir, en las regiones de flujo laminar y turbulento, la convección mantiene la concentración de A en su valor original y la concentración de P en un nivel muy bajo.

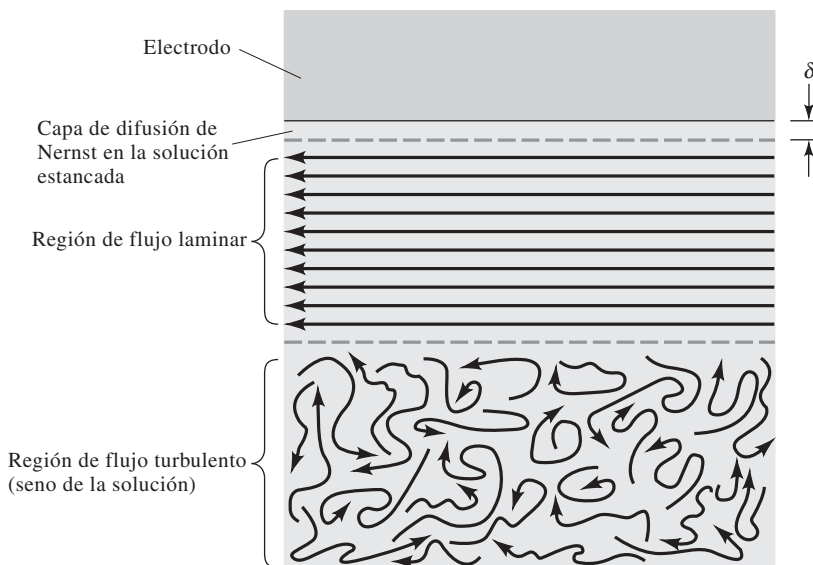


FIGURA 25.12 Modelos de flujo y regiones de interés cerca del electrodo de trabajo en voltametría hidrodinámica.

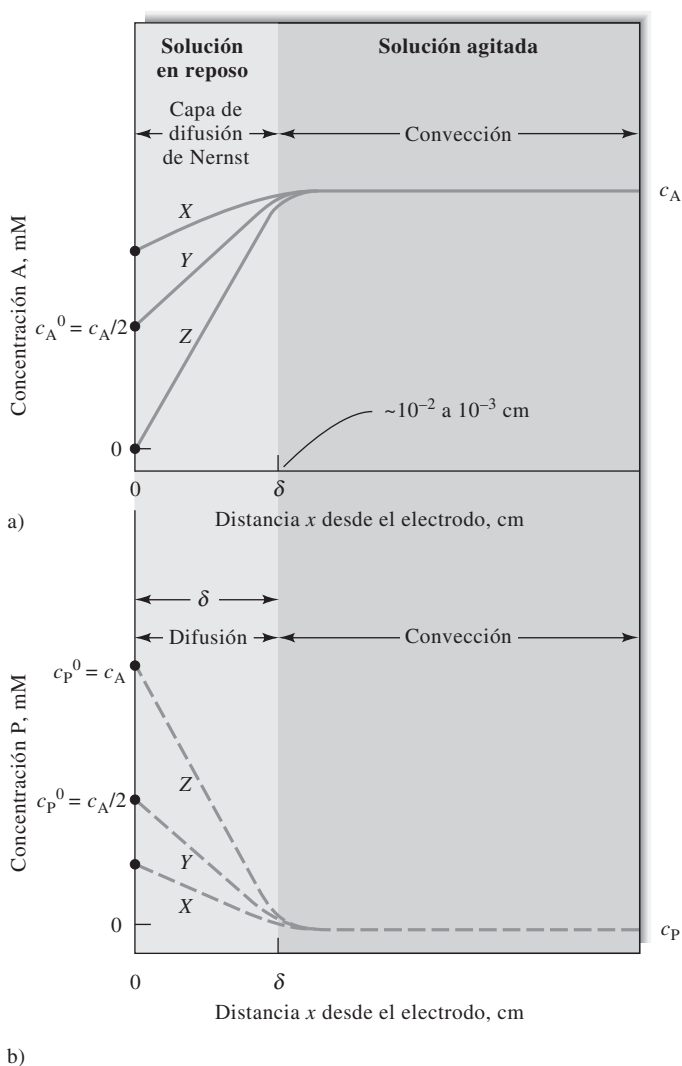


FIGURA 25.13 Perfiles de concentración en una interfase electrodo-solución durante la electrólisis $A + ne^- \rightarrow P$ de una solución de A agitada. Véanse en la figura 25.6 los potenciales correspondientes a las curvas X, Y y Z.

La figura 25.13 muestra dos grupos de perfiles de concentración para A y P a los tres potenciales que se indican como X, Y y Z en la figura 25.6. En la figura 25.13a, la solución se divide en dos regiones. Una representa el seno de la solución y se compone de las regiones tanto de flujo turbulento como de flujo laminar que se muestran en la figura 25.12, en las que el transporte de masa tiene lugar por la convección mecánica producida por el agitador. La concentración de A en toda esta región es c_A , mientras que c_P es prácticamente cero. La segunda región es la capa de difusión de Nernst que está inmediatamente adyacente a la superficie del electrodo y tiene un espesor de δ cm. Por lo regular, δ oscila entre 10^{-2} y 10^{-3} cm, lo cual depende de la eficacia de la agitación y de la viscosidad del líquido. Dentro de la capa estática de difusión, el transporte de masa tiene lugar sólo por difusión, igual que en el caso de una solución sin agitación. Sin embargo, si se agita la solución, la difusión se limita a una

capa estrecha de líquido que no puede extenderse de manera indefinida hacia la solución ni con el transcurso del tiempo. Como resultado, muy poco después de aplicar un potencial, aparecen corrientes estables controladas por difusión.

Como se muestra en la figura 25.13, a un potencial X, la concentración de equilibrio de A en la superficie del electrodo se ha reducido hasta 80% de su valor original y la concentración de P en el equilibrio ha aumentado en una cantidad equivalente; es decir, $c_P^0 = c_A - c_A^0$. Con el potencial Y, que es el de semionda, las concentraciones en equilibrio de las dos especies en la superficie son casi las mismas e iguales a $c_A/2$. Por último, al potencial Z y más allá, la concentración de A en la superficie se aproxima a cero, y la de P se aproxima a la concentración original de A, c_A . Por tanto, a potenciales más negativos que Z, todos los iones A que entran en la capa superficial se reducen instantáneamente a P. Tal como se muestra en la figura

25.13b, a potenciales mayores que Z la concentración de P en la capa superficial permanece constante en $c_P^0 = c_A$ debido a la difusión de P de regreso hacia la región agitada.

25C.2 Corrientes voltamétricas

La corriente en cualquier momento de la electrólisis que se está estudiando está determinada por la velocidad de transporte de A desde el límite exterior de la capa de difusión hasta la superficie del electrodo. Debido a que el producto de la electrólisis P se difunde desde la superficie y es barrido por convección, se requiere una corriente continua para mantener las concentraciones superficiales que demanda la ecuación de Nernst. Sin embargo, la convección mantiene un suministro constante de A en el borde externo de la capa de difusión. De este modo, se obtiene una corriente de estado estable que está determinada por el potencial aplicado. Esta corriente es una medida cuantitativa de la rapidez con que A está siendo transportado a la superficie del electrodo y esta velocidad viene dada por $\partial c_A / \partial x$ donde x es la distancia en centímetros desde la superficie del electrodo. En el caso de un electrodo plano, la corriente se obtiene con la ecuación 25.4.

Tenga en cuenta que $\partial c_A / \partial x$ es la pendiente de la parte inicial de los perfiles de concentración que se muestran en la figura 25.13a, y se puede obtener el valor aproximado de estas pendientes con $(c_A - c_A^0) / \delta$. Cuando esta aproximación es válida, la ecuación 25.4 se reduce a

$$i = \frac{nFAD_A}{\delta} (c_A - c_A^0) = k_A (c_A - c_A^0) \quad (25.5)$$

donde la constante k_A es igual a $nFAD_A / \delta$.

La ecuación 25.5 muestra que a medida que c_A^0 se hace más pequeña debido a la aplicación de un mayor potencial más negativo, la corriente aumenta hasta que la concentración superficial se aproxima a cero; a partir de este momento la corriente es constante e independiente del potencial aplicado. Por consiguiente, cuando $c_A^0 \rightarrow 0$, la corriente se convierte en la corriente limitante i_l , y la ecuación 25.5 se reduce a la ecuación 25.6.¹⁵

$$i_l = \frac{nFAD_A}{\delta} c_A = k_A c_A \quad (25.6)$$

¹⁵El análisis cuidadoso de las unidades de las variables en esta ecuación lleva a

$$n \left(\frac{\text{mol e}^-}{\text{analito en moles}} \right) F \left(\frac{\text{C}}{\text{mol e}^-} \right) A (\text{cm}^2) D_A \left(\frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \right) c_A \left(\frac{\text{analito en moles}}{\text{cm}^3} \right) / \delta (\text{cm}) = i_l \left(\frac{\text{C}}{\text{s}} \right)$$

Por definición, un coulomb por segundo es un ampere.

Esta deducción se basa en un modelo muy simplificado de la capa de difusión en el sentido de que la interfase entre las capas móvil y estacionaria se considera como un límite nítido en donde el transporte por convección cesa y empieza el transporte por difusión. No obstante, este modelo simplificado sí proporciona una aproximación razonable de la relación entre la corriente y las variables que la afectan.

Relaciones corriente/voltaje para reacciones reversibles

Con el objetivo de obtener una ecuación para la curva sigmoidea que se muestra en la figura 25.6, se sustituye la ecuación 25.6 en la 25.5 y se reordenan los términos, con lo que se obtiene

$$c_A^0 = \frac{i_l - i}{k_A} \quad (25.7)$$

La concentración superficial de P puede expresarse también en términos de corriente si se utiliza una relación similar a la ecuación 25.5. Es decir,

$$i = -\frac{nFAD_P}{\delta} (c_P - c_P^0) \quad (25.8)$$

donde el signo menos resulta de la pendiente negativa del perfil de concentración de P. Observe que D_P es ahora el coeficiente de difusión de P. Pero como ya se estableció antes, en toda la electrólisis la concentración de P se aproxima a cero en el seno de la solución y, por tanto, cuando $c_P \approx 0$,

$$i = \frac{-nFAD_P c_P^0}{\delta} = k_P c_P^0 \quad (25.9)$$

donde $k_P = -nFAD_P / \delta$. Al reacomodar los términos se tiene

$$c_P^0 = i / k_P \quad (25.10)$$

Si se sustituyen las ecuaciones 25.7 y 25.10 en la ecuación 25.3 se tiene, después de algunos arreglos

$$E_{\text{apl}} = E_A^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{k_A}{k_P} - \frac{0.0592}{n} \log \frac{i}{i_l - i} - E_{\text{ref}} \quad (25.11)$$

Cuando $i = i_l / 2$, el tercer término del segundo miembro de esta ecuación es igual a cero y, por definición, E_{apl} es el potencial de semionda. Es decir,

$$E_{\text{apl}} = E_{1/2} = E_A^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{k_A}{k_P} - E_{\text{ref}} \quad (25.12)$$

Al sustituir esta expresión en la ecuación 25.11 se tiene una expresión para el voltamograma de la figura 25.6. Es decir,

$$E_{\text{apl}} = E_{1/2} - \frac{0.0592}{n} \log \frac{i}{i_1 - i} \quad (25.13)$$

A menudo, la relación k_A/k_P en las ecuaciones 25.11 y 25.12 se aproxima a uno, por lo que se puede escribir para la especie A

$$E_{1/2} \approx E_A^0 - E_{\text{ref}} \quad (25.14)$$

Relaciones corriente/voltaje para reacciones irreversibles

Muchos procesos de electrodo voltamétricos, en particular los relacionados con sistemas orgánicos, son irreversibles, lo que da lugar a ondas alargadas y no tan bien definidas. La descripción cuantitativa de tales ondas requiere un término adicional en la ecuación 25.12 que involucre la energía de activación de la reacción para tomar en cuenta la cinética del proceso de electrodo. A pesar de que los potenciales de semionda de las reacciones irreversibles normalmente muestran cierta dependencia de la concentración, las corrientes de difusión conservan una relación lineal con la concentración. Por tanto, algunos procesos irreversibles se adaptan con facilidad al análisis cuantitativo si se dispone de patrones adecuados para la calibración.

Voltamogramas para mezclas de reactivos

Por lo regular, los reactivos de una mezcla se comportan independientes unos de otros en un electrodo de trabajo. Por consiguiente, el voltamograma de una mezcla es simplemente la suma de las ondas de los componentes individuales. La figura 25.14 muestra los voltamogramas de un par de mezclas de dos componentes. Los potenciales de semionda de los dos reactivos difieren por unos 0.1 V en la curva A y por unos 0.2 V en la curva B. Observe que un solo voltamograma puede permitir la determinación cuantitativa de dos o más especies siempre que haya suficiente diferencia entre los potenciales de semionda sucesivos para permitir la evaluación de las corrientes de difusión individuales. En general, se necesita de 0.1 a 0.2 V si la especie que se reduce con más facilidad experimenta una reducción de dos electrones; se necesita un mínimo de 0.3 V si la primera reducción es un proceso de un electrón.

Voltamogramas anódicos y anódicos-catódicos

En voltimetría hay ondas tanto anódicas como catódicas. Un ejemplo de onda anódica se ilustra en la curva A de la figura 25.15, donde la reacción del electrodo es la oxidación de hierro(II) en hierro(III) en presencia de ion citrato. La corriente limitante se observa en alrededor de +0.1 V (respecto a un electrodo de calomel saturado), el cual se debe a la semirreacción

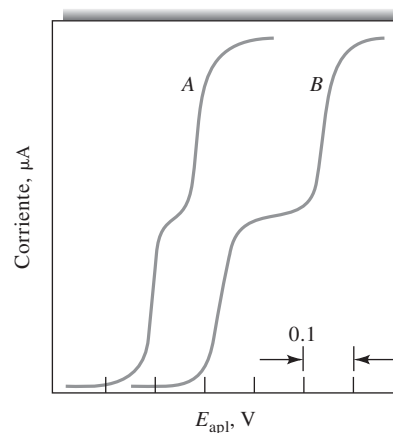
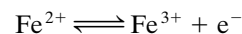


FIGURA 25.14 Voltamogramas de mezclas de dos compuestos. Los potenciales de semionda difieren por 0.1 V en la curva A y por 0.2 V en la curva B.



A medida que el potencial se hace más negativo, disminuye la corriente anódica; en aproximadamente -0.02 V, la corriente se hace cero, ya que cesa la oxidación de los iones hierro(II).

La curva C representa el voltamograma de una solución de hierro(III) en el mismo medio. En este caso se obtiene una onda catódica como resultado de la reducción del hierro(III) en hierro(II). El potencial de semionda es idéntico al de la onda anódica, lo que indica que la oxidación y la reducción de las dos especies

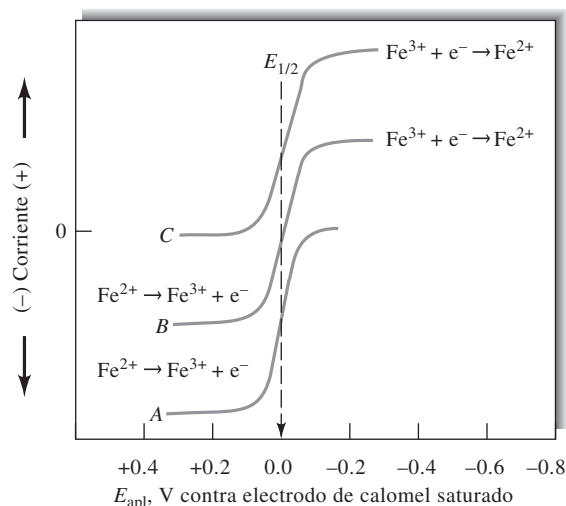


FIGURA 25.15 Comportamiento voltamétrico del hierro(II) y del hierro(III) en un medio de citrato. Curva A: onda anódica para una solución en la cual $c_{\text{Fe}^{2+}} = 1 \times 10^{-4}$ M. Curva B: onda anódica-catódica para una solución en la que $c_{\text{Fe}^{2+}} = c_{\text{Fe}^{3+}} = 0.5 \times 10^{-4}$ M. Curva C: onda catódica para una solución en la que $c_{\text{Fe}^{3+}} = 1 \times 10^{-4}$ M.

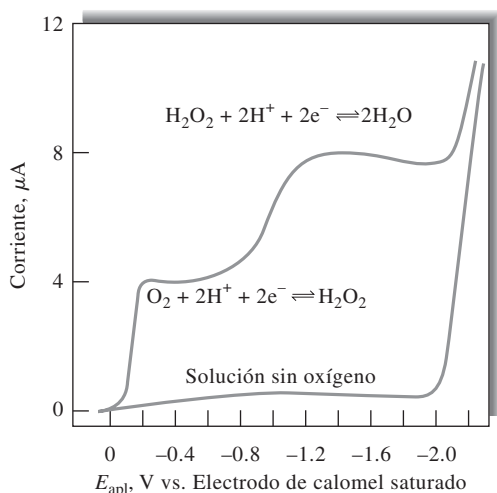


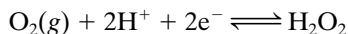
FIGURA 25.16 Voltamograma para la reducción de oxígeno en una solución 0.1 M de KCl saturada con aire. La curva inferior corresponde a una solución 0.1 M de KCl sin oxígeno, el cual se eliminó al introducir burbujas de nitrógeno en la solución.

de hierro son perfectamente reversibles en el electrodo de trabajo.

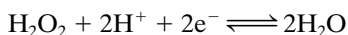
La curva B es el voltamograma de una mezcla equimolar de hierro(II) y de hierro(III). El segmento de la curva por debajo de la línea de corriente cero corresponde a la oxidación del hierro(II); esta reacción cesa a un potencial aplicado igual al potencial de semionda. La parte superior de la curva se debe a la reducción del hierro(III).

25C.3 Ondas de oxígeno

El oxígeno disuelto se reduce fácilmente en muchos electrodos de trabajo. Por tanto, como se muestra en la figura 25.16, una solución acuosa saturada de aire presenta dos ondas inconfundibles atribuibles al oxígeno. La primera resulta de la reducción del oxígeno a peróxido de hidrógeno:



La segunda onda corresponde a la reducción posterior del peróxido de hidrógeno:



Puesto que ambas reacciones son reducciones de dos electrones, las dos ondas tienen la misma altura.

Las mediciones voltamétricas ofrecen un método adecuado y ampliamente utilizado para determinar oxígeno disuelto en soluciones. Pero la presencia de oxígeno interfiere a menudo en la determinación exacta de otras especies. Por tanto, la eliminación del oxígeno es casi siempre la primera etapa en los pro-

cedimientos amperométricos. La desoxigenación se consigue al hacer pasar durante varios minutos un gas inerte (*burbujeo*) por la solución del analito. Se hace pasar sobre la superficie de la solución una corriente del mismo gas, por lo regular nitrógeno, durante el análisis, para evitar la reabsorción del oxígeno. La curva inferior de la figura 25.16 es un voltamograma de una solución sin oxígeno.

25C.4 Aplicaciones de la voltimetría hidrodinámica

Entre las aplicaciones más importantes de la voltimetría hidrodinámica están 1) detección y determinación de especies químicas a medida que son excluidas de columnas cromatográficas o de instrumentos de inyección de flujo; 2) determinaciones de rutina de oxígeno y de ciertas especies de interés bioquímico, como glucosa, lactosa y sacarosa; 3) la detección de puntos finales en titulaciones coulombimétricas y volumétricas, y 4) estudios básicos de procesos electroquímicos.

Detectores voltamétricos en cromatografía y análisis por inyección de flujo

La voltimetría hidrodinámica se aplica ampliamente para detectar y determinar iones o compuestos oxidables o reducibles que han sido separados por cromato-

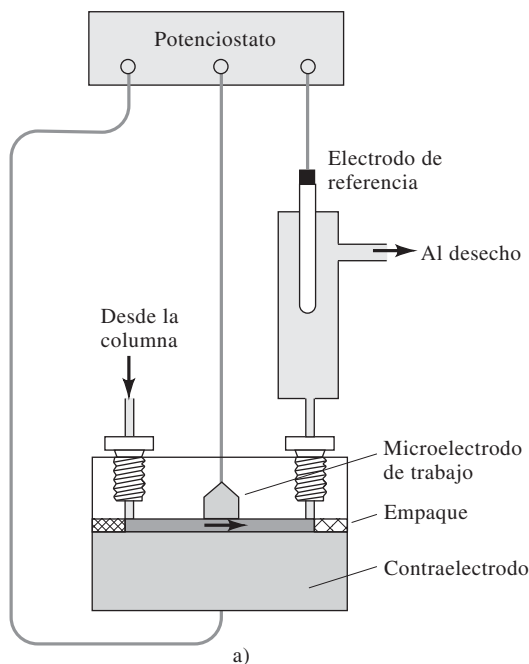


FIGURA 25.17 a) Esquema de un sistema voltamétrico para detectar especies electroactivas al ser excluidas de una columna. El volumen de la celda está determinado por el espesor del empaque.

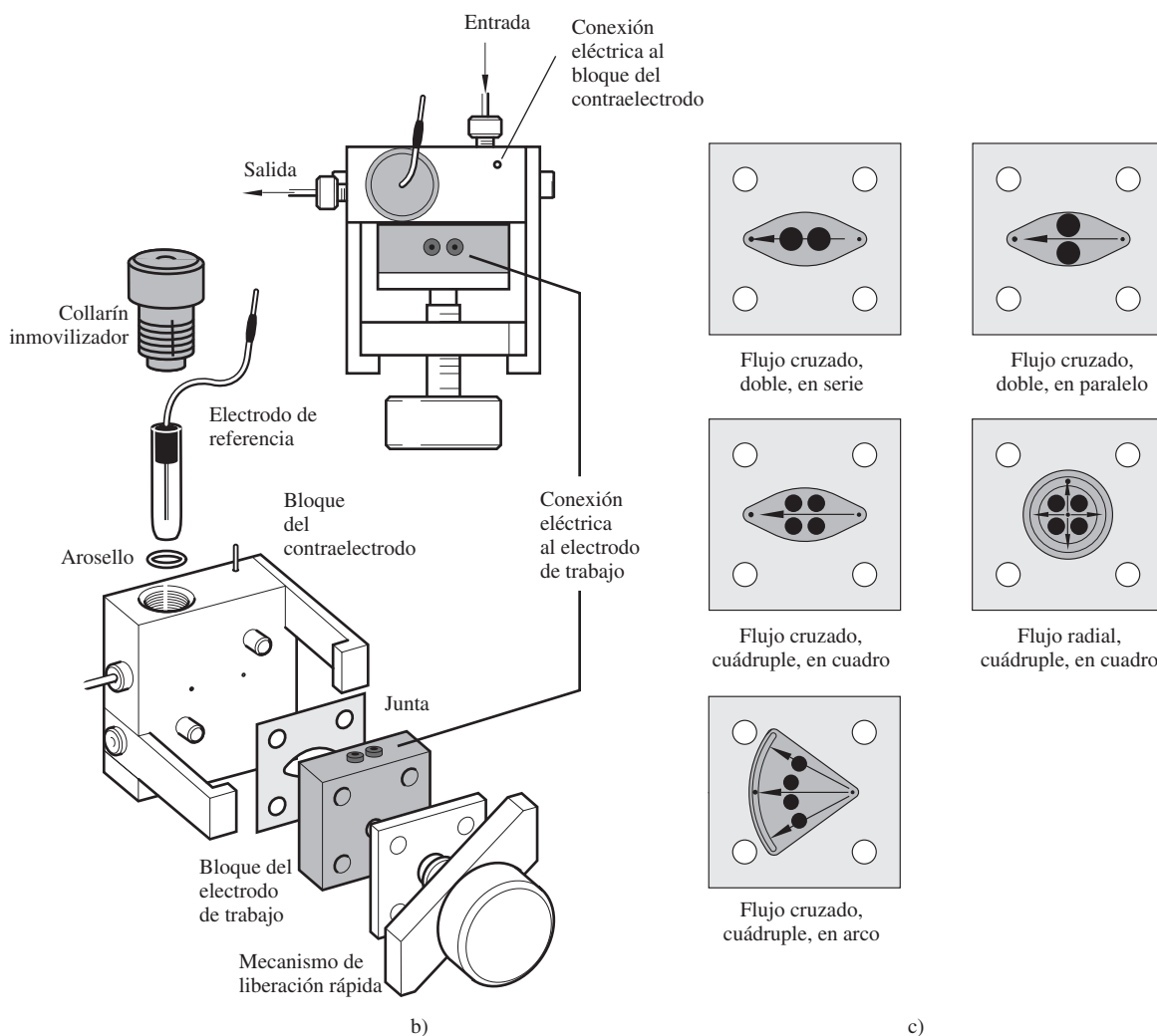


FIGURA 25.17 (continuación) b) Detalle de un ensamblaje de una celda de flujo comercial. c) Configuraciones de los bloques de los electrodos de trabajo. Las flechas indican la dirección del flujo en la celda. ([b] y [c] cortesía de Bioanalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN.)

grafía líquida o por métodos de inyección de flujo.¹⁶ En estas aplicaciones se utiliza una celda de capa delgada tal como la que se muestra en el esquema de la figura 25.17a. En estas celdas el electrodo de trabajo está incrustado en la pared de un bloque aislante que está separado del contraelectrodo por medio de una junta delgada tal como se muestra. El volumen de una celda de este tipo es de ordinario de 0.1 a 1 μL . Un voltaje

correspondiente a la región de corriente limitante de los analitos se aplica entre el electrodo de trabajo y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata que está situado corriente abajo del detector. En la figura 25.17b se ilustra una vista esquemática de una celda de flujo comercial, en la cual se puede ver con claridad la manera en que la celda emparedada se ensambla y se sostiene en su lugar por medio de un mecanismo de liberación rápida. Un collarín inmovilizador en el bloque del contraelectrodo, que está conectado eléctricamente al potencióstato, retiene al electrodo de referencia. En la figura 25.17c se muestran cinco configuraciones distintas del electrodo de trabajo. Estas configuraciones permiten mejorar la sensibilidad del detector en una variedad de condiciones experimentales. Los bloques del electrodo de trabajo y los materiales de los

¹⁶ Los detectores voltamétricos son un tipo particular de transductores denominados *transductores de corriente limitante*. En este análisis y en los siguientes que versen sobre transductores voltamétricos se utilizará el término mucho más familiar de *detector voltamétrico*. Cuando un transductor voltamétrico selecciona una especie en particular en virtud del control de diferentes variables experimentales o cuando está cubierto con una capa de polímero químicamente selectiva u otro material de membrana, se le denominará *sensor voltamétrico*. Para un análisis de los transductores, los detectores, los sensores y sus definiciones, véase la sección 1C.4.

electrodos se describen en la sección 25B.1. Este tipo de aplicación de la voltimetría o de la amperometría tiene límites de detección de hasta 10^{-9} a 10^{-10} M. La detección voltamétrica para la cromatografía líquida se trata con más detalle en la sección 28C.6.

Sensores voltamétricos y amperométricos

En la sección 23F.2 se explicó la manera en que se puede intensificar la capacidad para discriminar de los sensores potenciométricos mediante la aplicación de capas de identificación molecular a las superficies de los electrodos. En años recientes se han efectuado muchas investigaciones acerca de la aplicación de los mismos conceptos a los electrodos voltamétricos.¹⁷ En el comercio hay una diversidad de sistemas voltamétricos para identificar una especie específica en aplicaciones industriales, biomédicas, ambientales y de investigación. Estos dispositivos se llaman a veces electrodos o detectores, pero de hecho son celdas voltamétricas completas y es mejor llamarlos sensores. En las secciones siguientes se describen dos sensores de los que se encuentran en el comercio y uno que está en etapa de perfeccionamiento en este campo de rápida expansión.

Sensores de oxígeno. La determinación del oxígeno disuelto en una gran variedad de medios acuosos, como agua de mar, sangre, aguas residuales, desechos de plantas químicas y suelos, es de gran importancia para la industria, para la investigación biomédica y ambiental y para la medicina clínica. Uno de los métodos más comunes y adecuados para efectuar dichas mediciones es el empleo del sensor de oxígeno de Clark, que fue patentado por L. C. Clark Jr. en 1956.¹⁸ En la figura 25.18 se muestra un esquema de este dispositivo. La celda consta de un electrodo de trabajo que actúa de cátodo y que es un disco de platino incrustado en el centro de un aislante cilíndrico. Alrededor de la parte inferior de este aislante hay un ánodo de plata en forma de anillo. El aislante tubular y los electrodos se montan en el interior de un segundo cilindro que contiene una solución amortiguadora de cloruro de potasio. Al final de la parte inferior del tubo se mantiene en su lugar mediante un arosello una delgada membrana ($\sim 20 \mu\text{m}$), de Teflon o de polietileno, reemplazable y permeable al oxígeno. El espesor de la solución de electrolito entre el cátodo y la membrana es de casi $10 \mu\text{m}$.

Cuando el sensor de oxígeno se sumerge en una solución del analito que fluye o está agitada, el oxígeno

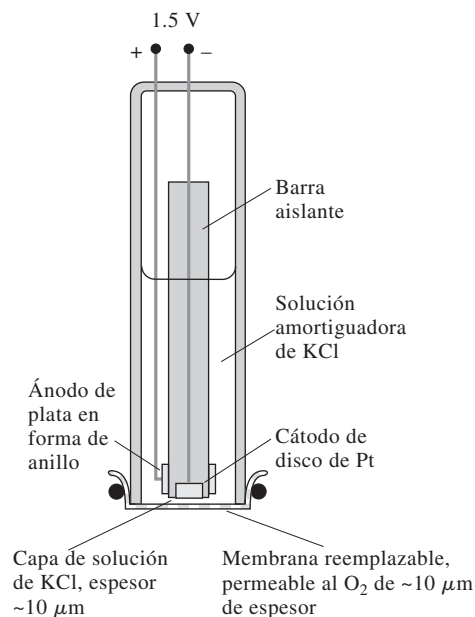


FIGURA 25.18 Sensor de Clark voltamétrico de oxígeno. Reacción en el cátodo: $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$. Reacción en el ánodo: $\text{Ag} + \text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{AgCl(s)} + \text{e}^-$.

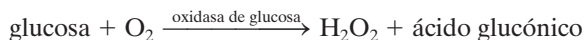
se difunde a través de la membrana hasta la capa delgada de electrolito inmediatamente adyacente al cátodo de disco, desde donde se difunde hacia el electrodo donde es reducido inmediatamente a agua. A diferencia de un electrodo hidrodinámico normal, en este caso hay dos procesos de difusión, a saber, uno a través de la membrana y el otro a través de la solución entre la membrana y la superficie del electrodo. Para que se alcance la condición de estado estable en un periodo razonable (10 a 20 s), el espesor de la membrana y de la película de electrolito debe ser de unos $20 \mu\text{m}$ o menos. En estas condiciones, la velocidad de equilibrio de la transferencia de oxígeno a través de la membrana es la que determina la corriente de estado estable que se alcanza.

Sensores enzimáticos. A escala comercial se ofrece un cierto número de sensores voltamétricos enzimáticos. Un ejemplo es el sensor de glucosa que se utiliza mucho en los laboratorios clínicos para determinar en forma rutinaria la glucosa en suero sanguíneo. La construcción de este dispositivo es similar a la del sensor de oxígeno que se observa en la figura 25.18. La membrana en este caso es más compleja y consta de tres capas. La externa es una película de policarbonato permeable a la glucosa, pero impermeable a las proteínas y a otros constituyentes de la sangre. La capa intermedia es una enzima inmovilizada (véase la sección 23F.2), en este caso glucosa oxidasa. La capa interna es una membrana de acetato de celulosa permeable a moléculas pe-

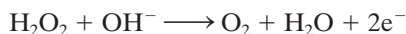
¹⁷Para una revisión detallada de los sensores electroquímicos, consulte E. Bakker y Yu Qin, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3965.

¹⁸Para un análisis minucioso del sensor de oxígeno de Clark véase M. L. Hitchman, *Measurement of Dissolved Oxygen*, caps. 3-5, Nueva York: Wiley, 1978.

queñas, como el peróxido de hidrógeno. Cuando este dispositivo se sumerge en una solución que contiene glucosa, ésta se difunde a través de la membrana externa hacia la enzima inmovilizada, donde tiene lugar la siguiente reacción catalítica:



El peróxido de hidrógeno se difunde a través de la capa interna de la membrana hacia la superficie del electrodo, donde se oxida y se obtiene oxígeno. Es decir,



La corriente resultante es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la solución de analito. Una variación de este tipo de sensor se observa a menudo en los medidores de glucosa que los enfermos de diabetes usan en el hogar. Este instrumento es uno de los de mayor venta en todo el mundo.¹⁹

También hay otros sensores que se basan en mediciones voltamétricas del peróxido de hidrógeno producido por oxidaciones enzimáticas de otras especies de interés clínico. Entre estos analitos están la sacarosa, la lactosa, el etanol y el L-lactato. Por supuesto, para cada caso se requiere una enzima diferente. En algunos casos los electrodos enzimáticos se basan en la medición del oxígeno o en la del pH, como se explica en la sección 23F.2.

Inmunosensores. La capacidad de discriminación de los sensores se logra mediante elementos de reconocimiento molecular que reaccionan exclusivamente con el analito. Los anticuerpos son proteínas que poseen una afinidad excepcional hacia ciertos analitos y son los elementos de identificación que se usan con más frecuencia en los *inmunosensores*.²⁰ Éstos se fabrican mediante anticuerpos inmovilizantes que se ubican en la superficie del sensor mediante adsorción, enlace covalente, captación de polímeros u otros métodos.

Los inmunosensores se usan en una gran variedad de formatos de ensayo. Uno de los métodos más comunes utiliza dos anticuerpos, uno que está inmovilizado en la superficie del sensor y sirve para capturar el analito objetivo, y uno que está marcado y se usa para detectar el analito capturado (un *ensayo de emparedado*). Por lo común los radionúclidos se han usado como marcadores en los inmunoensayos, pero ya han sido reemplazados por marcadores más convenientes, como las moléculas fluorescentes y las enzimas. Por consi-

guiente, los inmunosensores pueden usar una variedad de métodos de detección, como técnicas ópticas y electroquímicas. Más recientemente han surgido inmunosensores sin marcadores con base en la resonancia piezoeléctrica (sección 1C.4), del plasmón superficial (sección 21E.1) y otras estrategias de detección.

En la figura 25.19 se ilustra un esquema y un biosensor amperométrico con el que se determinan proteínas específicas mediante un ensayo de emparedado.²¹ En este esquema (figura 25.19a), se inmoviliza un anticuerpo aceptable para el analito deseado sobre la superficie de un electrodo (A). En este ejemplo, el anticuerpo está inmovilizado por adsorción física.²² Cuando el electrodo está en contacto con una solución que contiene al analito, que se representa con triángulos grises en la figura, se une de preferencia con el anticuerpo (B). Entonces, el electrodo se enjuaga y se pone en contacto con un segundo anticuerpo que ha sido marcado, el cual se indica con las estrellas de la figura (C). En este ejemplo el anticuerpo está marcado con la enzima fosfatasa alcalina, la cual cataliza la conversión de difosfato de hidroquinona en hidroquinona. Cuando se aplica un voltaje de 320 mV contra Ag-AgCl al electrodo de trabajo, la hidroquinona sufre una oxidación de dos electrones hasta llegar a quinona (D). La corriente resultante es directamente proporcional a la concentración original del analito.

La figura 25.19b es una fotografía de una configuración de biosensores que se usa para efectuar el inmunoestudio descrito en el párrafo anterior. El biosensor está constituido de electrodos y cada uno de ellos es un inmunosensor independiente. Esta configuración permite determinar de manera simultánea una gran cantidad de proteínas. Este dispositivo está fabricado con vidrio mediante técnicas fotolitográficas, que son muy comunes en la industria de los semiconductores. En este procedimiento, el sustrato de vidrio fue modelado con un polímero (fotoprotector) que se elimina con facilidad mediante un solvente. El patrón del polímero era el negativo del patrón de los electrodos. Luego se depositó iridio (~100 nm) sobre todo el sustrato mediante depósito o pulverización electrónica. Luego se quitó el polímero para dejar el iridio y los contraelectrodos en el sustrato. El electrodo de referencia se preparó con un procedimiento similar pero con depósito de plata, y se terminó mediante depósito electroquímico de AgCl a partir de una solución que contenía KCl y Ag⁺. El dispositivo se cubrió con una película de

¹⁹ Véase en la figura 33.19 una fotografía de un medidor de glucosa doméstico y en la sección 33D.3 un análisis de los distintos analizadores clínicos.

²⁰ Una revisión de los principios y las aplicaciones de los inmunosensores se encuentra en P. B. Lippa, L. J. Sokoll y D. W. Chan, *Clinica Chimica Acta*, **2001**, 314, p. 1.

²¹ M. S. Wilson y W. Nie, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 2507.

²² Para un análisis de los términos y definiciones relacionados con los electrodos químicamente modificados, véase R. A. Durst, A. J. Baumner, R. W. Murray, R. P. Buck y C. P. Andrieux, *Pure and Applied Chemistry*, **1997**, 69, p. 1317. <http://www.iupac.org/publications/pac/1997/pdf/6906x1317.pdf>.

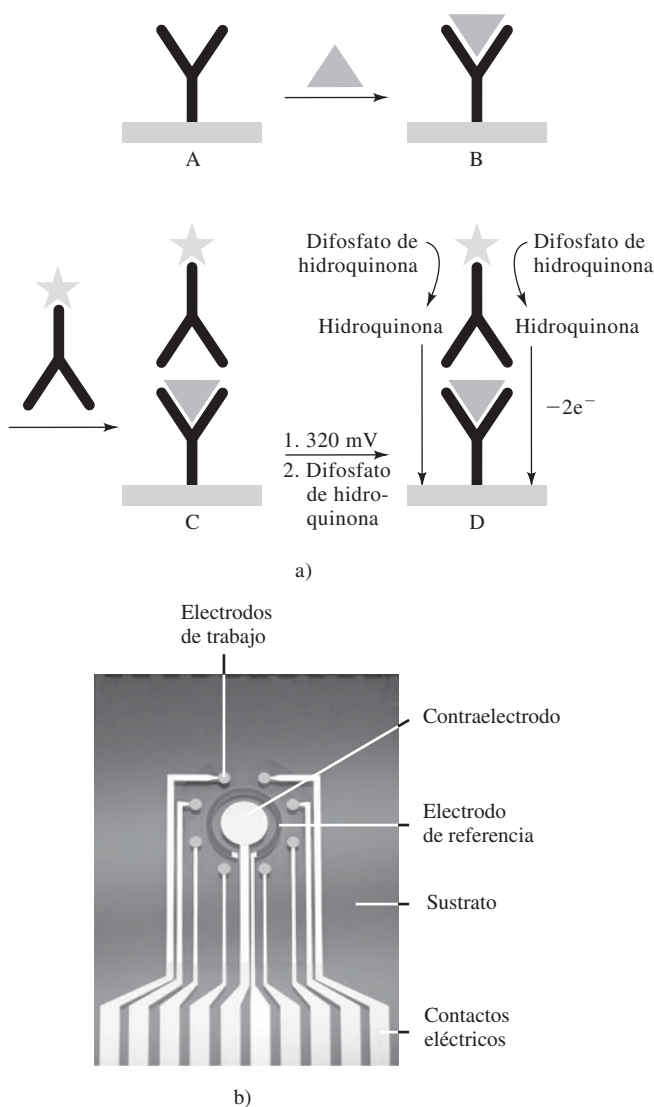


FIGURA 25.19 a) A: electrodo que contiene un anticuerpo inmovilizado (Y); B: enlace del analito objetivo (▼) con el anticuerpo unido al electrodo; C: enlace del anticuerpo marcado con fosfatasa alcalina con el analito unido al electrodo; D: aplicación de 320 mV al electrodo y adición de difosfato de hidroquinona. La oxidación electroquímica de la hidroquinona generada con la fosfatasa alcalina produce una corriente en el electrodo que es proporcional a la cantidad de analito enlazado al electrodo.

b) Fotografía del biosensor en la que se muestra la configuración de los electrodos de trabajo de IrOx de 1 mm de diámetro, contraelectrodo de 4 mm de diámetro, electrodo de referencia de Ag-AgCl de 7 mm de diámetro exterior y contactos eléctricos en el sustrato (28 × 35 × 1 mm). No se ilustra el pozo para la muestra. (Adaptación de M. S. Wilson y W. Nie, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 2507, con autorización de la American Chemical Society.) Imagen reimpressa y autorizada de *Anal. Chem.* Copyright 2006 American Chemical Society.

polímero aislante, pero se dejaron expuestas las áreas del electrodo y de contacto, y por último se instaló un pozo cilíndrico de policarbonato, que no se muestra, sobre los electrodos para colocar la solución del analito.

Después, los electrodos de trabajo de Ir de 0.785 mm² fueron activados electroquímicamente para formar una capa de óxido de iridio en cada uno. El óxido poroso aumentó para incrementar el área superficial disponible para la inmovilización del anticuerpo sobre el electrodo. Las gotas de solución que contienen los anticuerpos adecuados se vierten en los electrodos de trabajo y el dispositivo se deja incubar a 4°C para finalizar la inmovilización.

Los análisis se efectuaron con muestras de suero que contenían una mezcla de IgG de cabra, IgG de ratón, IgG de humano y anticuerpos IgY de pollo (0 a 125 ng/mL). En este estudio los analitos objetivo también eran anticuerpos (IgG e IgY), por lo que los anticuerpos de captación y de detección fueron anticuerpos hacia anticuerpos (antiIgG y antiIgY). Las soluciones de analito se añadieron al pozo del sensor, seguidas por una mezcla de anticuerpos de detección. Con el fin de efectuar las mediciones electroquímicas, el biosensor se conectó a un potenciostato multicanal controlado por computadora mediante los contactos de la orilla del dispositivo, y las mediciones de la corriente se efectuaron en los ocho electrodos de trabajo.

La precisión de las mediciones varió desde 1.9 a 8.2% de desviación estándar relativa, y el límite de detección fue de 3 ng/mL para todos los analitos. Sin lugar a dudas los resultados son muy superiores (diferencia de 2.4 a 6.5%) a los que se obtienen con los estudios comerciales de un solo analito en los que se aplican ensayos espectroscópicos inmunoabsorbentes ligados con enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés). En esta aplicación se determinaron cuatro analitos por duplicado, pero cualquier combinación de hasta ocho de ellos se puede determinar de modo simultáneo. Se prevé que cuando el biosensor del dispositivo esté acoplado con un sistema de microfluidos (sección 33C) para manejo de soluciones, el dispositivo se convertirá en una potente herramienta para la determinación rutinaria de esta importante clase de analitos bioquímicos.

Titulaciones amperométricas

La voltametría hidrodinámica se puede utilizar para calcular el punto de equivalencia de titulaciones si por lo menos uno de los participantes o de los productos de la reacción considerada se oxida o se reduce en el electrodo de trabajo. En este caso la corriente a un potencial fijo en la región de corriente limitante se mide en función del volumen de reactivo o del tiempo si el reactivo se genera por un proceso coulombimétrico a co-

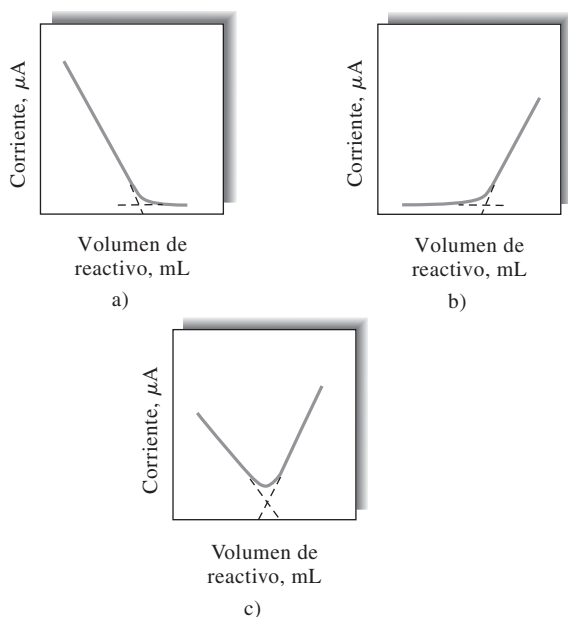


FIGURA 25.20 Curvas de titulación típicas: a) el analito se reduce, pero no el reactivo; b) el reactivo se reduce, pero no el analito; c) ambos se reducen.

Corriente constante. Las representaciones de los datos a ambos lados del punto de equivalencia son rectas con diferentes pendientes; el punto final se establece por extrapolación hasta la intersección de dichas rectas.²³

Por lo común las curvas de las titulaciones amperométricas adoptan las formas que se muestran en la figura 25.20. La figura 25.20a representa una titulación en la que el analito reacciona en el electrodo pero el reactivo no lo hace. La figura 25.20b es característica de una titulación en la que el reactivo reacciona en el electrodo de trabajo y el analito no. La figura 25.20c corresponde a una titulación en la que tanto el analito como el titulante reaccionan en el electrodo de trabajo.

Se utilizan dos tipos de sistemas de electrodos amperométricos. En uno se emplea un solo electrodo polarizable acoplado a uno de referencia; en el otro se utiliza un par de electrodos de estado sólido idénticos que están sumergidos en una solución agitada. En el primero, el electrodo de trabajo es a menudo un electrodo rotatorio de platino que se construye al introducir un alambre de platino en el interior de un tubo de vidrio que se sella y que está conectado a un motor que agita la solución.

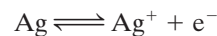
Con una notable excepción, las titulaciones amperométricas con un electrodo indicador se emplean nada más en los casos en que el producto es un precipitado o un complejo estable. Entre los reactivos precipitan-

tes están el nitrato de plata para los iones haluro, el nitrato de plomo para el ion sulfato y diversos reactivos orgánicos, como la 8-hidroxiquinolina, la dimetilglioxima y el cupferrón para diversos iones metálicos que son reducibles en los electrodos de trabajo. Se han determinado diversos iones metálicos por titulación con soluciones patrón de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA). La excepción antes señalada corresponde a titulaciones de compuestos orgánicos, como ciertos fenoles, aminas aromáticas, olefinas, hidracina, y arsénico(III) y antimonio(III) con bromo. A menudo, el bromo se genera por un proceso coulombimétrico. Asimismo se ha obtenido añadiendo una solución patrón de bromato de potasio a una solución ácida del analito, que contiene también un exceso de bromuro de potasio. El bromo se forma en el medio ácido por la reacción



Este tipo de valoración se lleva a cabo con un electrodo rotatorio de platino o con un par de electrodos de platino idénticos. No se observa corriente antes del punto de equivalencia; pero después de éste tiene lugar un rápido aumento de la corriente debido a la reducción electroquímica del exceso de bromo.

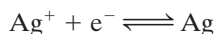
Hay dos ventajas en el uso de un par de electrodos metálicos idénticos para establecer el punto de equivalencia en las titulaciones amperométricas: la sencillez del equipo y no tener que comprar o preparar y dar mantenimiento a un electrodo de referencia. Este tipo de sistema se ha incorporado a los instrumentos diseñados para determinaciones automáticas rutinarias de una sola especie, por lo regular con un reactivo generado por un proceso coulombimétrico. A menudo, un instrumento de este tipo se usa para la determinación automática de cloruro en muestras de suero, sudor, extracto de tejidos, plaguicidas y productos alimenticios. En este caso, el reactivo es el ion plata generado en forma coulombimétrica a partir de un ánodo de plata. Se aplica 0.1 V entre un par de electrodos idénticos de plata que sirven como sistema indicador. Excepto por el punto de equivalencia en la titulación del ion cloruro, no hay prácticamente corriente porque ninguna especie electroactiva está presente en la solución. Por esta razón, no hay transferencia de electrones en el cátodo y el electrodo está completamente polarizado. Observe que el ánodo no está polarizado porque la reacción



tiene lugar en presencia de un reactivo catódico adecuado o de un despolarizador.

²³ S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, pp. 214-218.

Pasado el punto de equivalencia, el cátodo se despolariza debido a la presencia de iones plata, que pueden reaccionar para dar plata. Es decir,



Esta semirreacción y la oxidación correspondiente de la plata en el ánodo producen una corriente cuya magnitud, al igual que en otros métodos amperométricos, es directamente proporcional a la concentración del exceso de reactivo. Por consiguiente, la curva de titulación es similar a la que se muestra en la figura 25.20b. En el titulador automático que se acaba de mencionar, un circuito electrónico detecta la señal de corriente y detiene la corriente del generador coulombimétrico. Entonces, la concentración de cloruro se calcula a partir de la magnitud de la corriente de titulación y del tiempo de generación. El instrumento tiene un intervalo de 1 a 999.9 mM de Cl⁻ por litro, una precisión relativa del 0.1% y una exactitud de 0.5%. Los tiempos de titulación característicos son de 20 s.

El método más común para detectar el punto final de la titulación de Karl Fischer para determinar agua (véase la sección 24D.1) es el método amperométrico con electrodos polarizados dobles. Varios fabricantes ofrecen instrumentos totalmente automáticos para usarlos al efectuar estas titulaciones. Un método muy parecido al de las titulaciones de Karl Fischer mide la diferencia de potencial entre dos electrodos idénticos a través de los cuales pasa una corriente pequeña y constante.

Electrodos giratorios

Para llevar a cabo estudios teóricos de reacciones de oxidación-reducción, a menudo es interesante conocer de qué manera se ve afectado el término k_A de la ecuación 25.6 por las condiciones hidrodinámicas del sistema. Un método común para obtener una descripción rigurosa del flujo hidrodinámico de una solución agitada se basa en mediciones efectuadas con un electrodo de disco rotatorio como el que se ilustra en la figura 25.21a y b. Cuando el electrodo de disco gira con rapidez, se establece el modelo de flujo que señalan las flechas en la figura. En este caso, el líquido que está en la superficie del disco se mueve hacia afuera en dirección horizontal desde el centro del dispositivo, lo que da lugar a un flujo axial hacia arriba para compensar el líquido desplazado. En este caso es posible plantear un tratamiento riguroso²⁴ de la hidrodinámica, el cual origina la *ecuación de Levich*²⁵

$$i_l = 0.620 n F A D \omega^{1/2} \nu^{-1/6} c_A \quad (25.15)$$

²⁴ A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001, pp. 335-339.

²⁵ V. G. Levich, *Acta Physicochimica URSS*, **1942**, 17, p. 257.

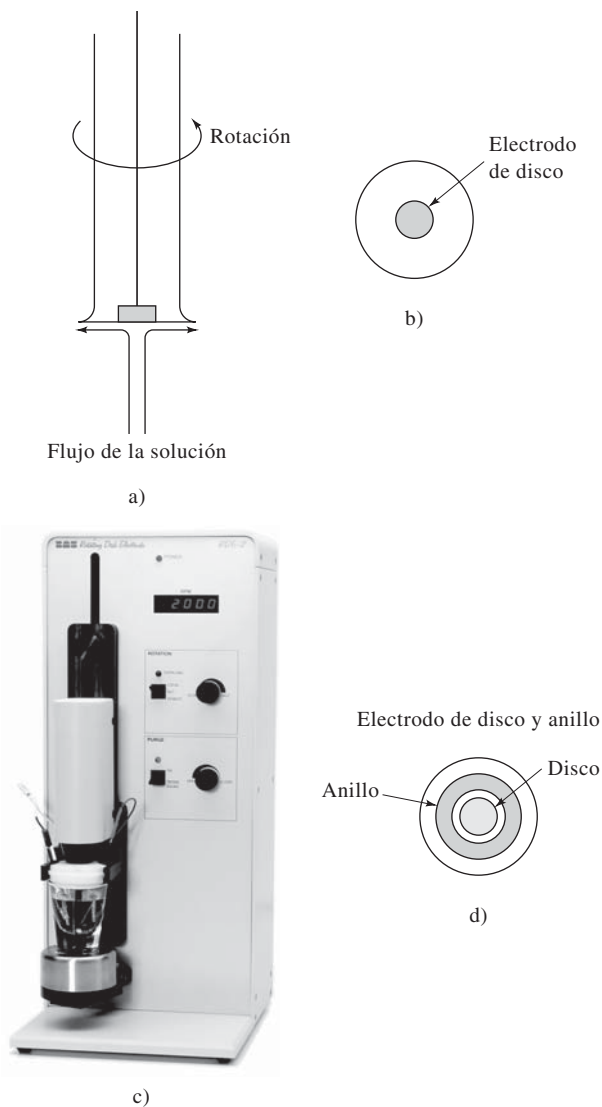


FIGURA 25.21 a) Vista lateral de un electrodo de disco giratorio que muestra el modelo de flujo de la solución. b) Vista de la base de un electrodo de disco. c) Fotografía de un electrodo de disco giratorio. (Cortesía de Bioanalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN.) d) Vista de la base de un electrodo de disco y anillo.

Los términos n , F , A y D en esta ecuación tienen el mismo significado que en la ecuación 25.5, ω es la velocidad angular del disco en radianes por segundo y ν es la *viscosidad cinemática* en cm^2/s , que es la relación entre la viscosidad de la solución y su densidad. Los voltamogramas de los sistemas reversibles tienen por lo regular la forma ideal que se muestra en la figura 25.6. Se han llevado a cabo numerosos estudios de las características cinéticas y de los mecanismos de las reacciones electroquímicas con electrodos de disco giratorio. Un experimento común con un electrodo giratorio de disco es estudiar la dependencia de i_l respecto a $\omega^{1/2}$.

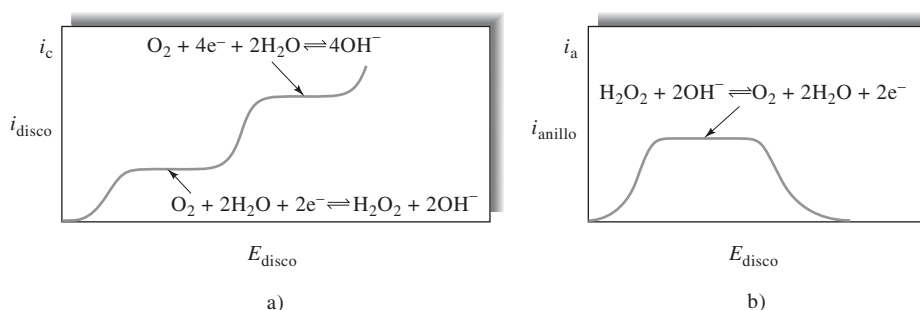


FIGURA 25.22 Corriente en disco a) y anillo b) para la reducción de oxígeno en el electrodo de disco y anillo giratorios. (Tomado de *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heineman, ed., p. 117, Nueva York: Dekker, 1996. Con autorización.)

La gráfica de i_l contra $\omega^{1/2}$ se conoce como *gráfica de Levich* y las desviaciones respecto a la relación lineal indican con frecuencia limitaciones cinéticas del proceso de transferencia de electrones. Por ejemplo, si i_l llega a ser independiente de ω a valores elevados de $\omega^{1/2}$, la corriente no está limitada por el transporte de masa de la especie electroactiva hasta la superficie del electrodo, en cambio, la velocidad de reacción es el factor limitante. Los electrodos de disco giratorio, tal como el modelo comercial versátil que se muestra en la figura 25.21c, han generado un interés renovado en años recientes en relación con estudios fundamentales y analíticos cuantitativos a medida que se desvanecía el entusiasmo por el electrodo de gota de mercurio (polarografía). La detección con electrodo de disco giratorio con un electrodo de película de mercurio recibe a veces el nombre de *pseudopolarografía*.

El *electrodo de anillo-disco* giratorios es un electrodo de disco giratorio modificado, que es útil para el estudio de reacciones de electrodo, pero que tiene poca utilidad en análisis. La figura 25.21d muestra que un electrodo de anillo-disco contiene un segundo electrodo en forma de anillo que está eléctricamente aislado del disco central. Después de que se genera la especie electroactiva en el disco, es barrida hacia el anillo en donde sufre una segunda reacción electroquímica. En la figura 25.22 se muestran los voltamogramas de un experimento típico de anillo y disco. La curva de la izquierda es el voltamograma que se obtiene en la reducción del oxígeno a peróxido de hidrógeno en el electrodo de disco. La curva de la derecha es el voltamograma *anódico* para la oxidación del peróxido de hidrógeno cuando su flujo pasa por el electrodo de anillo. Observe que cuando el potencial del electrodo de disco se vuelve lo bastante negativo para que el producto de la reducción sea el hidróxido en vez del peróxido de hidrógeno, la corriente en el electrodo de anillo disminuye a cero. Estudios de este tipo proporcionan mucha información útil sobre mecanismos y productos intermedios en reacciones electroquímicas.

25D VOLTAMETRÍA CÍCLICA

En *voltametría cíclica* (VC),²⁶ la respuesta de corriente en un electrodo estacionario pequeño colocado en una solución no agitada es provocada por una señal de potencial de forma de onda triangular, como la que se muestra en la figura 25.23. En este ejemplo, el potencial varía primero linealmente desde +0.8 V a -0.15 V frente a un electrodo de calomel saturado. Cuando se alcanza el valor extremo de -0.15 V, el sentido del barrido se invierte y el potencial vuelve a su valor original de +0.8 V. La velocidad de barrido en ambas direcciones es de 50 mV/s. A menudo, este ciclo de excitación se repite varias veces. Los voltajes extremos a los cuales tiene lugar la inversión (en este caso, -0.15 y +0.8 V) se llaman *potenciales de inversión*. El intervalo de potenciales de inversión elegido para un experimento

²⁶ Para revisiones breves, véase P. T. Kissinger y W. R. Heineman, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, p. 702; D. H. Evans, K. M. O'Connell, T. A. Petersen y M. J. Kelly, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, p. 290.

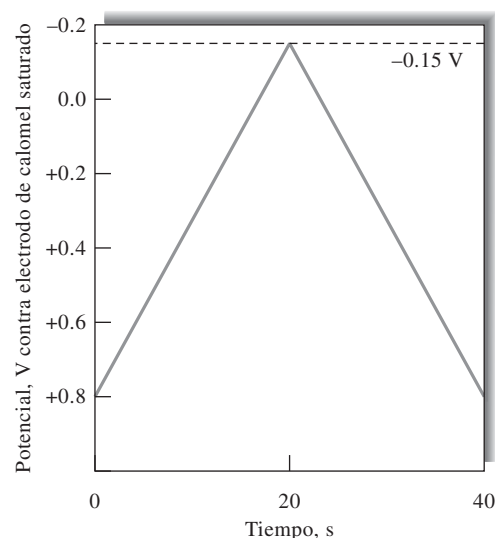
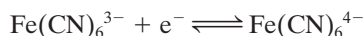


FIGURA 25.23 Señal de excitación en voltametría cíclica.

dado es aquel en el que tiene lugar la oxidación o la reducción controladas por difusión de uno o más analitos. La dirección del barrido inicial puede ser negativa, tal como se muestra, o positiva, lo cual depende de la composición de la muestra. (Un barrido en la dirección de potenciales más negativos se denomina *barrido directo* y uno en la dirección opuesta se llama *barrido inverso*). En general, los tiempos del ciclo oscilan desde 1 ms o menos hasta 100 s o más. En este ejemplo, el ciclo es de 40 s.

La figura 25.24b muestra la respuesta de la corriente cuando una solución 6 mM de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y 1 M de KNO_3 se somete a la señal de excitación cíclica que se muestra en las figuras 25.23 y 25.24a. El electrodo de trabajo es un electrodo de platino pulido estacionario y el de referencia es un electrodo de calomel saturado. Al potencial inicial de +0.8 V, se observa una pequeñísima corriente anódica que inmediatamente llega a cero cuando continúa el barrido. Esta corriente negativa inicial proviene de la oxidación del agua para dar oxígeno. (A potenciales más positivos, esta corriente aumenta con rapidez y se hace bastante grande a casi +0.9 V). No se observa ninguna corriente entre un potencial de +0.7 y +0.4 V ya que no hay especie reducible ni oxidable en este intervalo de potencial. Cuando el potencial alcanza valores menos positivos que +0.4 V, se empieza a formar una corriente catódica (punto B) debido a la reducción del ion hexacianoferrato(III) a ion hexacianoferrato(II). La reacción en el cátodo es entonces



En la región entre B y D tiene lugar un rápido aumento de la corriente a medida que la concentración superficial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ se hace cada vez menor. La corriente del pico se debe a dos componentes. Uno es la corriente inicial transitoria necesaria para ajustar la concentración superficial de reactivo a su concentración de equilibrio dada por la ecuación de Nernst. El segundo es la corriente controlada por la difusión normal. La primera corriente disminuye rápidamente (puntos D a F) a medida que la capa de difusión se extiende más y más lejos de la superficie del electrodo (véase también la figura 25.10b). En el punto F (−0.15 V) se invierte la dirección del barrido. Pero la corriente continúa siendo catódica aun cuando el barrido se dirige a potenciales más positivos porque los potenciales actuales son todavía lo suficientemente negativos para producir la reducción del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Una vez que el po-

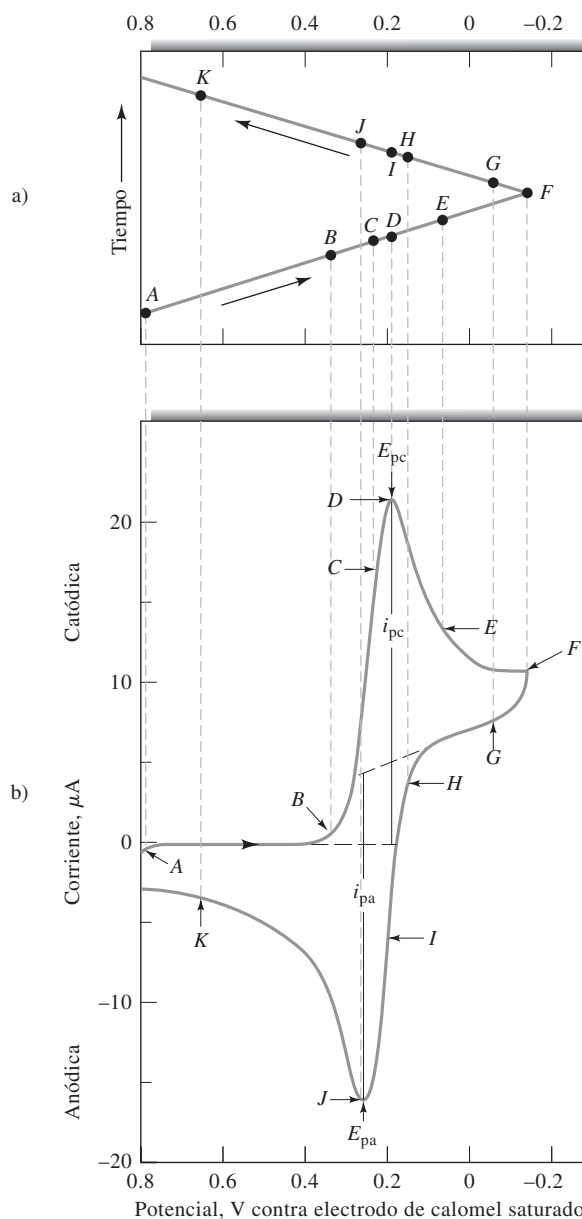


FIGURA 25.24 a) Potencial contra forma de onda en el tiempo y b) voltamograma cíclico de una solución 6.0 mM de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y 1.0 M de KNO_3 . (Tomado de P. T. Kissinger y W. H. Heineman, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, p. 702. Copyright 1983; Division of Chemical Education, Inc.)

tencial se hace más positivo, la reducción del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ya no ocurre con el paso del tiempo y la corriente cae a cero, entonces llega a ser anódica. La corriente anódica resulta de la reoxidación del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ que se ha acumulado cerca de la superficie durante el barrido directo. Esta corriente anódica alcanza un máximo y después disminuye a medida que el $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ acumulado se consume en la reacción anódica.



Simulación: aprenda más acerca de la **voltametría cíclica**.

Las variables importantes en un voltamograma cíclico son el potencial catódico pico E_{pc} , el potencial anódico pico E_{pa} , la corriente catódica pico i_{pc} , y la corriente anódica pico i_{pa} . Estos parámetros se definen y se miden tal como se muestra en la figura 25.24. En el caso de una reacción de electrodo reversible, las corrientes pico anódica y catódica son aproximadamente iguales en valor absoluto, pero de signo opuesto. En una reacción electródica reversible a 25°C, la diferencia de los potenciales de pico, ΔE_p es de esperarse que sea

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0.0592/n \quad (25.16)$$

donde n es el número de electrones que participan en la semirreacción. La irreversibilidad debido a las propiedades cinéticas de la transferencia de electrones da como resultado una ΔE_p que sobrepasa el valor esperado. Aunque una reacción de transferencia de electrones podría parecer reversible a una velocidad de barrido baja, el aumento de dicha velocidad podría ocasionar el incremento de valores de ΔE_p , un indicio seguro de irreversibilidad. Por tanto, para detectar una cinética de transferencia de electrones baja y obtener constantes de velocidad, ΔE_p se mide para distintas velocidades de barrido.

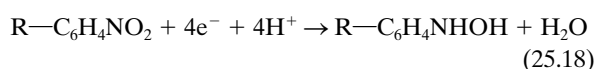
La información cuantitativa se obtiene a partir de la ecuación de Randles-Sevcik, que a 25°C es

$$i_p = 2.686 \times 10^5 n^{3/2} A c D^{1/2} v^{1/2} \quad (25.17)$$

donde i_p es la corriente máxima o pico (A), A es el área del electrodo (cm^2), D es el coeficiente de difusión (cm^2/s), c es la concentración (mol/cm^3) y v es la velocidad de barrido (V/s). La voltametría cíclica ofrece una manera de determinar los coeficientes de difusión si se conoce la concentración, el área del electrodo y la velocidad de barrido.

25D.1 Estudios fundamentales

La aplicación principal de la voltametría cíclica es como herramienta para estudios básicos y diagnósticos que proporciona información cualitativa sobre procesos electroquímicos en diversas condiciones. A modo de ejemplo, considere el voltamograma cíclico del insecticida agrícola paratión que se muestra en la figura 25.25.²⁷ Los potenciales de inversión son alrededor de -1.2 V y $+0.3$ V. Sin embargo, el barrido directo inicial empezó a 0.0 V y no a $+0.3$ V. Se observaron tres picos. El primer pico catódico (A) proviene de la reducción de cuatro electrones del paratión para dar un derivado de la hidroxilamina



²⁷ Esta discusión y el voltamograma se tomaron de W. R. Heineman y P. T. Kissinger, *Amer. Lab.*, **1982** (11), p. 29.

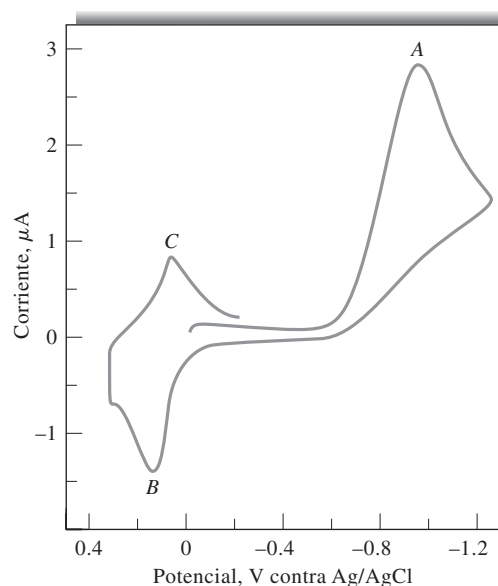
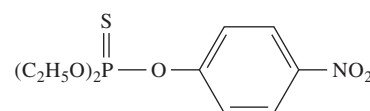
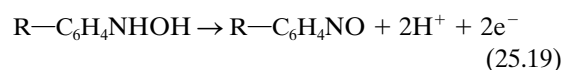
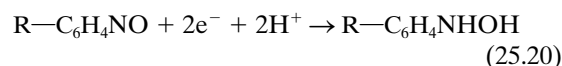


FIGURA 25.25 Voltamograma cíclico del insecticida paratión en una solución amortiguadora a pH 5 de acetato de sodio 0.5 M en etanol a 50%. Electrodo de gota colgante de mercurio. Velocidad de barrido: 200 m V/s. (Tomado de W. R. Heineman y P. T. Kissinger, *Amer. Lab.*, **1982**, 11, p. 34. Copyright 1982 por International Scientific Communications, Inc.)

El pico anódico en *B* proviene de la oxidación de la hidroxilamina en un derivado nitroso durante el barrido inverso. La reacción de electrodo es



El pico catódico en *C* resulta de la reducción del compuesto nitroso para obtener hidroxilamina como se muestra en la ecuación



Los voltamogramas cíclicos de muestras auténticas de los dos productos intermedios confirman las identidades de los compuestos que dan origen a los picos *B* y *C*.

La voltametría cíclica se usa ampliamente en química orgánica e inorgánica. A menudo, este método es la primera técnica que se selecciona para investigar un sistema con especies electroactivas. Por ejemplo, la voltametría cíclica se utilizó en la investigación del comportamiento de los electrodos modificados que se describió en la sección 25B.2 y que se muestra en la figura 25.5. Los voltamogramas cíclicos resultantes que

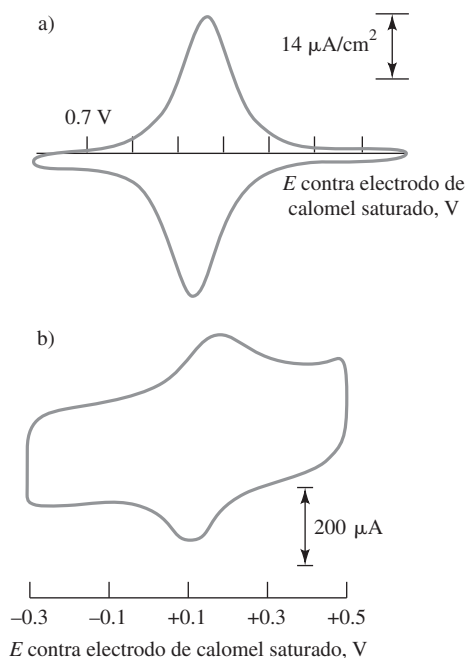


FIGURA 25.26 Voltamogramas cíclicos de los electrodos modificados que se muestran en la figura 25.5.

a) Voltamograma cíclico de un electrodo de Pt con ferroceno unido. (Con autorización de J. R. Lenhard y R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, p. 7870.) En b) voltamograma cíclico de un electrodo de grafito con unión py-Ru(NH₃)₅. (Con autorización de C. A. Koval y F. C. Anson, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, p. 223.)

se muestran en la figura 25.26 muestran los picos simétricos característicos de una pareja reversible redox superficial. Los voltamogramas cíclicos revelan la presencia de intermediarios en las reacciones de oxidación-reducción (por ejemplo, véase la figura 25.25). Con frecuencia se utilizan electrodos de platino en la voltametría cíclica; en el caso de potenciales negativos se pueden utilizar electrodos de película de mercurio. Entre otros materiales de gran aceptación para electrodos de trabajo están el carbono vítreo, pasta de carbono, grafito, oro, diamante y, recientemente,

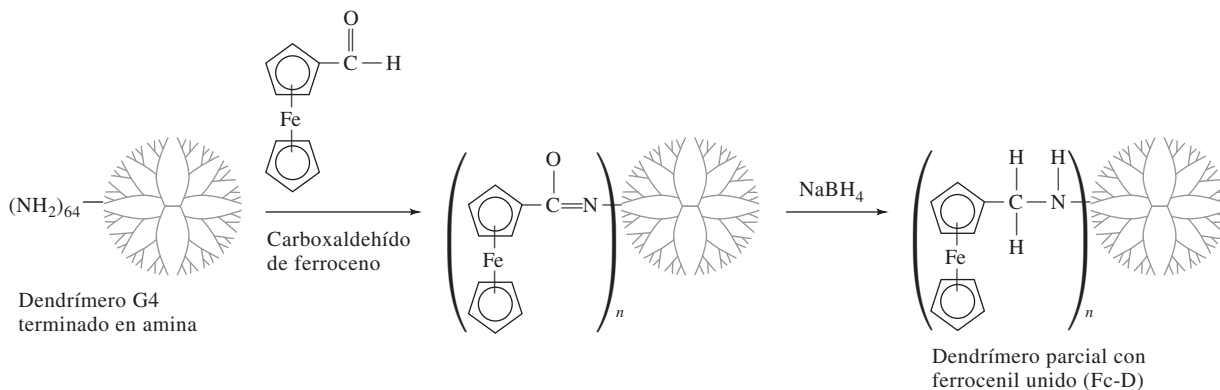
nanotubos de carbono. Los electrodos químicamente modificados, que se tratan en varias secciones de este capítulo, también se usan en la voltametría cíclica.

25D.2 Determinación de analitos mediante voltametría cíclica

La ecuación 25.17 muestra que las corrientes pico en la voltametría cíclica son directamente proporcionales a la concentración del analito. Es poco común usar corrientes máximas en voltametría cíclica para trabajos analíticos de rutina, pero en ocasiones dichas aplicaciones se publican y aparecen con frecuencia creciente. Como ya se mencionó, se están perfeccionando muchos electrodos modificados como biosensores. Un ejemplo es el inmunosensor tipo emparedado con enzima amplificada para detectar la interacción entre un antígeno y un anticuerpo con mediación redox para facilitar la transferencia de electrones.²⁸ En este esquema, una monocapa autoensamblada se une primero a la superficie de un electrodo de oro para lograr así una superficie uniforme con la funcionalidad aceptable para unir capas de biosensores posteriores. En la capa siguiente se sintetiza un dendrímero con ferrocenilos unidos, como se ilustra en los pasos de la reacción en la parte inferior de esta página, para proporcionar un mediador redox para lograr una transferencia de electrones efectiva (ferroceno). Un *dendrímero* es una molécula esférica de polímero que se sintetiza por etapas para formar capas de funcionalidad orgánica similares a las de una cebolla. Cada una de las capas sucesivas tiene un número mayor de sitios funcionales para unirse a moléculas objetivo.

Alrededor de 30% de los 64 grupos amino que están sobre la superficie del dendrímero está combinado en una reacción para la formación de imina con el carboxaldehído de ferroceno. Parte de los sitios restantes está disponible para enlazarse al elemento de identificación molecular, que en este ejemplo es biotina, en un

²⁸S. J. Kwon, E. Kim, H. Yang y J. Kwak, *Analyst*, **2006**, 131, p. 402.



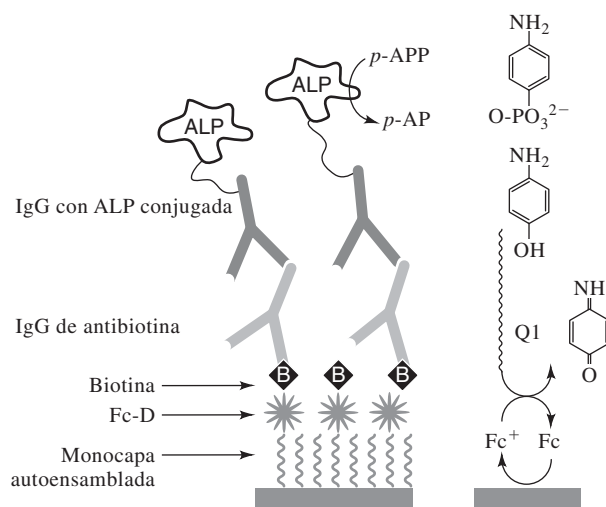


FIGURA 25.27 Esquema para ilustrar un inmunosensor de enzima amplificada que utiliza mediación redox de Fc-D. El analito IgG se muestra en gris claro. (Tomado de S. J. Kwon, E. Kim, H. Yang y J. Kwak, *Analyst*, **2006**, *131*, p. 402, con autorización.)

lado del dendrímero, y una parte unida a la monocapa autoensamblada en el otro.

En la figura 25.27 se muestra cómo la configuración de emparedado se ensambla en la superficie del electrodo de oro. La monocapa autoensamblada está constituida por una relación molar de 4:1 de mercaptoundecanol y ácido mercaptododecanoico, de modo que tiene sobre su superficie un grupo carboxilo por cada cuatro grupos hidroxilo. Entonces, el dendrímero con ferrocenil unido (Fc-D) se añade a la monocapa autoensamblada de modo que unos cuantos de los grupos amino restantes que están en la superficie del dendrímero reaccionan con los grupos carboxilo que están en la monocapa autoensamblada para unir el dendrímero a la superficie. El paso final en la preparación de la superficie del electrodo de trabajo es la adición de biotina que está químicamente modificada con el grupo *N*-hidroxisuccinimida; y la biotina modificada se combina con los grupos amino restantes en la superficie del dendrímero.

En el inmunoestudio de emparedado, el anticuerpo del analito (IgG de antibiotina en el ejemplo que se observa en la figura 25.27) se pone en contacto con el electrodo de trabajo donde se enlaza específicamente con la biotina sobre la superficie del dendrímero. Luego se adiciona IgG alcalina conjugada con fosfatasa y se enlaza específicamente con el analito. Entonces, el electrodo de trabajo se sumerge en una solución amortiguadora que contiene *p*-aminofenilfosfato (*p*-APP) 1 mM como se indica en la figura. La fosfatasa alcalina transforma a esta especie en *p*-aminofenol (*p*-AP), el

cual luego se difunde hacia la superficie del dendrímero. El ferroceno que está en la superficie del dendrímero se oxida hasta Fc^+ cuando se aplica un potencial anódico al electrodo de trabajo y entonces el Fc^+ oxida al *p*-aminofenol hasta que alcanza la estructura quinoido Q1 que se muestra en la figura. La magnitud de la corriente resultante es una medida de la concentración en la superficie del analito IgG.

Los voltamogramas cíclicos de electrodos de trabajo en presencia de anticuerpos distintos del IgG de antibiotina no produjeron picos anódicos. En el caso de soluciones de analito que contienen IgG de antibiotina, las corrientes máximas de voltametría cíclica fueron proporcionales a la concentración del analito y las curvas de trabajo dosis-respuesta resultado de graficar la corriente contra la concentración proporcionaron un recurso efectivo para terminar el inmunoensayo. El límite de detección es 0.1 $\mu\text{g/mL}$ y el intervalo de la técnica es 0.1 a 100 $\mu\text{g/mL}$ de IgG de antibiotina.

25D.3 Simulación digital de los voltamogramas cíclicos

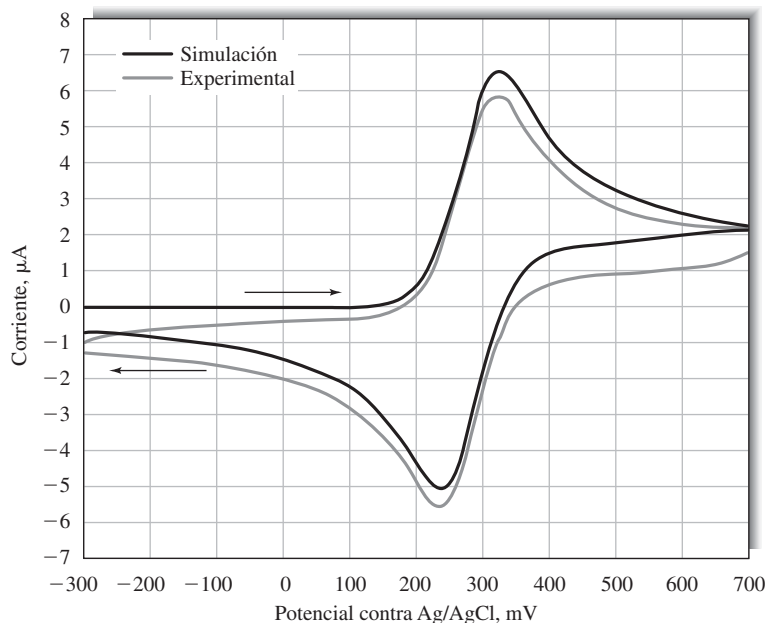
La simulación digital de los fenómenos químicos es una herramienta potente en investigaciones fundamentales. En las pasadas cuatro décadas se han publicado muchas aplicaciones de programas de computadora escritos por el usuario para simular una amplia gama de procesos electroquímicos.²⁹ En años recientes los investigadores y los estudiantes se han beneficiado de la disponibilidad comercial de paquetes de programas especializados como DigiSim®.³⁰ Este programa para PC se basa en el método rápido de diferencias finitas implícitas³¹ para simular voltamogramas cíclicos de cualquier mecanismo electroquímico que se pueda expresar en función de reacciones, simples o múltiples, de transferencia de electrones y simular reacciones químicas homogéneas de primero y segundo orden. Además, DigiSim tiene la capacidad de generar perfiles de concentración dinámica y mostrarlos usando una propiedad llamada CV-The Movie™. El programa ajusta datos simulados a datos experimentales que se pueden importar en una variedad de formatos de texto para efectuar comparaciones mediante procedimientos de mínimos cuadrados. Asimismo, puede simular diversas configuraciones de electrodos, de difusión

²⁹ B. Speiser en *Electroanalytical Chemistry*, A. J. Bard y I. Rubinstein, eds., vol. 19, Nueva York: Dekker, 1996, pp. 1-108.

³⁰ M. Cable y E. T. Smith, *Anal. Chim. Acta*, **2005**, *537*, p. 299; A. E. Fischer, Y. Show y G. M. Swain, *Anal. Chem.*, **2004**, *76*, p. 2553; E. T. Smith, C. A. Davis y M. J. Barber, *Anal. Biochem.*, **2003**, *323*, p. 114; en <http://www.epsilon-web.net/Ec/digisim/bibdig.html> hay una bibliografía completa sobre los principios y las aplicaciones de DigiSim.

³¹ M. Rudolph, D. P. Reddy y S. W. Feldberg, *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, p. 589A.

FIGURA 25.28 Voltamogramas cíclicos experimentales y simulados de 0.1 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ - $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en 1 M KCl en un electrodo comercial de diamante. (Según A. E. Fischer, Y. Show y G. M. Swain, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 2553 con autorización de la American Chemical Society.)



finita y transporte de masa hidrodinámica además de difusión casi infinita.

En la figura 25.28 se muestra un voltamograma cíclico experimental de la pareja $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ - $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en un electrodo de capa fina de diamante contaminada con boro comparado con un voltamograma cíclico simulado con DigiSim. Observe la buena concordancia en la forma general de los dos voltamogramas y la excelente correspondencia de E_{pc} y E_{pa} . La separación máxima $\Delta E_p = E_{pc} - E_{pa}$ se puede usar para determinar la constante de velocidad heterogénea estándar del proceso de transferencia de electrones. Las dos gráficas se compensan porque los datos experimentales contienen tanto contribuciones faradaicas como no faradaicas (de fondo) de la corriente, y la simulación representa sólo la corriente faradaica.

25E VOLTAMETRÍA DE PULSOS

Muchas de las limitaciones de la voltametría tradicional de barrido lineal fueron eliminadas con el perfeccionamiento de los métodos de pulsos. Se analizan las dos técnicas de pulsos más importantes, a saber, la *voltametría diferencial de pulsos* y la *voltametría de onda cuadrada*. La idea en la que se apoyan todos los métodos voltamétricos de pulsos es medir la corriente en el momento en el que sea grande la diferencia entre la curva faradaica deseada y la corriente de carga que interfiere. Estos métodos se usan con muy diferentes tipos de electrodos sólidos, el electrodo de gota colgante de mercurio y los electrodos giratorios (sección 25C.4).

25E.1 Voltametría diferencial de pulsos

En la figura 25.29 se muestran las dos señales de excitación más comunes que se utilizan en los instrumentos comerciales de voltametría diferencial de pulsos. La primera (figura 25.29a), que se utiliza en los instrumentos analógicos, se obtiene al superponer un pulso periódico sobre un barrido lineal. La segunda forma de onda (figura 25.29b), que se utiliza por lo regular en instrumentos digitales, es la suma de un pulso y una señal de escalera. En ambos casos se aplican pulsos pequeños, casi siempre de 50 mV, durante los últimos 50 ms del periodo de la señal de excitación.

Como se muestra en la figura 25.29, se toman en forma alternada dos mediciones de la corriente, una (en S1), 16.7 ms antes de aplicar el pulso de cd y otra de 16.7 ms (en S2) al final del pulso. La diferencia de corriente por pulso (Δi) se registra como una función del voltaje de excitación que aumenta linealmente. Así se obtiene una curva diferencial en forma de pico (véase figura 25.30) cuya altura es directamente proporcional a la concentración. Para una reacción reversible, el potencial pico es aproximadamente igual al potencial estándar de la semirreacción.

Una ventaja del voltamograma del tipo derivada es que se pueden observar los máximos de picos individuales en el caso de sustancias que tienen potenciales de semionda que difieren en tan sólo 0.04 o 0.05 V; en cambio, la voltametría clásica o la normal de pulsos requieren una diferencia de potencial de casi 0.2 V para distinguir las ondas. Pero lo más importante es que la voltametría diferencial de pulsos aumenta la sensibili-

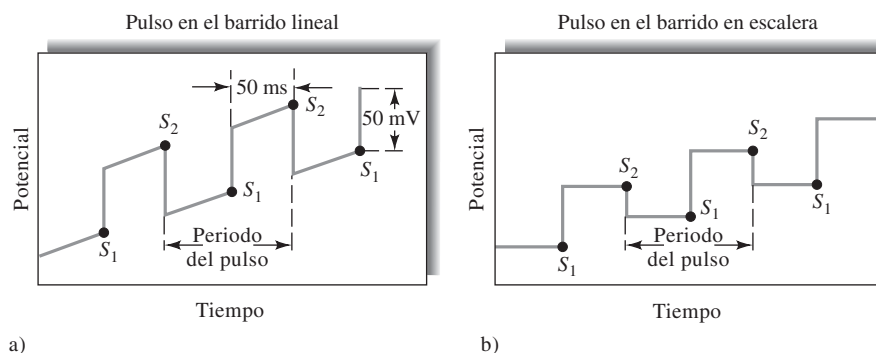


FIGURA 25.29 Señales de excitación en la voltametría diferencial de pulsos.

dad de la voltametría. Por lo regular, la voltametría diferencial de pulsos proporciona picos bien definidos a un nivel de concentración que es 2×10^{-3} el de la onda voltamétrica clásica. Asimismo, observe que la escala de corriente para Δi está en nanoamperes. En general, los límites de detección con la voltametría diferencial de pulsos son de dos a tres órdenes de magnitud más bajos que los de la voltametría clásica y quedan entre 10^{-7} y 10^{-8} M.

La mayor sensibilidad de la voltametría diferencial de pulsos se puede atribuir a dos orígenes. El primero es el aumento de la corriente faradaica y el segundo es la disminución de la corriente de carga no faradaica. En relación con la primera, hay que considerar los hechos que tienen lugar en la capa superficial que rodea a un electrodo cuando el potencial aumenta de repente a 50 mV. Si una especie reactiva está presente en esta capa, se produce un aumento de la corriente que disminuye la concentración del reactivo a la requerida por el nuevo potencial (véase la figura 25.9b). Cuando se alcanza la concentración de equilibrio para este potencial, la corriente cae a un nivel apenas suficiente para contrarrestar la difusión; es decir, a la corriente controlada por difusión. En la voltametría clásica no se observa el aumento inicial de corriente porque la

escala de tiempo de la medición es grande comparado con el tiempo de vida de la corriente momentánea. En cambio, en la voltametría de pulsos la medición de la corriente se hace antes de que el aumento haya acabado del todo. Por tanto, la corriente medida contiene tanto un componente controlado por difusión como un componente que tiene que ver con la reducción de la capa superficial respecto a la concentración demandada por la ecuación de Nernst; la corriente total es casi siempre varias veces mayor que la corriente de difusión. Tenga en cuenta que en condiciones hidrodinámicas la solución se vuelve homogénea respecto al analito en el tiempo en que ocurre la siguiente secuencia de pulsos. Por consiguiente, a cualquier potencial aplicado se observa un aumento de corriente idéntico para cada pulso de potencial.

Cuando el pulso de potencial se aplica primero al electrodo, también tiene lugar un aumento de la corriente no faradaica a medida que aumenta la carga. Esta corriente disminuye en forma exponencial respecto al tiempo y se aproxima a cero con éste. Por tanto, si se miden las corrientes tan sólo en este momento, la corriente residual no faradaica se reduce mucho y la relación señal-ruido es mayor. El resultado es un aumento de la sensibilidad.

En la actualidad hay en el comercio instrumentos confiables para la voltametría diferencial de pulsos a un precio razonable. El método ha llegado a ser uno de los más utilizados y es especialmente útil para determinar concentraciones traza de iones de metales pesados.

25E.2 Voltametría de onda cuadrada

Se trata de un tipo de voltametría de pulsos que ofrece la ventaja de una gran velocidad y una elevada sensibilidad.³² Se obtiene un voltamograma completo en

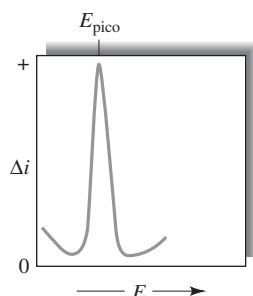


FIGURA 25.30 Voltamograma de un experimento de voltametría diferencial de pulsos. En este caso, $\Delta i = i_{S2} - i_{S1}$ (véase la figura 25.29). El potencial pico, E_{pico} , está estrechamente relacionado con el potencial de semionda voltamétrico.

³²Para más información sobre la voltametría de onda cuadrada consulte A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2001, cap. 7, pp. 293-299; J. G. Osteryoung y R. A. Osteryoung, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, p. 101A.

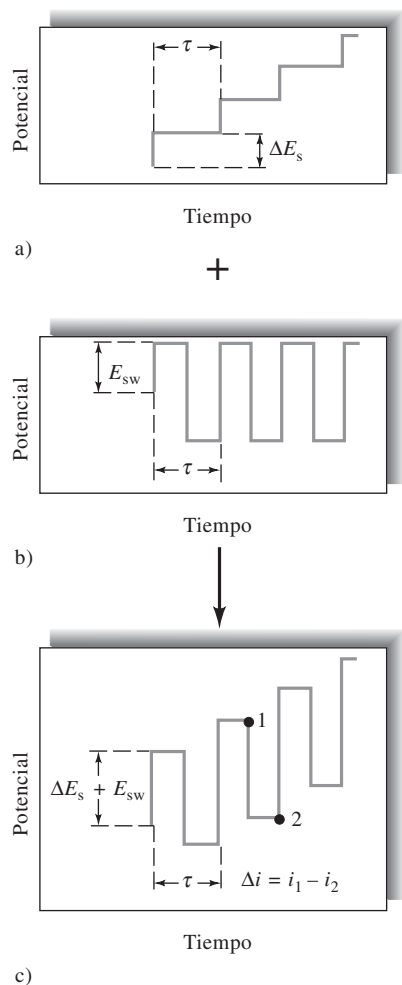


FIGURA 25.31 Generación de una señal de excitación para voltimetría de onda cuadrada. La señal en escalera de a) se suma a un tren de pulsos de b) para dar la señal de excitación de onda cuadrada en c). La respuesta de corriente Δi es igual a la corriente en el potencial 1 menos la del potencial 2.

menos de 10 ms. La voltimetría de onda cuadrada se utiliza con electrodos de mercurio de gota colgante y con otros electrodos (véase figura 25.3) y sensores.

La figura 25.31c muestra la señal de excitación en voltimetría de onda cuadrada que se obtiene al superponer el tren de pulsos que se muestra en la figura 25.31b sobre la señal en escalera de la 25.31a. La longitud de cada etapa de la escalera y el periodo de los pulsos τ son idénticos y casi siempre de unos 5 ms. El escalón de potencial de la escalera ΔE_s es normalmente 10 mV. La magnitud del pulso $2E_{sw}$ es a menudo de 50 mV. Al operar en estas condiciones, que corresponden a una frecuencia del pulso de 200 Hz, un barrido

de 1 V requiere 0.5 s. En una reacción de reducción reversible, el tamaño de un pulso es lo bastante elevado para que durante el pulso inverso tenga lugar la oxidación del producto formado en el pulso directo. Como se muestra en la figura 25.32, el pulso directo produce una corriente catódica i_1 y el impulso inverso da una corriente anódica i_2 . Por lo regular, la diferencia entre estas corrientes Δi se grafica para dar voltamogramas. Esta diferencia es directamente proporcional a la concentración y el potencial del pico corresponde al potencial de semionda voltamétrico. Debido a la velocidad de la medición, es posible y también práctico aumentar la precisión de los análisis al promediar las señales de varios barridos voltamétricos. Se han publicado límites de detección para voltimetría de onda cuadrada de 10^{-7} a 10^{-8} M.

Hay varios fabricantes que producen instrumentos comerciales para voltimetría de onda cuadrada y, por tanto, esta técnica se utiliza en forma rutinaria para determinar especies orgánicas e inorgánicas. Asimismo, la voltimetría de onda cuadrada se utiliza en detectores para cromatografía de líquidos.

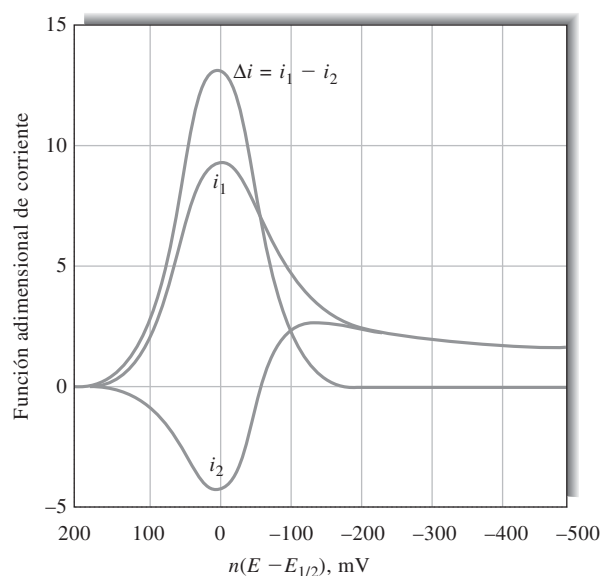


FIGURA 25.32 Respuesta de corriente para una reacción reversible a la señal de excitación de la figura 25.31c. Esta respuesta teórica es una gráfica de una función adimensional de corriente contra una función de potencial, $n(E - E_{1/2})$ en milivoltios. Aquí, i_1 = corriente directa; i_2 = corriente inversa; $i_1 - i_2$ = diferencia de corrientes (Reproducido con autorización de J. J. O'Dea, J. Osteryoung y R. A. Osteryoung, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, p. 695. Con autorización. Copyright 1981 American Chemical Society.)

25F VOLTAMETRÍA DE ALTA FRECUENCIA Y ALTA VELOCIDAD

A medida que la ciencia, la técnica y el arte de los instrumentos voltamétricos y los métodos de reducción de datos se han perfeccionado, así también los regímenes temporales y espaciales han decrecido en escala. Antes, las mediciones voltamétricas se hacían con corriente directa y a frecuencia relativamente baja. Como resultado, sólo procesos de transferencia de electrones relativamente lentos se podían explorar con estos métodos.

25F.1 Voltametría de transformada de Fourier

Así como los métodos de transformada de Fourier revolucionaron las espectroscopías de resonancia magnética nuclear y en el infrarrojo, también han influido de manera similar en la voltametría. Bond y sus colaboradores³³ demostraron la manera en que un aparato sólido en el que está montada una computadora, todo acoplado con un programa común que reduce la información, como MATLAB y LabVIEW, se puede usar para llevar a cabo una voltametría de transformada de Fourier a frecuencias de muestreo hasta de 40 kHz. Las ondas de excitación de cualquier forma se sintetizan y aplican a un circuito potencióstático y la respuesta se analiza de inmediato para obtener los voltamogramas correspondientes para cada uno de los componentes de frecuencia de la onda de excitación. La información resultante que proporciona la voltametría de transformada de Fourier sirve para obtener espectros de potencia para cada componente de frecuencia de la onda de entrada en un nuevo formato visualmente fascinante. Los patrones en los datos se pueden identificar mediante varios tipos de mecanismos de transferencia de electrones en los sistemas químicos en estudio. Estos investigadores dan varios ejemplos, como las mediciones voltamétricas de transformada de Fourier en ferroceno y hexacianoferrato(III), para ilustrar las maneras en que los patrones de los resultados se pueden analizar en forma visual. A medida que se exploran más sistemas distintos, se catalogan las bases de datos de los mecanismos y se aplican los algoritmos de los programas a la identificación de los modelos mecanicistas, la voltametría de transformada de Fourier tiene probabilidades de volverse una pieza importante en el conjunto de herramientas electroquímicas.

25F.2 Voltametría cíclica de barrido rápido

Esta técnica se está extendiendo a los campos biomédicos, en particular en las áreas de neurofisiología y la

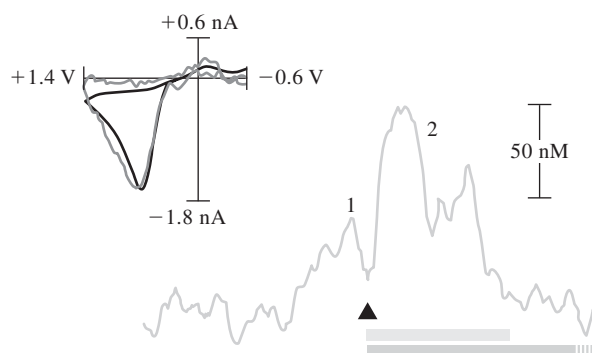


FIGURA 25.33 Liberación de dopamina durante una autoadministración de cocaína. Las ratas recibieron adiestramiento para presionar una palanca (cabeza de la flecha), para recibir una pequeña inyección intravenosa de cocaína. Los trazos inferiores señalan los cambios en la dopamina. El pico 1 indica un incremento de dopamina antes de que la rata presione la palanca. Los dos picos (2) indican corrientes transitorias que hay después de que presionan la palanca. Abajo de los trazos, la barra gris oscuro señala el tiempo en que surgen los indicios audiovisuales asociados con la presión de la palanca. La barra gris claro indica cuándo se activó la bomba que entrega la cocaína. El voltamograma cíclico (negro) de la dopamina extraída conductualmente corresponde con el voltamograma que se obtuvo eléctricamente (gris). (Adaptado con autorización de P. E. M. Phillips, *Nature*, **2003**, 422, p. 614.)

electroquímica psicoanalítica interdisciplinaria. Venton y Wightman describieron cómo se puede usar esta técnica, con electrodos de fibra de carbono, para efectuar mediciones *en vivo* de la liberación de dopamina en los cerebros de ratas durante la estimulación conductual.³⁴ En el experimento que se ilustra con los datos de la figura 25.33, se usó un microelectrodo de fibra de carbono (véase la sección 25I) implantado en el cerebro de una rata como electrodo de trabajo para efectuar barridos de voltametría cíclica de 450 V/s de +1.4 a -0.6 V a intervalos de 100 ms. Se enseñó previamente a las ratas a autoadministrarse dosis de cocaína presionando una palanca.

Los dos voltamogramas cíclicos de la parte superior izquierda de la figura muestran que la dopamina se liberó tanto por estimulación conductual (trazo negro) como por la administración de cocaína (trazo gris). El trazo gris en el centro señala la concentración de dopamina en función del tiempo calculada a partir de las corrientes pico de los voltamogramas. El trazo se logró con 200 voltamogramas cíclicos distintos obtenidos en el periodo de 20 segundos que se muestra. El pico de la posición 1 muestra que hubo una liberación de

³³ A. M. Bond, M. W. Duffy, S. X. Guo, J. Zhang y D. Elton, *Anal. Chem.*, **2005**, 77, p. 186A.

³⁴ B. J. Venton y R. M. Wightman, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 414A.

dopamina antes de que la rata se administrara cocaína, como se indica con el triángulo negro. Los picos en la posición 2 muestran un aumento espectacular en la liberación de dopamina cuando la dosis de cocaína continuó, como se indica con la barra gris claro. Estudios como éste permiten a los investigadores correlacionar la conducta con los cambios químicos en el cerebro.³⁵

25F.3 Voltametría en nanosegundos

Para ampliar el conocimiento de las fronteras de los procesos de transferencia de electrones es importante poder efectuar experimentos de voltametría cíclica a una escala de tiempo muy rápida. Si se observa con todo cuidado el modelo del circuito de la figura 25.7 se ve que la resistencia de la solución y la capacitancia de doble capa en una celda voltamétrica limitan la escala de tiempo de la voltametría cíclica. El tiempo que se requiere para cargar la doble capa está en el orden de $R_{\Omega}C_d$, que para una celda de voltametría cíclica con un electrodo de Pt de 1 mm de radio sumergido en una solución 1 mM de una especie electroactiva característica podría ser de $500 \Omega \times 0.3 \mu\text{F} = 0.15 \text{ ms}$. Además, la caída de IR en la resistencia de la solución en una celda de voltametría cíclica que lleva una corriente de 1 mA sería de 0.5 V. La adquisición de datos útiles de voltametría cíclica a una velocidad de barrido de 1000 V/s sería virtualmente imposible en estas condiciones. Por otro lado, en el caso de un microelectrodo de disco con un radio de 5 μm la caída de IR es de 2.5 mV y $R_{\Omega}C_d = 750 \text{ ns}$.³⁶ Si además de disminuir el tamaño del electrodo de trabajo se aplica una retroalimentación positiva iterativa a la forma de onda de excitación,³⁷ la caída de IR se puede compensar por completo y se pueden alcanzar velocidades de barrido de hasta 2.5 millones V/s con un circuito potencióstático correctamente mejorado. Al usar esta estructura instrumental superior se pudieron obtener voltamogramas cíclicos del catión pirilio y se midieron las propiedades cinéticas de la dimerización del producto de la reducción junto con la constante de velocidad de la reacción, la cual es $k_{\text{dim}} = 0.9(\pm 0.3) \times 10^9 \text{ M/s}$. Este valor corresponde a la vida media del radical pirilio de casi 200 ns. La escala del tiempo de estas mediciones es similar a la de los experimentos de fotólisis instantánea en nanosegundos. Con estas técnicas innovadoras se ha abierto un mundo nuevo en las mediciones voltamétricas y se espera que la meta de observar la transferencia de un solo electrón esté a la vista.³⁸

25G APLICACIONES DE LA VOLTAMETRÍA

En el pasado, la voltametría de barrido lineal se utilizó para la determinación cuantitativa de una amplia variedad de especies inorgánicas y orgánicas, como moléculas de interés biológico y bioquímico. Los métodos de pulsos han sustituido casi por completo a la voltametría clásica debido a su mayor sensibilidad, conveniencia y selectividad. En general, las aplicaciones cuantitativas se basan en las curvas de calibración en que las alturas de los picos se representan en función de la concentración de analito. En algunos casos se utiliza el método de adición estándar en vez de las curvas de calibración. En ambos casos es esencial que la composición de los patrones sea lo más parecida posible a la de la muestra, tanto en las concentraciones de electrolitos como en el pH. Si es así, se pueden obtener a menudo precisiones y exactitudes en el intervalo de 1 a 3%.

25G.1 Aplicaciones inorgánicas

La voltametría es aplicable al análisis de muchas sustancias inorgánicas. Por ejemplo, la mayoría de los cationes metálicos se reducen en los electrodos de trabajo comunes. Incluso los metales alcalinos y alcalinotérreos se reducen siempre que el electrolito soporte no reaccione a los elevados potenciales requeridos. Se utilizan haluros de tetraalquilamonio como electrolitos útiles debido a sus elevados potenciales de reducción.

Con frecuencia, la determinación voltamétrica satisfactoria de cationes depende del electrolito soporte que se utilice. Con el objetivo de ayudar a la selección, hay recopilaciones de datos de potenciales de semionda.³⁹ La elección concienzuda del anión intensifica a menudo la selectividad del método. Por ejemplo, con cloruro de potasio como electrolito soporte, las ondas del hierro(III) y del cobre(II) interfieren entre sí; pero en un medio de fluoruros, el potencial de semionda del hierro(III) se desplaza unos -0.5 V y el cobre(II) se altera sólo unas centésimas de volt. La presencia de fluoruro da lugar por tanto a la aparición de ondas bien separadas de los dos iones.

Asimismo, la voltametría es también aplicable al análisis de aniones inorgánicos, como el bromato, iodato, dicromato, vanadato, selenito y nitrito. En general, los voltamogramas de estas sustancias se ven afectados por el pH de la solución porque el ion hidrógeno participa en su reducción. Como consecuencia, es necesario utilizar una solución amortiguadora fuerte que fije el pH

³⁵ P. E. M. Phillips, *Nature*, **2003**, 422, p. 614.

³⁶ C. Amatore y E. Maisonhaute, *Anal. Chem.*, **2005**, 77, p. 303A.

³⁷ D. O. Wipf, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, p. 1871.

³⁸ Véase nota 36.

³⁹ Por ejemplo, véase J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, sección 14, pp. 14.66-14.70, Nueva York: McGraw-Hill, 1995; D. T. Sawyer, A. Sobkowiak, y J. L. Roberts, *Experimental Electrochemistry for Chemists*, 2a. ed., pp. 102-130, Nueva York: Wiley, 1995.

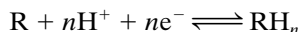
para obtener resultados reproducibles (véase la siguiente sección).

25G.2 Análisis voltamétrico orgánico

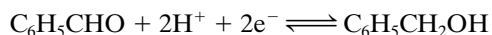
Casi desde sus comienzos, la voltametría se utilizó para el estudio y determinación de compuestos orgánicos, y se pueden consultar muchos artículos dedicados a este tema. Diversos grupos funcionales orgánicos se reducen en los electrodos comunes de trabajo, lo que permite la determinación de una amplia variedad de compuestos orgánicos.⁴⁰ Desde el punto de vista de la voltametría se pueden estudiar grupos funcionales orgánicos oxidables con electrodos de trabajos de platino, oro o carbono o sus diversas modificaciones.

Efecto del pH en los voltamogramas

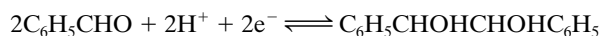
A menudo, los procesos de electrodo orgánicos involucran iones hidrógeno, la reacción típica se representa mediante



donde R y RH_n son las formas oxidada y reducida de una molécula orgánica. Por tanto, los potenciales de semionda de los compuestos orgánicos dependen del pH. Además, la modificación del pH puede dar lugar a un cambio en el producto de la reacción. Por ejemplo, cuando se reduce el benzaldehído en una solución básica, se obtiene una onda a casi -1.4 V, que se puede atribuir a la formación de alcohol bencílico:



Sin embargo, si el pH es inferior a 2 aparece una onda a aproximadamente -1.0 V cuyo tamaño es la mitad de la anterior; en este caso, en la reacción se forma hidroxibenzoína:



A pH intermedios, se observan dos ondas, que indican la simultaneidad de ambas reacciones.

Se debe destacar que un proceso de electrodo que consume o produce iones hidrógeno altera el pH de la solución en la superficie del electrodo, a menudo en extremo, a menos que la solución esté muy bien amortiguada. Estos cambios afectan al potencial de reducción de la reacción y provocan ondas alargadas mal definidas. Por otra parte, cuando el pH altera el proceso de electrodo, como en el caso del benzaldehído, la relación corriente de difusión/concentración podría

no ser lineal. Por consiguiente, en voltametría orgánica es imprescindible un amortiguamiento apropiado de la solución para obtener potenciales de semionda y corrientes de difusión reproducibles.

Solventes para voltametría orgánica

Con frecuencia, los problemas de solubilidad determinan el uso de solventes diferentes al agua pura en la voltametría orgánica, por lo que se utilizan mezclas acuosas que contienen cantidades variables de solventes miscibles, como glicoles, dioxano, acetonitrilo, alcoholes, Cellosolve o ácido acético. También se han investigado medios anhidros, como ácido acético, formamida, dietilamina y etilenglicol. Los electrolitos soporte son a menudo sales de litio o de tetraalquilamonio.

Grupos funcionales reactivos

Los compuestos orgánicos que contienen cualquiera de los siguientes grupos funcionales producen a menudo una o más ondas voltamétricas.

1. El grupo carbonilo, en el que están incluidos entre otros los aldehídos, cetonas y quinonas, da lugar a ondas voltamétricas. En general, los aldehídos se reducen a potenciales menores que las cetonas; la conjugación de los enlaces dobles carbonílicos también da como resultado potenciales de semionda más bajos.
2. Ciertos ácidos carboxílicos se reducen voltamétricamente, no así los ácidos monocarboxílicos sencillos alifáticos y aromáticos. Los ácidos dicarboxílicos, como el ácido fumárico, el maleico o el ftálico, en los que los grupos carboxílicos están conjugados entre sí, dan voltamogramas característicos; lo mismo pasa con ciertos ácidos cetónicos y aldehídicos.
3. La mayoría de los peróxidos y epóxidos da ondas voltamétricas.
4. En general, los grupos nitro, nitroso, óxido de amina y azo se reducen en los electrodos de trabajo.
5. La mayoría de los grupos de halógeno orgánicos dan lugar a una onda voltamétrica como resultado de la sustitución del grupo halogenado por un átomo de hidrógeno.
6. El enlace doble carbono-carbono se reduce cuando está conjugado con otro doble enlace, un anillo aromático o un grupo insaturado.
7. Las hidroquinonas y los mercaptanos producen ondas anódicas.

Además, un cierto número de grupos orgánicos producen ondas catalíticas de hidrógeno que se puedan emplear para el análisis. Entre éstos están aminas, mercaptanos, ácidos y compuestos heterocíclicos con

⁴⁰Si desea un análisis minucioso de electroquímica orgánica refiérase a *Encyclopedia of Electrochemistry*, A. J. Bard y M. Stratmann, eds., vol. 8, *Organic Electrochemistry*, H. J. Schäfer, ed., Nueva York: Wiley, 2002; *Organic Electrochemistry*, 4a. ed., H. Lund y O. Hammerich, eds., Nueva York: Dekker, 2001.

nitrógeno. Se han dado a conocer numerosas aplicaciones en sistemas biológicos.⁴¹

25H MÉTODOS DE REDISOLUCIÓN

Los métodos de redisolución engloban una variedad de procedimientos electroquímicos que tienen una etapa inicial característica y común.⁴² En todos estos procedimientos primero se deposita el analito sobre un electrodo de trabajo, normalmente a partir de una solución agitada. Después de un tiempo perfectamente medido, se suspende la electrólisis y la agitación, y se determina el analito depositado con uno de los procedimientos voltamétricos que se han descrito en la sección previa. Durante esta segunda etapa del análisis, el analito depositado en el electrodo de trabajo se retira de éste redisolviéndolo, lo que da nombre a estos métodos. En los métodos de redisolución anódica, el electrodo de trabajo se comporta como un cátodo durante la etapa de depósito y como un ánodo durante la etapa de redisolución, en la que el analito se reoxida regresando a su estado original. En un método de redisolución catódica, el electrodo de trabajo se comporta como un ánodo durante la etapa de depósito y como un cátodo durante la redisolución. La etapa de depósito equivale a una preconcentración electroquímica del analito; es decir, la concentración del analito en la superficie del electrodo de trabajo es mucho mayor que en el seno de la solución. Como resultado de la etapa de preconcentración, los métodos de redisolución poseen los límites de detección más bajos de todos los procedimientos voltamétricos. Por ejemplo, la redisolución anódica con voltametría de pulsos puede alcanzar límites de detección del orden de nanomoles para especies que son importantes en el ambiente, como Pb^{2+} , Ca^{2+} y Ti^{+} .

La figura 25.34a ilustra el programa de excitación mediante voltaje que se sigue en un método de redisolución anódica para determinar cobre y cadmio en una solución acuosa de estos iones. Para completar el análisis se utiliza un método voltamétrico de barrido lineal. Primero se aplica un potencial catódico constante de aproximadamente -1 V al electrodo de trabajo; este potencial causa que tanto los iones cadmio como los iones cobre se reduzcan y depositen como metales. El electrodo se mantiene a este potencial durante varios minutos hasta que se acumula una cantidad significativa de los dos metales en el electrodo. En ese momento se detiene la agitación durante unos 30 s y se mantiene

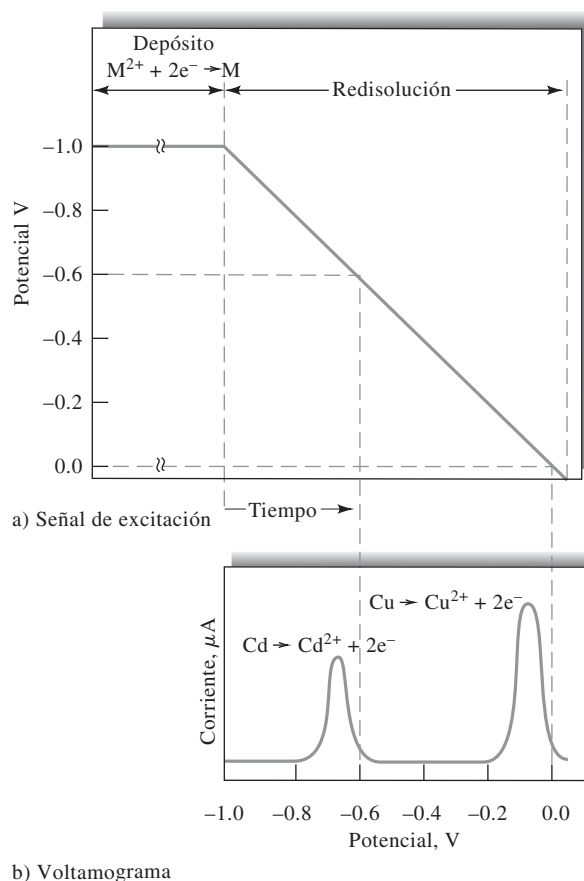


FIGURA 25.34 a) Señal de excitación para la determinación por redisolución de Cd^{2+} y Cu^{2+} . b) Voltamograma de redisolución.

el electrodo a -1 V . Luego, el potencial del electrodo disminuye linealmente hacia potenciales menos negativos mientras se registra la corriente de la celda en función del tiempo o del potencial. La figura 25.34b muestra el voltamograma resultante. A un potencial algo más negativo que -0.6 V , el cadmio empieza a oxidarse, originando un aumento brusco en la corriente. A medida que el cadmio depositado se consume, la corriente alcanza un máximo y luego disminuye a su nivel original. Entonces se observa un segundo pico por la oxidación del cobre, cuando el potencial ha disminuido hasta aproximadamente -0.1 V . Las alturas de los dos picos son proporcionales a los pesos de metal depositado.

Los métodos de redisolución son de gran importancia en análisis de trazas debido a que el paso de preconcentración permite la determinación de cantidades muy pequeñas de un analito con una exactitud razonable. Por consiguiente, es posible el análisis de soluciones comprendidas entre 10^{-6} y 10^{-9} M mediante métodos que son a la vez sencillos y rápidos.

⁴¹ *Encyclopedia of Electrochemistry*, A. J. Bard y M. Stratmann, eds., vol. 9, *Bioelectrochemistry*, G. S. Wilson, ed., Nueva York: Wiley, 2002.

⁴² Para un análisis minucioso de los métodos de redisolución consulte H. D. Dewald en *Modern Techniques in Electroanalysis*, P. Vanysek, ed., cap. 4, p. 151, Nueva York: Wiley-Interscience, 1996; J. Wang, *Stripping Analysis*, Deerfield Beach, FL: VCH, 1985.

25H.1 Etapa de electrodeposición

Por lo regular, durante esta etapa sólo se acumula una fracción del analito; por ello, los resultados cuantitativos dependen no sólo del control del potencial del electrodo, sino también de factores como las dimensiones del electrodo, la duración del depósito y la velocidad de agitación tanto de las soluciones de la muestra como de los patrones que se utilizan en la calibración.

Los electrodos de trabajo que se utilizan en los métodos de redisolución se fabrican a partir de diversos materiales entre los que están el mercurio, el oro, la plata, el platino y el carbono en diversas formas. El electrodo más popular es de gota colgante de mercurio, que se mostró en la figura 25.3b. Los electrodos de disco giratorio también se pueden usar en estudios de redisolución.

Para llevar a cabo la determinación de un ion metálico por redisolución anódica se forma una gota nueva de mercurio, se inicia la agitación y se aplica un potencial que es unas décimas de voltio más negativo que el potencial de semionda del ion de interés. El depósito tiene lugar durante un periodo cuidadosamente medido que puede oscilar entre un minuto o algo menos para soluciones 10^{-7} M y 30 minutos o más para soluciones 10^{-9} M. Hay que resaltar que estos tiempos rara vez permiten una eliminación completa del ion. El periodo de electrólisis se determina en función de la sensibilidad del método que se utilice para terminar el análisis.

25H.2 Terminación voltamétrica del análisis

El analito acumulado en el electrodo de trabajo puede ser determinado por cualquiera de los distintos procedimientos voltamétricos. Por ejemplo, con un procedimiento de barrido anódico lineal, como el que se describió al principio de esta sección, se detiene la agitación durante unos 30 s después de suspender el depósito. Entonces, el potencial se reduce a una velocidad lineal fija desde su valor catódico original y la corriente anódica resultante se registra en función del voltaje aplicado. Este barrido lineal da una curva como la que se muestra en la figura 25.34b. En general, los análisis de este tipo se basan en la calibración con soluciones patrón de los cationes de interés. Con un cuidado razonable se puede obtener precisiones analíticas relativas de alrededor de 2%.

La mayor parte de los procedimientos voltamétricos que se describieron en la sección anterior se han aplicado en la etapa de redisolución. El más utilizado de ellos es la técnica diferencial de pulsos anódica. Mediante este procedimiento se suelen obtener picos más estrechos, que son especialmente convenientes cuando

se analizan mezclas. Otro método para obtener picos estrechos es utilizar un electrodo de película de mercurio. En este caso, una fina película de mercurio se electrodeposita sobre un electrodo inerte, como uno de carbono vitrificado. Por lo regular, el depósito del mercurio se lleva a cabo de manera simultánea con el depósito del analito. Debido a que la longitud promedio de la trayectoria de difusión desde la película hasta la interfase de la solución es mucho más corta que en una gota de mercurio, se acelera la salida del analito. El resultado es picos voltamétricos más estrechos y más altos, lo que proporciona mayor sensibilidad y mejor resolución de mezclas. Por otra parte, el electrodo de gota colgante de mercurio parece dar resultados más reproducibles, sobre todo a concentraciones elevadas de analito. Por tanto, se utiliza un electrodo de gota colgante para la mayoría de las aplicaciones. La figura 25.35 ilustra el voltamograma de redisolución anódica de pulsos diferenciales para cinco cationes que se encuentran en una muestra de miel mineralizada, a la cual se le añadió GaCl_3 1×10^{-5} M. El voltamograma muestra buena resolución y sensibilidad apropiada para muchas aplicaciones.

Se han perfeccionado muchas otras variaciones de la técnica de redisolución. Por ejemplo, algunos cationes se han determinado por electrodeposición en un cátodo de platino. En este caso se mide por métodos coulombimétricos la cantidad de electricidad que se requiere para eliminar el depósito. El método es en particular ventajoso para análisis de trazas. También han surgido métodos de redisolución catódica para los haluros. En este caso, los iones haluro se depositan primero como sales de mercurio(I) sobre un ánodo de mercurio. La redisolución se lleva a cabo a continuación mediante una corriente catódica.

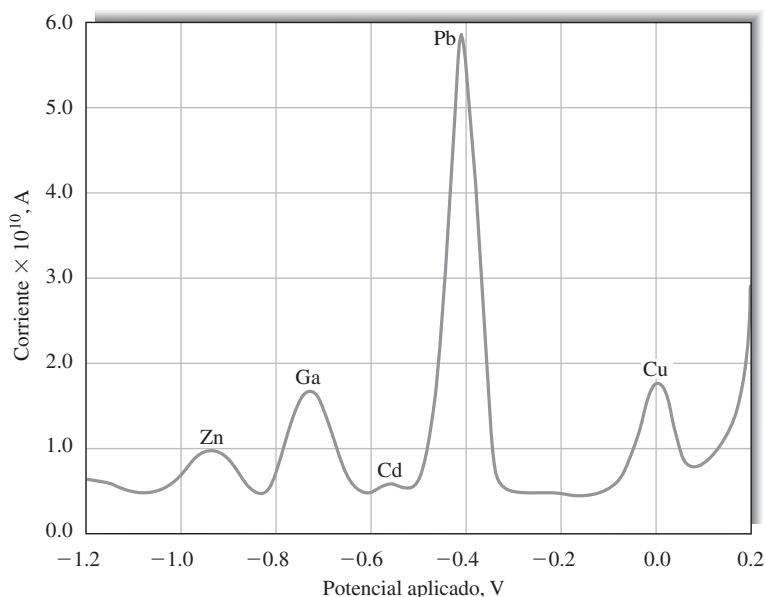
25H.3 Métodos de redisolución adsorptivos

Estos métodos son muy similares a los métodos de redisolución anódica y catódica que se han tratado hasta ahora. En esta técnica, un electrodo de trabajo se sumerge durante varios minutos en una solución agitada que contiene al analito. El depósito de éste tiene lugar por adsorción física sobre la superficie del electrodo en lugar de por depósito electrolítico. Una vez que se ha acumulado suficiente analito, se detiene la agitación y el material depositado se determina por barrido lineal o medición voltamétrica de pulsos. La información cuantitativa se obtiene mediante la calibración con soluciones patrón que se tratan de la misma forma que las muestras.



Clase interactiva: aprenda más acerca de los **métodos de redisolución.**

FIGURA 25.35 Voltamograma de redisolución anódica de pulsos diferenciales del análisis de una muestra de miel mineralizada a la cual se le añadió GaCl_3 (concentración final en la solución de análisis: $1 \times 10^{-5} \text{ M}$). Potencial de depósito: -1.20 V ; tiempo de depósito: 1200 s en una solución sin agitar; altura del pulso: 50 mV ; y velocidad de barrido del potencial anódico: 5 mVs^{-1} . (Adaptado de G. Sanna, M. I. Pilo, P. C. Piu, A. Tapparo y R. Seeber, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 415, p. 165, con autorización.)

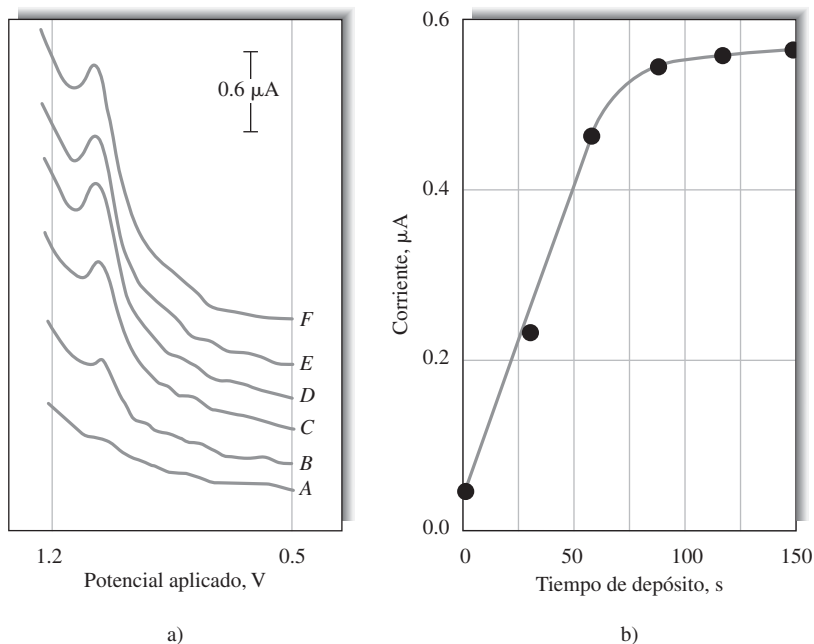


Muchas moléculas orgánicas de interés clínico y farmacéutico tienen una fuerte tendencia a ser adsorbidas de las soluciones acuosas por superficies de mercurio o carbono, en particular si dicha superficie se mantiene a un voltaje en el que la carga en el electrodo es casi cero. Con una buena agitación, la adsorción es rápida y sólo se necesitan de 1 a 5 min para acumular el analito suficiente para el análisis de soluciones 10^{-7} M y de 10 a 20 min para soluciones 10^{-9} M . La figura 25.36a ilustra la sensibilidad de la voltimetría de redisolución adsorptiva de pulsos diferenciales cuando se aplica a la determinación de ADN a partir de timo

de becerro en una solución de 0.5 mg/L . En la figura 25.36b se muestra la relación de dependencia de la señal respecto al tiempo de depósito. En las publicaciones especializadas hay muchos otros ejemplos de este tipo.

Asimismo, la voltimetría de redisolución adsorptiva se ha aplicado a la determinación de una variedad de cationes inorgánicos a concentraciones muy bajas. En estas aplicaciones los cationes se complejan con un agente complejante con actividad superficial, como la dimetilglioxima, el catecol y la bipyridina. Se han alcanzado límites de detección del orden de 10^{-10} a 10^{-11} M .

FIGURA 25.36 Efecto del periodo de preconcentración en la respuesta de redisolución voltamétrica a) en el electrodo de pasta de carbono pretratado. Preconcentración a $+0.5 \text{ V}$ para (A) 1, (B) 30, (C) 60, (D) 90, (E) 120 y (F) 150 s. Amplitud de onda cuadrada, 10 mV ; frecuencia, 40 Hz ; 0.5 mg/L de ADN de timo de becerro. b) Corriente máxima contra tiempo de depósito. (Adaptación de acuerdo con J. Wang, X. Cai, C. Jonsson y M. Balakrishnan, *Electroanalysis*, **1996**, 8, p. 20, con autorización.)



25I VOLTAMETRÍA CON MICROELECTRODOS

En años recientes se han llevado a cabo varios estudios voltamétricos con electrodos cuyas dimensiones son inferiores, al menos en un orden de magnitud, a las de los electrodos de trabajo comunes. El comportamiento electroquímico de estos diminutos electrodos es significativamente diferente del de los electrodos clásicos y, al parecer, presenta ventajas en ciertas aplicaciones analíticas.⁴³ A menudo se les llama electrodos microscópicos o *microelectrodos* para distinguirlos de los electrodos clásicos. En la figura 25.3c se muestra un tipo de microelectrodo comercial. Las dimensiones de tales electrodos son por lo regular inferiores a 20 μm y pueden ser hasta de 30 nm de diámetro y 2 μm de largo ($A \approx 0.2 \mu\text{m}^2$). La experiencia ha generado una *definición operacional de microelectrodo*. Un microelectrodo es aquel cuya dimensión característica es similar al espesor, δ de la capa de difusión o inferior a ésta en las condiciones experimentales dadas. En estas condiciones se alcanza un estado estable, o en el caso de electrodos cilíndricos, un falso estado estable.⁴⁴

25I.1 Corrientes voltamétricas en los microelectrodos

En la sección 25C.2 se discutió la naturaleza de la corriente que se produce en un electrodo ordinario plano en los experimentos voltamétricos. Si se aplica un tratamiento más elaborado es posible demostrar⁴⁵ que el gradiente de concentración en un electrodo esférico después de la aplicación de un escalón de voltaje es

$$\frac{\partial c_A}{\partial x} = c_A^0 \left(\frac{1}{\sqrt{\pi Dt}} + \frac{1}{r} \right) = c_A^0 \left(\frac{1}{\delta} + \frac{1}{r} \right) \quad (25.21)$$

donde r es el radio de la esfera, $\delta = \sqrt{\pi Dt}$ es el espesor de la capa de difusión de Nernst, y t es el tiempo después de que se aplica el voltaje. Observe que δ es proporcional a $t^{1/2}$. Si se sustituye esta relación en la ecuación 25.4 se obtiene la corriente faradaica dependiente del tiempo en el electrodo esférico.

⁴³ Véase R. M. Wightman, *Science*, **1988**, 240, p. 415; *Anal. Chem.*, **1981**, 53, p. 1325A; S. Pons y M. Fleischmann, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1391A; J. Heinze, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1993**, 32, p. 1268; R. M. Wightman y D. O. Wipf en *Electroanalytical Chemistry*, vol. 15, A. J. Bard, ed., Nueva York: Dekker, 1989; A. C. Michael y R. M. Wightman, en *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2a. ed., P. T. Kissinger y W. R. Heinemann, eds., cap. 12, Nueva York: Dekker, 1996; C. G. Zoski en *Modern Techniques in Electroanalysis*, P. Vanysek, ed., cap. 6, Nueva York: Wiley, 1996.

⁴⁴ Un análisis de microelectrodos que abarca entre otros temas terminología, características y aplicaciones se encuentra en K. Stulik, C. Amatore, K. Holub, V. Mareček y W. Kutner, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, p. 1483. http://www.iupac.org/publications/pac/2000/7208/7208pdfs/7208stulik_1483.pdf.

⁴⁵ Véase nota 43.

$$i = nFADc_A^0 \left(\frac{1}{\delta} + \frac{1}{r} \right) \quad (25.22)$$

Observe que si $r \gg \delta$, lo cual ocurre en tiempos cortos, el término $1/\delta$ predomina y la ecuación 25.22 se reduce a una ecuación similar a la 25.5. Si $r \ll \delta$, lo cual ocurre en tiempos largos, el término $1/r$ predomina, el proceso de transferencia de electrones alcanza un estado estable y la corriente en estado estable depende entonces sólo de las dimensiones del electrodo. Esto significa que si las dimensiones del electrodo son pequeñas comparadas con el espesor de la capa de difusión de Nernst, el estado estable se alcanza con mucha rapidez y se genera una corriente constante. Como esta última es proporcional al área del electrodo, también quiere decir que los microelectrodos producen corrientes diminutas. Expresiones similares a la ecuación 25.22 se podrían plantear para otras formas físicas y todas ellas tienen en común la característica de que cuanto más pequeño sea el electrodo tanto más rápido se alcanza la corriente de estado estable.

Las ventajas de los microelectrodos se pueden resumir⁴⁶ como sigue:

1. El estado estable de los procesos faradaicos se alcanza con mucha rapidez, a menudo en microsegundos o milisegundos. Las mediciones en esta escala de tiempo permiten el estudio de productos intermedios en reacciones electroquímicas rápidas.
2. Como la corriente de la carga es proporcional al área del electrodo A y la corriente faradaica es proporcional a A/r , la contribución relativa de la carga a la corriente global disminuye con las dimensiones del microelectrodo.
3. Como la corriente de carga es mínima con los microelectrodos, el potencial se puede barrer rápidamente.
4. Puesto que las corrientes son tan pequeñas (picoamperes o nanoamperes), la caída de IR disminuye de manera espectacular a medida que las dimensiones del microelectrodo se reducen.
5. Cuando los microelectrodos funcionan en condiciones de estado estable, la relación señal-ruido en la corriente es mucho más alta que en condiciones dinámicas.
6. La solución en la superficie de un microelectrodo que se usa en un sistema con flujo es alimentado en forma continua, lo cual reduce al mínimo a δ y, por consiguiente, maximiza la corriente faradaica.
7. Las mediciones con microelectrodos se pueden efectuar en volúmenes de solución increíblemente pequeños, por ejemplo, el volumen de una célula biológica.

⁴⁶ Véase nota 43.

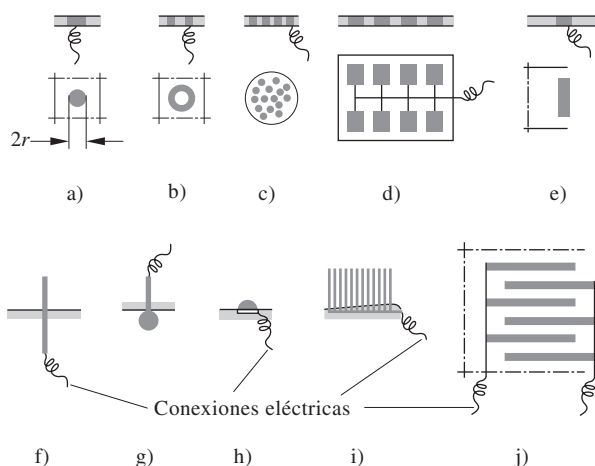


FIGURA 25.37 Principales formas de microelectrodos y sus configuraciones: a) microdisco; b) microanillo; c) configuración de microdisco (electrodo compuesto); d) configuración de microbanda producida litográficamente; e) microbanda; f) fibra sencilla (microcilindro); g) microesfera; h) microhemisferio; i) configuración de fibras; j) configuración entrelazada. (Tomado de K. Štulík, C. Amatore, K. Holub, V. Marek, y W. Kutner, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, p. 1483, con autorización.)

8. Las corrientes diminutas posibilitan efectuar mediciones voltamétricas en solventes de alta resistencia, no acuosos, como los que se usan en cromatografía de líquidos en fase normal.

Como se puede ver en la figura 25.37, los microelectrodos tienen varias formas. La más común es la de un electrodo plano que se forma al introducir una fibra de carbono con un radio $5\text{ }\mu\text{m}$ o un alambre de oro o de platino de $20\text{ }\mu\text{m}$ dentro de un tubo capilar fino y luego sellarlo todo. Luego, la fibra o los alambres se cortan al ras de los extremos de los tubos (véanse las figuras 25.3c y 25.37a y b). También se utilizan electrodos cilíndricos en los que una parte del alambre se extiende desde el extremo del tubo (figura 25.37f). Esta configuración tiene la ventaja de manejar corrientes mayores, pero las desventajas son su fragilidad y la dificultad para limpiarlo y pulirlo. Los electrodos de banda (figuras 25.37d y e) son atractivos porque se pueden fabricar a escala nanométrica en una dimensión y su comportamiento está determinado por esta última, excepto que la magnitud de sus corrientes aumenta con la longitud. Los electrodos de este tipo de $20\text{ }\text{\AA}$ han sido construidos colocando películas de metal entre vidrio o aislantes epóxicos. Otras configuraciones se han utilizado con éxito, como la del microdisco, microesfera, microhemisferio, arreglos de fibras y arreglos entrelazados (figuras 25.37c, g, h, i y j, respectivamente). Los microelectrodos de mercurio se forman mediante electrodeposición del metal en electrodos de carbono o metal.

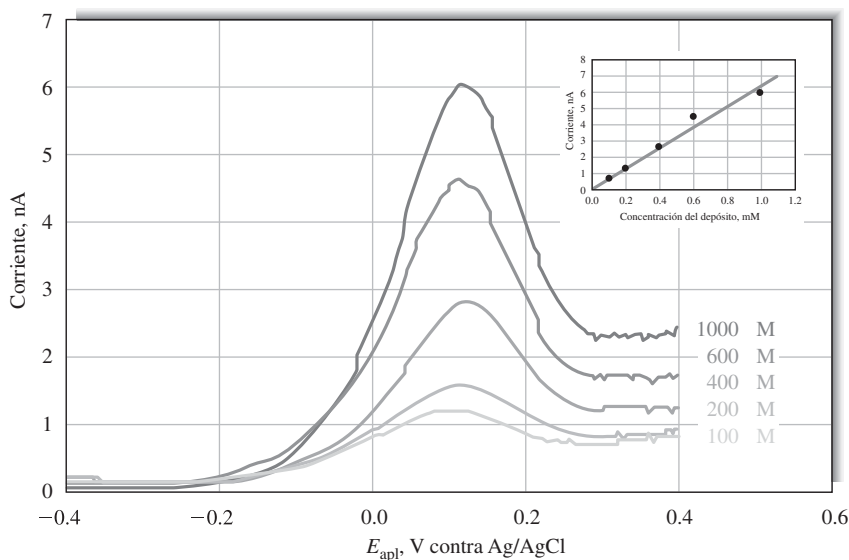


FIGURA 25.38 Detección de dopamina en un electrodo de nanoagujas hecho de nanotubos de carbono de varias paredes. Los voltamogramas de pulsos diferenciales de dopamina en el electrodo de nanoagujas en varias concentraciones desde 100 hasta $1000\text{ }\mu\text{M}$. La curva de calibración está insertada. (De acuerdo con H. Boo *et al.*, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 617. Con autorización. Copyright 2006 American Chemical Society.)

251.2 Aplicaciones de los microelectrodos

En la sección 25F.2 se describe el uso de un electrodo de fibra de carbono para vigilar la concentración del neurotransmisor dopamina en el cerebro de ratas como respuesta a un cambio conductual. En la figura 25.38 se pueden ver los resultados de la determinación voltamétrica de pulsos diferenciales de la dopamina a niveles de 100 a 1000 μM .⁴⁷ En este estudio, el electrodo de trabajo es una nanoaguja que consiste de un nanotubo de carbono de varias paredes unido al extremo de una punta de alambre de tungsteno. Dicho electrodo podría ser el más pequeño fabricado hasta este momento. La superficie entera de la sonda excepto la nanoaguja (30 nm de diámetro y 3 μm de longitud) se cubrió con un polímero no conductor endurecido con radiación UV. Tanto la voltametría cíclica como la voltametría de pulsos diferenciales fueron perfeccionadas con el electrodo de nanoagujas con muy buenos resultados. El inserto en la figura muestra una curva de trabajo de las corrientes pico a partir de voltamogramas graficados contra la concentración. A raíz del gran interés en los nanomateriales y biosensores para deter-

minar analitos en volúmenes minúsculos de solución es probable que la investigación y el perfeccionamiento en este fértil campo continúen por algún tiempo.

251.3 Microscopio electroquímico de barrido

Otra aplicación de los microelectrodos es el microscopio electroquímico de barrido que presentó Bard en 1989.⁴⁸ Este microscopio está estrechamente relacionado con los microscopios de sonda de barrido que se tratan en la sección 21G. El microscopio electroquímico de barrido mide la corriente en un microelectrodo (la punta) que está dentro de una solución que contiene especies electroactivas, mientras la punta barre una superficie del sustrato. La presencia del sustrato afecta la respuesta electroquímica de la punta, la cual da información respecto a las características y la naturaleza de la superficie. Entre las superficies estudiadas están sólidos como vidrios, polímeros, metales y sustancias biológicas, y líquidos, como mercurio y aceites. Este microscopio, el cual ya está en el comercio, se usa para estudiar polímeros conductores, soluciones de cristales, nanomateriales y superficies interesantes desde el punto de vista biológico.

⁴⁷H. Boo *et al.*, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 617.

⁴⁸A. J. Bard, F.-R. F. Fan, J. Kwak y O. Lev, *Anal. Chem.* **1989**, 61, p. 132.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

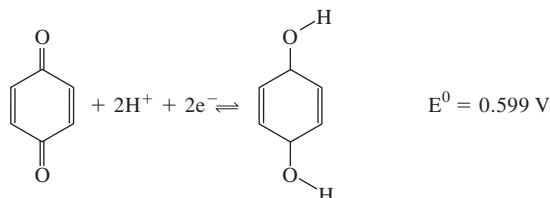
*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 25.1** Mencione las diferencias entre *a*) voltametría y amperometría, *b*) voltametría de barrido lineal y voltametría de pulsos, *c*) voltametría de pulsos diferenciales y voltametría de onda cuadrada, *d*) electrodos de disco giratorio y electrodos de disco y anillo, *e*) impedancia faradaica y capacitancia de doble capa, *f*) corriente límite y corriente de difusión, *g*) flujo laminar y flujo turbulento, *h*) potencial estándar de electrodo y potencial de semionda para una reacción reversible en un electrodo de trabajo, *i*) métodos de redisolución normales y métodos de redisolución adsortiva.
- 25.2** Defina *a*) voltamogramas *b*) voltametría hidrodinámica, *c*) capa de difusión de Nernst, *d*) electrodo de película de mercurio, *e*) potencial de semionda y *f*) sensor voltamétrico.
- 25.3** ¿Por qué se utiliza una concentración del electrolito soporte en la mayoría de los procedimientos electroanalíticos?
- 25.4** ¿Por qué el electrodo de referencia se coloca cerca del electrodo de trabajo en una celda de tres electrodos?
- 25.5** ¿Por qué es necesario usar soluciones amortiguadoras en la voltametría orgánica?
- 25.6** ¿Por qué los métodos de redisolución son más sensibles que otros procedimientos voltamétricos?

- 25.7** ¿Cuál es el propósito del paso de electrodeposición en el análisis de redisolución?
- 25.8** Enumere las ventajas y los inconvenientes del electrodo de película de mercurio comparándolo con los electrodos de platino o de carbono.
- 25.9** Sugiera cómo se podría usar la ecuación 25.13 para determinar el número de electrones n que intervienen en una reacción reversible en un electrodo.
- *25.10** La quinona experimenta una reducción reversible en un electrodo de trabajo voltamétrico. La reacción es



- a) Suponga que los coeficientes de difusión de la quinona y la hidroquinona son casi iguales y calcule el potencial de semionda aproximado (contra un electrodo de calomel saturado) para la reducción de la hidroquinona en un electrodo de disco giratorio en una solución amortiguada a pH 7.0.
- b) Repita el cálculo de a) para una solución amortiguada a pH 5.0.
- *25.11** En el experimento 1 se obtuvo un voltamograma cíclico en un electrodo de gota colgante de mercurio a partir de una solución de Pb^{2+} 0.167 mM a una velocidad de barrido de 2.5 V/s. En el experimento 2 se va a obtener un voltamograma cíclico para una solución de Cd^{2+} 4.38 mM usando el mismo electrodo de gota colgante de mercurio. ¿Cuál debe ser la velocidad de barrido en el experimento 2 para registrar la misma corriente máxima en ambos experimentos si los coeficientes de difusión de Cd^{2+} y Pb^{2+} son $0.72 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ y $0.98 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente? Suponga que las reducciones de ambos cationes son reversibles en el electrodo de gota colgante de mercurio.



- 25.12** La curva de trabajo para la determinación de la dopamina en un electrodo de nanoaguja mediante voltametría de pulsos diferenciales (figura 25.38) se construyó con los datos de la siguiente tabla.

Concentración de dopamina, mM	Corriente máxima, nA
0.093	0.66
0.194	1.31
0.400	2.64
0.596	4.51
0.991	5.97

- a) Mediante Excel efectúe un análisis de mínimos cuadrados de los datos para determinar la pendiente, la intersección con el eje de las y y las variables estadísticas de regresión, así como la desviación estándar respecto a la regresión.
- b) Con los resultados anteriores determine la concentración de dopamina en una solución de la muestra que produce una corriente pico de 3.62 nA. Este valor es el promedio de los experimentos duplicados.
- c) Calcule la desviación estándar de la concentración desconocida y su intervalo de confianza de 95% si se supone que cada uno de los datos de la tabla se obtuvo en un solo experimento.

- *25.13 Una solución que contiene Cd^{2+} se analizó voltamétricamente mediante el método de adición estándar. Veinticinco mililitros de la solución sin aire, que era de HNO_3 1 M, produjo una corriente limitante neta de $1.78 \mu\text{A}$ en un electrodo de trabajo giratorio de película de mercurio a un potencial de -0.85 V (contra electrodo de calomel saturado). Después de la adición de 5.00 mL de una solución patrón $2.25 \times 10^{-3} \text{ M}$ de Cd^{2+} la solución resultante produjo una corriente de $4.48 \mu\text{A}$. Calcule la concentración de Cd^{2+} en la muestra.

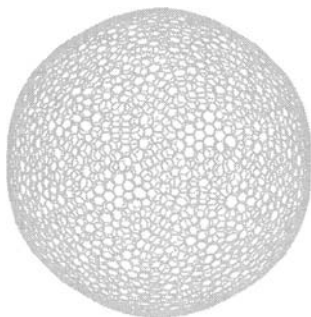


- 25.14 El ion sulfato se puede determinar mediante un procedimiento de titulación amperométrica con Pb^{2+} como titulante. Si el potencial de un electrodo de película de mercurio giratorio se ajusta a -1.00 V contra un electrodo de calomel saturado, la corriente se puede usar para supervisar la concentración de Pb^{2+} durante la titulación. En un experimento de calibración, la corriente limitante, después de la corrección por corrientes de fondo y residuales, se determinó que estaba relacionada con la concentración de Pb^{2+} mediante $i_l = 10c_{\text{Pb}^{2+}}$, donde i_l es la corriente limitante en mA y $c_{\text{Pb}^{2+}}$ es la concentración de Pb^{2+} en mM. La reacción de titulación es



Si 25 mL de $0.025 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ se titulan con $0.040 \text{ M Pb(NO}_3)_2$, elabore la curva de titulación en formato de hoja de cálculo y grafique la corriente límite contra el volumen de titulante.

- 25.15 Suponga que el electrodo esférico se fabrica con una sola nanocebolla, $\text{C}_{60}\text{--C}_{240}\text{--C}_{540}\text{--C}_{960}\text{--C}_{1500}\text{--C}_{2160}\text{--C}_{2940}\text{--C}_{3840}\text{--C}_{4860}$, que se muestra aquí. Las nanocebollas están formadas por *fullerenos* concéntricos de dimensiones cada vez más grandes como se indica en la fórmula. Suponga que la nanocebolla se sintetizó con un extremo de nanotubo de carbono de dimensiones y potencia suficientes que puede conectarse eléctricamente a una aguja de tungsteno de $0.1 \mu\text{m}$ y que ésta y el extremo del nanotubo se pueden aislar en forma conveniente de modo que sólo la superficie de la nanocebolla quede expuesta.



- Dado que el radio de la nanocebolla es de 3.17 nm , determine el área superficial en cm^2 , no tome en cuenta el área del nanotubo unido.
- Si el coeficiente de difusión del analito A es $8 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, calcule el gradiente de concentración y la corriente para A a una concentración de 1.00 mM en los siguientes tiempos después de la aplicación de un voltaje al cual se reduce A: $1 \times 10^{-8} \text{ s}$, $1 \times 10^{-7} \text{ s}$, $1 \times 10^{-6} \text{ s}$, $1 \times 10^{-5} \text{ s}$, $1 \times 10^{-4} \text{ s}$, $1 \times 10^{-3} \text{ s}$, $1 \times 10^{-2} \text{ s}$, $1 \times 10^{-1} \text{ s}$, 1 s y 10 s .
- Determine la corriente en estado estable.
- Determine el tiempo necesario para que el electrodo alcance la corriente de estado estable después de la aplicación del escalón de voltaje.
- Repita estos cálculos para un electrodo esférico de platino de $3 \mu\text{m}$ y para un electrodo esférico de iridio cuya área superficial es de 0.785 mm^2 .
- Compare los resultados de los tres electrodos y analice cualquier diferencia que observe.

- 25.16** a) ¿Cuáles son las ventajas de ejecutar una voltametría con microelectrodos?
 b) ¿Es posible que un electrodo sea demasiado pequeño? Explique su respuesta.



Problema de reto

- 25.17** Se ha propuesto un nuevo método para determinar volúmenes ultrapequeños (nL) mediante voltametría de redisolución anódica (W. R. Vandaveer e I. Fritsch, *Anal. Chem.*, **2002**, *74*, p. 3575). En este método se deposita un metal en forma exhaustiva de un pequeño volumen que se medirá en un electrodo, a partir del cual se redissolverá después. El volumen de la solución V_s se relaciona con la carga total Q requerida para redissolver el metal mediante

$$V_s = \frac{Q}{nFC}$$

donde n es la cantidad de moles de electrones por mol de analito, F es el faraday y C es la concentración molar del ion metálico antes de la electrólisis.

- a) Empiece con la ley de Faraday (véase la ecuación 22.8) para deducir la ecuación anterior para V_s .
 b) En un experimento, el metal depositado fue $\text{Ag}(s)$ procedente de una solución 8.00 mM de AgNO_3 . La solución se sometió a electrólisis durante 30 min a un potencial de -0.700 V contra una capa superior de oro como falsa referencia. Se utilizó un electrodo tubular de nanobanda. Luego, la plata en el electrodo se redissolvió anódicamente con una velocidad de barrido lineal de 0.10 V/s. La tabla siguiente representa los resultados idealizados de la redisolución anódica. Mediante integración determine la carga total requerida para redissolver la plata que está en el electrodo tubular. Puede hacer una integración manual por la regla de Simpson o efectuar la integración con Excel.⁴⁹ Luego de calcular la carga, determine el volumen de la solución a partir de la cual se depositó la plata.

Potencial, V	Corriente, nA	Potencial, V	Corriente, nA
-0.50	0.000	-0.123	-1.10
-0.45	-0.02	-0.10	-0.80
-0.40	-0.001	-0.115	-1.00
-0.30	-0.10	-0.09	-0.65
-0.25	-0.20	-0.08	-0.52
-0.22	-0.30	-0.065	-0.37
-0.20	-0.44	-0.05	-0.22
-0.18	-0.67	-0.025	-0.12
-0.175	-0.80	0.00	-0.05
-0.168	-1.00	0.05	-0.03
-0.16	-1.18	0.10	-0.02
-0.15	-1.34	0.15	-0.005
-0.135	-1.28	—	—

- c) Recomiende experimentos para demostrar si toda la Ag^+ se redujo a $\text{Ag}(s)$ en el paso de depósito.
 d) ¿Importaría si la gotita no fuera un hemisferio? ¿Por qué sí o por qué no?
 e) Describa otro método con el cual podría probar el método propuesto.

⁴⁹S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, cap. 11, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

Medición de las partes para entender el todo: el microfisiómetro

Las ciencias biológicas, las ciencias biomédicas y de hecho toda la ciencia confía desde siempre en el análisis clínico para proporcionar información fundamental sobre los detalles de los sistemas complejos. Con ayuda de la información analítica, a menudo obtenida en momentos muy diferentes y en muchos lugares distintos, los científicos pretenden crear modelos de sistemas complejos que podrían llevar a entender las interacciones detalladas de las cosas vivas con sus ambientes. En años recientes el campo nuevo de la *biología de sistemas* ha enfocado el problema de arriba hacia abajo y no de abajo hacia arriba. Al aplicar el conocimiento y las herramientas de diversos campos, como análisis de sistemas, computación, diseño experimental, genómica y química analítica, los modelos de interacciones intracelulares bioquímicas y genéticas están en vías de perfeccionamiento para ayudar a descubrir fármacos y en el diagnóstico médico. Estos modelos tienen una fuerte dependencia de la disponibilidad de instrumentos para proporcionar mediciones rápidas en tiempo real, de alto rendimiento, exactas y de diversas variables en organismos vivos.¹

En toda la sección 4 se han estudiado muchos instrumentos y dispositivos electroquímicos que tienen la capacidad de determinar con rapidez y exactitud analitos de baja concentración. Uno de dichos dispositivos es el sensor potenciométrico fotodireccionable (véase sección 23F.2). Se le han hecho varias modificaciones, las cuales se han utilizado para estudiar una variedad de sistemas biológicos.² Estos dispositivos han sido útiles sobre todo en la supervisión en tiempo real de la acidificación extracelular y de los cambios en la composición iónica resultantes de la estimulación de los procesos metabólicos en las células vivas. Para entender la importancia de dichas mediciones es útil referirse a la figura IA4.1, la cual ilustra algunos de los procesos que producen acidificación extracelular.

Por ejemplo, cuando los receptores unidos a la membrana se enlazan a los ligandos adecuados, procesos metabólicos como la respiración o la glucólisis son estimulados para producir productos de desecho ácidos en el interior de la célula. Los protones se intercambian con iones sodio y, como resultado, el ion bicarbonato y el ion cloruro se intercambian en la membrana celular. Estos procesos ocasionan una disminución en el pH de la solución que rodea a la célula. El microfisiómetro con sensores potenciométricos fotodireccionables (SPF) se utiliza para supervisar dichos cambios de pH y también puede medir las variaciones en la concentración de otras especies iónicas importantes.

¿Cómo funciona el sistema?

Según se describe en la sección 23F.2, el Sensor Potenciométrico fotodireccionable (LAPS) es un dispositivo semiconductor sensible al pH. Cuando la luz choca contra su superficie, la cual se mantiene a un cierto voltaje de polarización contra un electrodo de referencia, se produce una corriente fotoeléctrica que es proporcional al pH de la solución. En la figura IA4.2 se ilustran los elementos básicos de una instrumentación del microcircuito del LAPS diseñado para vigilar de manera simultánea las concentraciones de H^+ , Ca^{2+} y K^+ .³

Sin modificación, el microcircuito del LAPS es selectivo respecto al H^+ . Como se puede ver en la figura IA4.2, se utiliza un potencióstato para polarizar el microcircuito contra un electrodo de referencia. Cuando la luz procedente de uno de los diodos emisores de luz choca contra la superficie del microcircuito polarizado, aparece una corriente fotoeléctrica entre el contraelectrodo y el electrodo de trabajo. El dispositivo del potencióstato que convierte corriente en voltaje produce un voltaje proporcional al pH que entonces pasa a un amplificador de cierre cuya salida se registra mediante un osciloscopio digital. El osciloscopio está conectado a una computadora en la que se guarda la información y se manipula. La respuesta del SPF ante cambios en el pH se muestra en la figura IA4.3. En el experimento que se muestra, el LAPS estuvo expuesto a una solución amortiguadora, (y la corriente fotoeléctrica se registró en función del voltaje polarizado; el experimento se repitió con dos soluciones amortiguadoras distintas.

La línea vertical indica un voltaje de polarización que es adecuado para medir los cambios en el pH a partir de los cambios en la corriente fotoeléctrica y en el voltaje resultante ΔV . El LAPS se vuelve selectivo respecto a otras especies aplicando ionóforos a distintas áreas de la superficie del dispositivo (véase sección 23D.6). Entonces, los diodos emisores de luz se colocan frente a cada una de las zonas con ionóforos como se ilustra en la figura IA4.2 de modo que al activar en forma alternada cada una de las fuentes de luz se pueden registrar a su vez las corrientes fotoeléctricas que corresponden a cada una de las especies seleccionadas. Las curvas de respuesta como las de la figura IA4.3 se registran para cada uno de los ionóforos con el fin de calibrar el instrumento para cada especie detectada.

Aunque las tres áreas del LAPS se pueden atender en forma sucesiva, también se pueden dirigir de manera simultánea mediante las configuraciones que se observan en la figura IA4.2. En este esquema, los tres diodos emisores

¹H. Kitano, *Science*, **2002**, 295, p. 1662.

²F. Hafner, *Biosens. Bioelectron.*, **2000**, 15, p. 149.

³W. Yicong, W. Ping, Y. Xuesong, Z. Qingtao, L. Rong, Y. Weimin y Z. Xiaoxiang, *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16, p. 277.

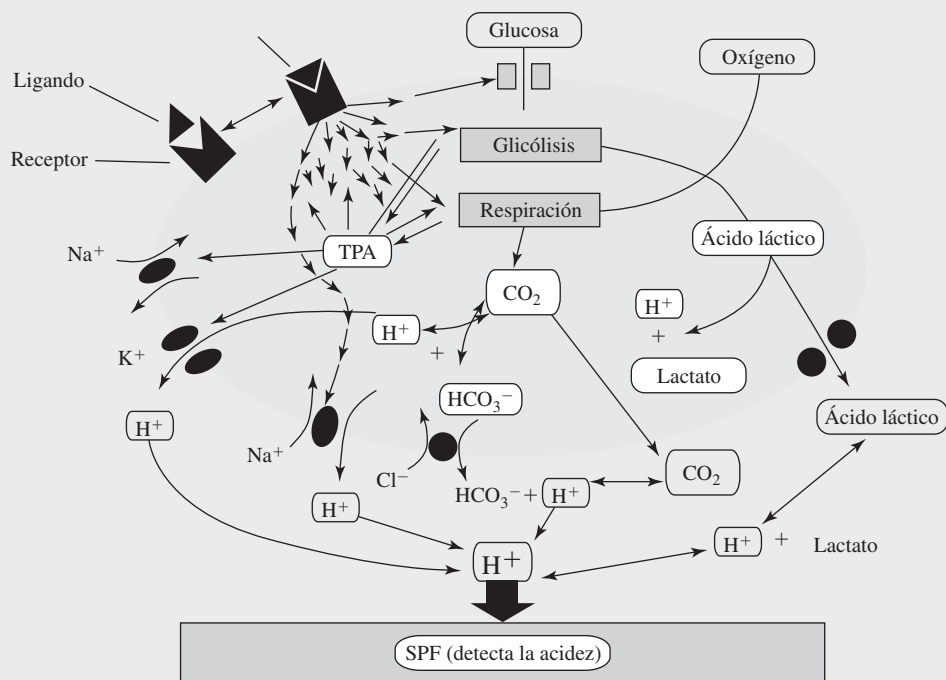


FIGURA IA4.1 Procesos biológicos en la acidificación extracelular. Cuando se estimula un receptor, se inducen trayectorias para la transducción de señales. El consumo del trifosfato de adenosina (ATP) se compensa luego mediante la captación y metabolismo incrementados de glucosa, lo cual da como resultado un incremento de la excreción de los productos de desecho ácidos. La acidificación extracelular se mide mediante el LAPS. (Tomado de F. Hafner, *Biosens. Bioelectron.*, **2000**, 15, p. 149. Con autorización.)

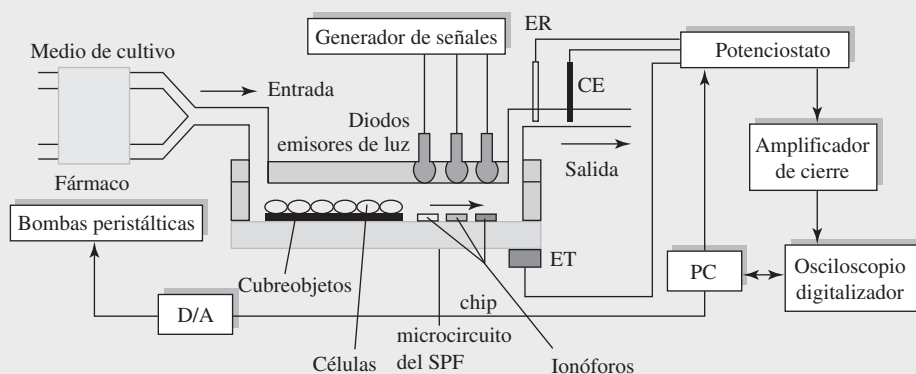
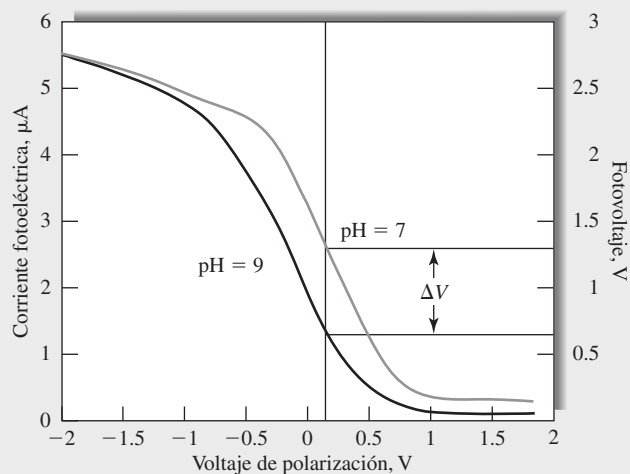


FIGURA IA4.2 Esquema del sistema basado en el LAPS para supervisar cambios en las concentraciones extracelulares de H^+ , Ca^{2+} y K^+ en estudios de los efectos de los fármacos en las células vivas. ER = electrodo de referencia, CE = contraelectrodo, ET = electrodo de trabajo, PC = computadora personal, D/A = convertidor de señales digitales en analógicas. (Adaptación de W. Yicong et al., *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16, p. 277. Con autorización.)

FIGURA IA4.3 Respuesta del LAPS a los cambios en el voltaje de polarización para dos soluciones amortiguadoras. El cambio en el voltaje de salida ΔV del sistema a un voltaje de polarización constante de 0.25 V es proporcional al cambio en el pH sobre la superficie del SPF. (Adaptación de W. Yicong *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16, p. 277. Con autorización.)



de luz que corresponden a K^+ , Ca^{2+} y H^+ se modulan de manera independiente mediante un generador de señales con tres salidas de frecuencia: 3 kHz, 3.5 kHz y 4 kHz. La información referente a la concentración de todas las especies se codifica en uno de estos componentes de frecuencia. Por ejemplo, el K^+ se codifica a 3 kHz, el Ca^{2+} a 3.5 kHz, y el H^+ a 4 kHz. La señal en la salida del potencióstato para una solución que contiene las tres especies se muestra en la figura IA4.4a. Esta onda compleja se somete después a la transformación de Fourier y un filtrado digital (véase la sección 5C.2) para producir el espectro de frecuencia de

la figura IA4.4b. La amplitud de la señal para cada una de las especies se extrae luego del espectro y su transformada inversa proporciona una medida de la concentración de la especie seleccionada. A una velocidad de adquisición de datos de 100 kHz, cada 1024 puntos de señal en el dominio del tiempo se registra en casi 10 ms. En el caso de experimentos en los cuales las concentraciones de las tres especies se supervisan en función del tiempo, las señales en el dominio del tiempo se registran y almacenan en el disco duro de la computadora para estudiarlas después y graficar los resultados.

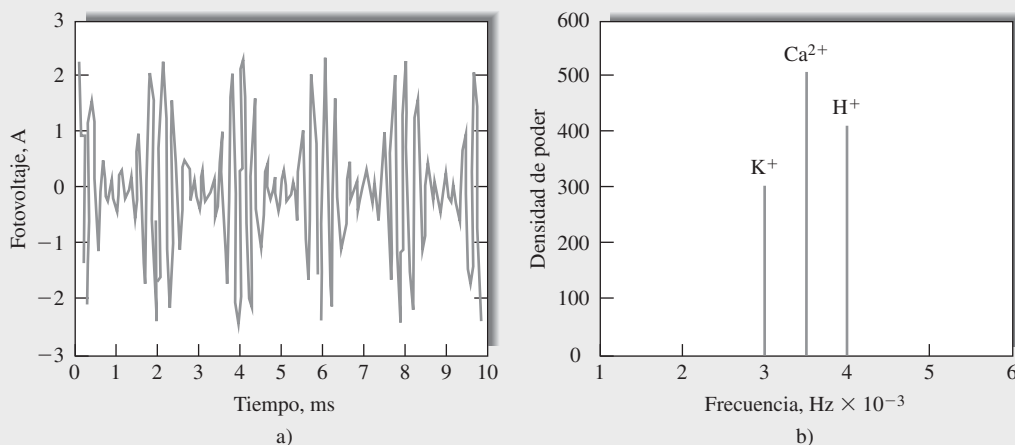


FIGURA IA4.4 a) Salida en el dominio del tiempo del LAPS para una solución que contiene K^+ , Ca^{2+} y H^+ . Se tomaron muestras de la señal a 100 kHz y la señal en el dominio del tiempo contenía 1024 puntos. b) Transformación de Fourier de la señal en a). (Adaptación de W. Yicong *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16, p. 277. Con autorización.)

Estudio de los efectos de los fármacos en las células vivas

El sistema del LAPS, que se explicó en los párrafos anteriores, se puede aplicar en el estudio de los efectos de los fármacos en las células vivas colocadas directamente en el sensor, como se puede ver en la figura IA4.2. Dos bombas peristálticas, controladas por la computadora del sistema, hacen que una o las dos soluciones fluyan por las células hasta la zona activa del LAPS. La primera solución es el medio de cultivo (MC) RPMI 1640 y la otra solución contiene el fármaco que se está estudiando, que en el caso de este ejemplo es fenobarbital (FB). En un experimento representativo, las células de músculo cardíaco de rata se colocaron en el canal de flujo del LAPS, y el MC y el FB pasaban alternadamente por las células y llegaban al área activa del LAPS por periodos de 3 minutos. Los resultados del análisis de datos del LAPS se muestran en la figura IA4.5, en la cual las concentraciones de K^+ , Ca^{2+} y H^+ se grafican contra el tiempo.

Primero, el medio de cultivo pasa por las células durante 3 minutos. Por lo general, durante este tiempo, la concentración de los tres iones disminuye. Luego, el fenobarbital pasa por las células por tres minutos. Casi a la mitad del periodo del FB, las concentraciones de Ca^{2+} y H^+ empiezan a aumentar y la de K^+ empieza a disminuir. Estos cambios continúan en el segundo lapso del medio de cultivo y el cambio se invierte para los tres iones iniciando en casi el mismo punto durante el periodo. En los periodos siguientes se repite casi el mismo comportamiento cuando el medio de cultivo y el fenobarbital pasan de manera alternada por las células.

En experimentos similares, las células se expusieron a otros fármacos y se compararon las respuestas fisiológicas de las células. Se supone que los fármacos que causan respuestas fisiológicas similares funcionan mediante mecanismos parecidos. Por ejemplo, la dilantina ocasiona una respuesta un poco distinta con los tres iones supervisados, lo cual hace pensar que está activo un mecanismo diferente.

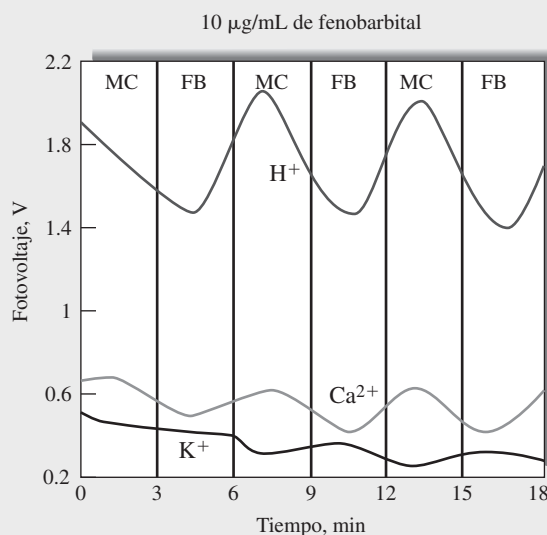


FIGURA IA4.5 Resultados de la supervisión con LAPS de K^+ , Ca^{2+} y H^+ mientras se administra fenobarbital (FB) a células del músculo cardíaco de ratas. (Adaptación de W. Yicong *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16, p. 277. Con autorización.)

El microfisiómetro de LAPS combina varias técnicas interesantes así como estrategias de medición para generar datos experimentales de varias variables en la producción de iones sobre la superficie de las células vivas. Este ejemplo⁴ ilustra la manera en que la miniaturización, los adelantos en los transductores y sensores de estado sólido y los modernos métodos de adquisición de datos y manipulación de los mismos siguen proporcionando nuevas herramientas para la investigación en la vanguardia de la química, biología, bioquímica, biología de sistemas y otras biociencias.

⁴En el caso de otros sistemas relacionados consulte S. E. Eklund *et al.*, *J. Electroanal. Chem.*, **2006**, 587, p. 333; *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 519.



En la foto se puede ver un moderno sistema de cromatografía de líquidos. En la parte superior derecha están los envases de los solventes, un área para el tomador de muestras automatizado y dos bombas que se usan para producir un gradiente binario. En la parte superior izquierda está la zona de la columna con termostato. En la parte inferior izquierda se muestra un detector UV-visible con diodos en serie. (Cortesía de Perkin-Elmer, Inc., Shelton, CT.)

Los métodos que se tratan en esta sección se utilizan para separar diversos componentes de muestras analíticas antes de determinarlos por medio de métodos instrumentales. El capítulo 26 de esta sección comienza con una introducción a la terminología y a la teoría de las separaciones cromatográficas y hace hincapié en el mejoramiento de las variables experimentales para lograr un análisis cualitativo y cuantitativo eficaz. El estudio continúa con un análisis minucioso de la teoría y la práctica de la cromatografía de gases en el capítulo 27. La cromatografía de líquidos, el soporte de la cromatografía analítica, es el tema de capítulo 28. En el capítulo 29 se explican las técnicas de la cromatografía de fluidos supercríticos y la extracción de fluidos supercríticos. Esta sección concluye con un estudio en el capítulo 30 de campos nuevos, como la electroforesis capilar, la electrocromatografía capilar y el fraccionamiento por flujo en campos. Las aplicaciones de cada método se tratan en el capítulo correspondiente.

SECCIÓN CINCO

Métodos de separación

- 26 Introducción a las separaciones cromatográficas
- 27 Cromatografía de gases
- 28 Cromatografía de líquidos
- 29 Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos
- 30 Electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y fraccionamiento por flujo y campo

Análisis instrumental en acción
Encontrando la acrilamida

Introducción a las separaciones cromatográficas

En general, hay muy pocos métodos para el análisis químico que son específicos para una sola especie. En el mejor de los casos, los métodos analíticos son selectivos para unas pocas especies o para una clase de ellas. Por consiguiente, la separación del analito de las posibles interferencias suele ser una etapa de vital importancia en los procedimientos analíticos. Hasta mediados del siglo XX, las separaciones analíticas se llevaban a cabo con métodos clásicos, como precipitación, destilación y extracción. Ahora, las separaciones analíticas se realizan mediante cromatografía y electroforesis, en especial cuando las muestras están formadas por varios componentes y son complejas.

La *cromatografía* es un potente método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. La técnica fue inventada y denominada así por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios del siglo XX. Él la utilizaba para separar varios pigmentos vegetales, como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar soluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna, lo que justifica el nombre que eligió para el método (del griego *chroma* que significa “color”, y *graphein* que significa “escribir”).

Las aplicaciones de la cromatografía han aumentado en forma explosiva en los últimos cincuenta años debido no sólo al perfeccionamiento de nuevos y diversos tipos de técnicas cromatográficas, sino también a las necesidades crecientes de los científicos de mejores métodos para la caracterización de mezclas complejas. La tremenda influencia de esos métodos en la ciencia se confirmó cuando se otorgó el Premio Nobel de Química de 1952 a A. J. P. Martin y R. L. M. Synge por sus descubrimientos en este campo. Muchos de los Premios Nobel concedidos desde entonces se han basado en trabajos en los que la cromatografía desempeña un papel vital.

26A DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA CROMATOGRAFÍA

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios.¹ En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve con una *fase móvil* —que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico— la cual se hace pasar a través de una *fase estacionaria* inmisible fija en una columna o en una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente *retenidos* por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil. En cambio, los componentes unidos débilmente a

¹ Algunas referencias generales sobre cromatografía son, entre otras, J. M. Miller, *Chromatography: Concepts and Contrasts*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 2005; *Chromatography: Fundamentals of Chromatography and Related Differential Migration Methods*, E. F. Heftman, ed., Amsterdam, Boston: Elsevier, 2004; C. F. Poole, *The Essence of Chromatography*, Amsterdam, Boston: Elsevier, 2003; J. Cazes y R. P. W. Scott, *Chromatography Theory*, Nueva York: Dekker, 2002; A. Braithwaite y F. J. Smith, *Chromatographic Methods*, 5a. ed., London: Blackie, 1996; R. P. W. Scott, *Techniques and Practice of Chromatography*, Nueva York: Marcel Dekker, 1995; J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, Nueva York: Wiley, 1991.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

TABLA 26.1 Clasificación de los métodos cromatográficos en columna.

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
1. Cromatografía de gases (CG)	a) Cromatografía gas-líquido (CGL)	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida	Distribución entre un gas y un líquido
	b) Gas-sólido	Sólido	Adsorción
2. Cromatografía de líquidos (CL)	a) Líquido-líquido, o reparto	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida	Distribución entre líquidos inmiscibles
	b) Líquido-sólido, o adsorción	Sólido	Adsorción
	c) Intercambio de iones	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	d) Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un sólido polimérico	Distribución-exclusión
	e) Afinidad	Grupo de líquidos específicos unido a una superficie sólida	Distribución entre el líquido de la superficie y el líquido móvil
3. Cromatografía de fluidos supercríticos (CFS; fase móvil: fluido supercrítico)		Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie enlazada

la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de las distintas velocidades de migración, los componentes de la muestra se separan en *bandas* o *zonas* distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa.

26A.1 Clasificación de los métodos cromatográficos

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de dos maneras. La primera de ellas se basa en los medios físicos por medio de los cuales las fases estacionaria y móvil se ponen en contacto. En la *cromatografía en columna*, un tubo estrecho contiene la fase estacionaria a través de la cual la fase móvil se fuerza a pasar por presión. En la *cromatografía en plano*, la fase estacionaria se fija sobre una placa plana o en los intersticios de un papel; en este caso la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad. En el presente capítulo y en los tres que le siguen el estudio se centra en la cromatografía en columna. La sección 28I se destina a los métodos de cromatografía en plano. Es importante señalar que los equilibrios en los que se basan los dos tipos de cromatografía son idénticos, y que la teoría desarrollada para la cromatografía en columna se adapta también con facilidad a la cromatografía en plano.

Una clasificación más fundamental de los métodos cromatográficos se basa en los tipos de fases móviles y estacionarias, y en la clase de equilibrios involucrados en la transferencia de los solutos entre las fases. En la tabla 26.1 se enlistan las tres categorías generales de cromatografía: *cromatografía de gases* (CG), *cromatografía de líquidos* (CL) y *cromatografía de fluidos su-*

percríticos (CFS). Como su nombre lo indica, las fases móviles en las tres técnicas son gases, líquidos y fluidos supercríticos, respectivamente. Como se muestra en la columna 2 de la tabla, las dos primeras clases generales comprenden varios métodos cromatográficos específicos.

Vale la pena hacer notar que sólo la cromatografía de líquidos puede llevarse a cabo en columnas o sobre superficies planas; por otra parte, tanto la cromatografía de gases como la de fluidos supercríticos están restringidas a los procedimientos en columna, de tal manera que las paredes de la columna contienen la fase móvil.

26A.2 Cromatografía de elución en columna

La figura 26.1 muestra en forma esquemática cómo dos sustancias A y B se separan en una columna empacada mediante *elución*. La columna está constituida por un tubo angosto relleno con un sólido inerte finamente dividido que mantiene a la fase estacionaria en su superficie. La fase móvil ocupa los espacios abiertos entre las partículas del material de empaque. Para empezar, una solución de la muestra que contiene una mezcla de A y de B en la fase móvil se introduce en la parte superior de la columna como un tapón angosto, como se puede ver en la figura 26.1, en el tiempo t_0 . Entonces los dos componentes se distribuyen entre las fases móvil y estacionaria. La elución implica la purificación de una especie por lavado en una columna mediante la adición continua de fase móvil nueva. En la cromatografía moderna, la adición continua se consigue por medio de una bomba en CL y en CFS o por la aplicación de presión en CG.

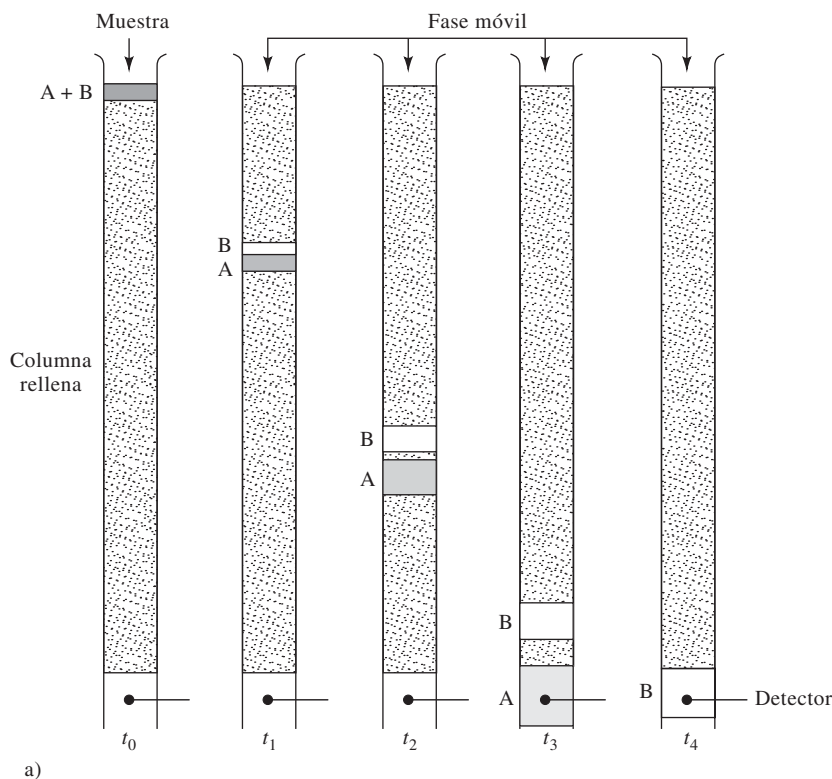


FIGURA 26.1 a) Diagrama que muestra la separación de una mezcla de componentes A y B por cromatografía de elución en columna. b) Señal de salida del detector en las distintas etapas de la elución que se muestran en a).

Con la primera introducción de fase móvil nueva, el *eluyente* (la parte de la muestra contenida en la fase móvil) avanza hacia abajo por la columna, donde tiene lugar un *reparto o distribución* entre la fase móvil y la fase estacionaria (tiempo t_1). El reparto o distribución entre la fase móvil fresca y la fase estacionaria se efectúa de manera simultánea en el sitio de la muestra original.

A medida que la fase móvil limpia fluye por la columna, transporta moléculas de soluto hacia abajo de la columna en una serie continua de transferencias entre las dos fases. Pero como el movimiento de los solutos sólo puede ocurrir en la fase móvil, la *velocidad media* a la que una zona de soluto migra hacia abajo en la columna *depende de la fracción de tiempo que permanece o reside en dicha fase*. Esta fracción de tiempo es pequeña para las sustancias que son retenidas fuer-

temente por la fase estacionaria, por ejemplo, el compuesto B en la figura 26.1, y grande cuando el soluto reside principalmente en la fase móvil (componente A). De manera ideal, las diferencias de velocidad que resultan hacen que los componentes de la mezcla se separen en *bandas*, o *zonas*, que se localizan a lo largo de la columna (véase el tiempo t_2 en la figura 26.1). El aislamiento de las especies separadas se logra haciendo pasar una cantidad suficiente de fase móvil por la columna hasta que las bandas individuales llegan al extremo, es decir, son *eluidas o lavadas* de la columna, en donde se detectan o se recogen (tiempos t_3 y t_4 en la figura 26.1).

Dilución del analito

La figura 26.1 ilustra una importante característica común al proceso cromatográfico, a saber, la dilución del analito siempre acompaña a la separación cromatográfica. Por tanto, el tamaño de la banda original que con-



Simulación: aprenda más sobre **cromatografía de elución**.

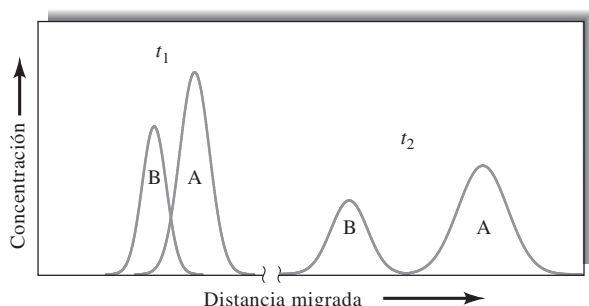


FIGURA 26.2 Perfiles de concentración de las bandas de los solutos A y B a dos tiempos distintos en su migración columna abajo en la figura 26.1. Los tiempos t_1 y t_2 se indican en la figura 26.1.

tiene los analitos en la figura es notablemente más pequeña que cualquiera de las dos zonas que llegan al detector, lo cual significa que se produce una importante dilución de los analitos mientras están siendo separados. En consecuencia, los detectores empleados para los analitos separados con frecuencia deben ser más sensibles que los que se requerirían si el proceso de separación fuera innecesario.

Cromatogramas

Si al final de la columna se coloca un detector que responde a la concentración del soluto y se registra su señal en función del tiempo, o del volumen de fase móvil añadido, se obtiene una serie de picos como se muestra en la parte inferior de la figura 26.1. Este gráfico denominado *cromatograma*, es útil tanto para los análisis cualitativo como cuantitativo. La posición de los picos en el eje del tiempo puede servir para identificar los componentes de la muestra; las áreas bajo los picos proporcionan una medida cuantitativa de la cantidad de cada componente.

Mejoramiento del rendimiento de la columna

En la figura 26.2 se observan los perfiles de concentración para las bandas que contienen los solutos A y B en la figura 26.1 en el tiempo t_1 y en el tiempo posterior t_2 .² Como la especie B es retenida con más fuerza por la fase estacionaria que A, se retrasa durante la migración. Observe que en el descenso por la columna aumenta la distancia entre las dos bandas. Sin embargo, al mismo tiempo tiene lugar un ensanchamiento de

²Observe que las posiciones relativas de las bandas de A y B en el perfil de concentración que se muestra en la figura 26.2 parece estar invertida con respecto a las posiciones de la parte inferior de la figura 26.1. La diferencia es que la abscisa representa la distancia a largo de la columna en la figura 26.2, pero en la figura 26.1 corresponde al tiempo. Entonces, en la figura 26.1, el frente de un pico queda a la izquierda y la cola a la derecha; en la figura 26.2 pasa lo contrario.

ambas zonas, lo que disminuye la eficacia de la columna como sistema de separación. Aunque el ensanchamiento de banda es inevitable, por lo común se pueden encontrar condiciones en las que ocurra con más lentitud. Por consiguiente, tal como se muestra en las figuras 26.1 y 26.2, con frecuencia es posible tener una clara distinción de las especies siempre y cuando la columna sea lo suficientemente larga.

Diversas variables químicas y físicas influyen en las velocidades de separación de las bandas y en el ensanchamiento de las mismas. Por consiguiente, a menudo se pueden lograr mejores separaciones controlando las variables que 1) incrementan la velocidad de separación de la banda y 2) disminuyen la velocidad de ensanchamiento de la banda. Estas opciones se ilustran en la figura 26.3. Las variables que influyen en la velocidad de migración relativa de las zonas de soluto a través de una fase estacionaria se tratan en la siguiente sección. En la sección 26C se consideran los factores que influyen en la velocidad de ensanchamiento de las bandas.

26B VELOCIDADES DE MIGRACIÓN DE LOS SOLUTOS

La eficacia de una columna cromatográfica para separar dos solutos depende en parte de las velocidades relativas con las que se lavan o se purifican las dos especies. Esas velocidades están determinadas por la

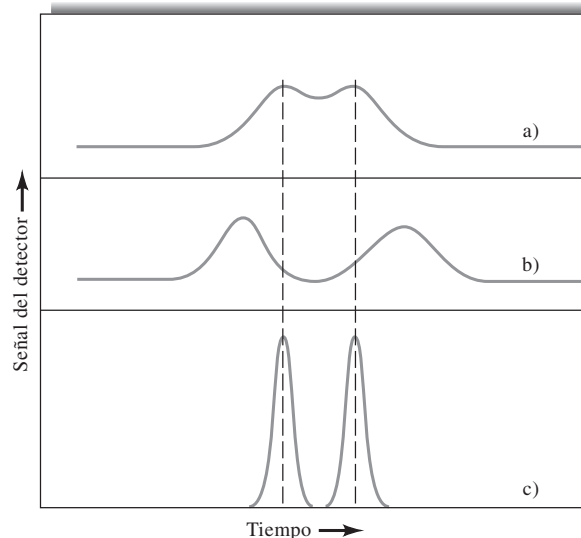
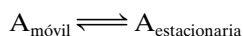


FIGURA 26.3 Cromatogramas de dos componentes que ilustran dos métodos para mejorar la separación: a) cromatograma original con los picos traslapados; b) mejora producida por un aumento en la separación de las bandas, y c) mejoramiento por una disminución de la anchura.

magnitud de las constantes de equilibrio para las reacciones mediante las cuales los solutos se distribuyen entre las fases estacionaria y móvil.

26B.1 Constantes de distribución

A menudo, los equilibrios de distribución en la cromatografía se expresan mediante ecuaciones sencillas que suponen la transferencia de un analito entre las fases estacionaria y móvil. Entonces, para la especie A del soluto se puede escribir:



La constante de equilibrio K_c para la distribución de la especie A entre las dos fases se denomina *constante de distribución* y se define como

$$K_c = \frac{(a_A)_S}{(a_A)_M} \quad (26.1)$$

donde $(a_A)_S$ es la actividad del soluto A en la fase estacionaria y $(a_A)_M$ es su actividad en la fase móvil. Cuando las concentraciones son bajas o cuando intervienen especies no aniónicas, los coeficientes de actividad (véase apéndice 2) se acercan a la unidad. En estas condiciones, se sustituyen las actividades c_S , por la concentración analítica molar del soluto en la fase estacionaria y por c_M , su concentración analítica molar en la fase móvil. Entonces, es posible escribir la ecuación 26.1 como

$$K_c = \frac{c_S}{c_M} = \frac{n_S/V_S}{n_M/V_M} \quad (26.2)$$

donde n_S y n_M son las cantidades de moles de analito en las dos fases y V_S y V_M son los volúmenes de las dos fases. En una situación ideal la constante de distribución, a veces llamada *razón* o *coeficiente de reparto* o *distribución*,³ es constante a lo largo del amplio intervalo de concentraciones de soluto; es decir, c_S es directamente proporcional a c_M . La cromatografía en la que se aplica la ecuación 26.2 se denomina *cromatografía lineal* y da como resultado características tales como picos simétricos tipo Gauss y tiempos de retención independientes de la cantidad de analito inyectado. En este texto el análisis se restringe al estudio teórico de la cromatografía lineal.

³Véanse en L. S. Ettre, *Pure Appl. Chem.*, **1993**, 65, p. 819 las recomendaciones de la Comisión de Nomenclatura Analítica para cromatografía de la IUPAC. El Comité recomienda el empleo del término constante de distribución K_c en lugar del término más antiguo “coeficiente de reparto” o “relación de reparto”. Tenga en cuenta que ambos términos se hallan en las publicaciones sobre cromatografía.

Observe que K_c es la cantidad fundamental que afecta la distribución de los componentes entre las fases y, por tanto, las separaciones. Para una elección adecuada de la fase móvil, de la fase estacionaria o de ambas, la constante de distribución se puede manipular dentro de límites. Si se ajusta el volumen de una fase, es posible modificar la relación molar en las dos fases.

26B.2 Tiempo de retención

Aunque la constante de distribución es fundamental para las separaciones cromatográficas, no se puede medir con facilidad. En cambio, es factible medir la cantidad llamada *tiempo de retención* que es una función de K_c . Para ver cómo se hace esto refiérase a la figura 26.4, que es un cromatograma sencillo de dos picos. El pico pequeño de la izquierda es para la especie que *no* es retenida por la columna. A menudo, la muestra o la fase móvil contiene una especie que no se queda en la columna. Cuando ocurre así, este tipo de especie puede añadirse para facilitar la identificación de los picos. El tiempo t_M necesario para que la especie no retenida alcance el detector en algunas ocasiones se denomina *tiempo muerto* y proporciona una medida de la velocidad promedio de migración de la fase móvil, por lo que es un parámetro importante para identificar los picos del analito. Todos los componentes pasan un tiempo t_M en la fase móvil. El pico más grande de la derecha en la figura 26.4 es el de una especie del analito. El tiempo requerido para que esta zona llegue al detector después de la inyección de la muestra se denomina *tiempo de retención* y se le simboliza con t_R . El analito es retenido porque pasa un tiempo t_S en la fase estacionaria. Entonces, el tiempo de retención es

$$t_R = t_S + t_M \quad (26.3)$$

La velocidad lineal promedio de la migración del soluto a lo largo de la columna $\bar{v}$ (por lo regular, en cm/s) es

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad (26.4)$$

donde L es la longitud de la columna rellena. De manera semejante, la velocidad lineal promedio u de las moléculas en la fase móvil es

$$u = \frac{L}{t_M} \quad (26.5)$$

26B.3 Relación entre la tasa de flujo volumétrico y la velocidad del flujo lineal

Desde el punto de vista experimental, en la cromatografía, el flujo en la fase móvil está caracterizado por la tasa de flujo volumétrico F (cm³/min) en la salida de

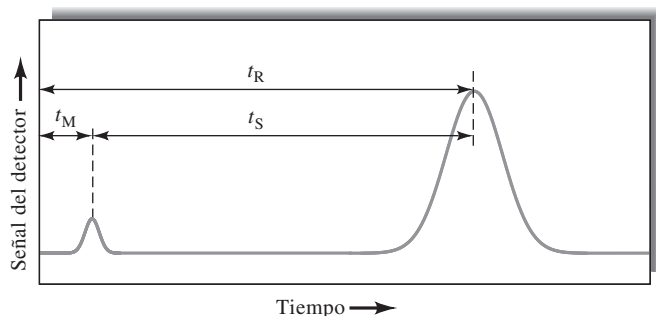


FIGURA 26.4 Cromatograma característico de una mezcla de dos componentes. El pico pequeño de la izquierda representa un soluto que no está retenido en la columna, por lo que llega al detector casi de inmediato después de empezar la elución. Por consiguiente, su tiempo de retención t_M es casi igual al tiempo que se requiere para que una molécula de la fase móvil pase por la columna.

la columna. En el caso de una columna tubular abierta, F está relacionada con la velocidad lineal en la salida de la columna u_o

$$F = u_o A = u_o \times \pi r^2 \quad (26.6)$$

donde A es el área de la sección transversal del tubo (πr^2). En el caso de una columna rellena, no se dispone del volumen completo de la columna para el líquido, por lo que la ecuación 26.6 se tiene que modificar a

$$F = \pi r^2 u_o \varepsilon \quad (26.7)$$

donde ε es la fracción del volumen total de la columna disponible para el líquido (porosidad de la columna).

26B.4 Relación entre tiempo de retención y constante de distribución

Para relacionar la velocidad de migración de un soluto con su constante de distribución, su velocidad se expresa como una fracción de la velocidad de la fase móvil:

$$\bar{v} = u \times (\text{fracción de tiempo que el soluto permanece en la fase móvil})$$

Sin embargo, esta fracción es igual al número promedio de moles de soluto en la fase móvil en cualquier instante dividido entre la cantidad total de moles de soluto en la columna:

$$\bar{v} = u \times \frac{\text{moles del soluto en la fase móvil}}{\text{moles totales del soluto}}$$

El número total de moles de soluto en la fase móvil es igual a la concentración molar, c_M , del soluto en esta fase multiplicada por el volumen, V_M . De manera similar, la cantidad de moles del soluto en la fase estacionaria está dada por el producto de la concentración, c_S , del soluto en la fase estacionaria por su volumen, V_S . Por tanto,

$$\bar{v} = u \times \frac{c_M V_M}{c_M V_M + c_S V_S} = u \times \frac{1}{1 + c_S V_S / c_M V_M}$$

Al sustituir la ecuación 26.2 en esta última ecuación se obtiene una expresión para la velocidad de migración del soluto en función de su constante de distribución y de los volúmenes de las fases estacionaria y móvil:

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + K_c V_S / V_M} \quad (26.8)$$

Los dos volúmenes se pueden calcular a partir del método por el cual se prepara la columna.

26B.5 La velocidad de migración del soluto: el factor de retención

El *factor de retención* k es un parámetro experimental importante que se usa con frecuencia para comparar las velocidades de migración de los solutos en las columnas.⁴ La razón por la cual k es tan útil es que no depende de la forma de la columna o de la tasa de flujo volumétrico. Esto quiere decir que para una combinación dada de soluto, fase móvil y fase estacionaria cualquier columna de cualquier forma que funciona a cualquier tasa de flujo de fase móvil dará el mismo factor de retención. En el caso del soluto A, el factor de retención k_A se define como

$$k_A = \frac{K_A V_S}{V_M} \quad (26.9)$$

donde K_A es la constante de distribución del soluto A. Si se sustituye la ecuación 26.9 en la 26.8 se obtiene

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + k_A} \quad (26.10)$$

⁴En la bibliografía vieja, esta constante se llamaba factor de capacidad y se simbolizaba con k' . En 1993, la Comisión de Nomenclatura Analítica de la IUPAC recomendó que esta constante se denominara *factor de retención* y que se simbolizara con k .

Para mostrar cómo se puede obtener k_A a partir de un cromatograma, se sustituyen las ecuaciones 26.4 y 26.5 en la ecuación 26.10:

$$\frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_M} \times \frac{1}{1 + k_A} \quad (26.11)$$

Al reordenar esta ecuación se tiene

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (26.12)$$

Tenga en cuenta que el tiempo que pasa en la fase estacionaria, $t_R - t_M$, se denomina algunas veces *tiempo de retención ajustado* y su símbolo es t'_R .

Como se muestra en la figura 26.4, t_R y t_M se obtienen con facilidad a partir del cromatograma. El factor de retención se calcula a partir de estas cantidades con la ecuación 26.12. Un factor de retención mucho menor que la unidad quiere decir que el soluto emerge de la columna en un tiempo cercano al tiempo muerto. Cuando el factor de retención es del orden de 20 a 30 o tal vez mayor, los tiempos de elución son excesivamente largos. Lo ideal es que las separaciones se realicen en condiciones en las que los factores de retención para los solutos de una mezcla oscilen entre 1 y 10. El perfeccionamiento de las separaciones (véase sección 26D) se consigue al mejorar los valores k de los componentes de interés.

26B.6 Velocidades de migración relativas: el factor de selectividad

El *factor de selectividad* α de una columna para los dos solutos A y B se define como

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} \quad (26.13)$$

donde K_B es la constante de distribución para la especie más fuertemente retenida B, y K_A es la constante para la especie A menos retenida, o que es eluida o lavada con más rapidez. De acuerdo con esta definición, *α siempre es mayor que la unidad.*

Al sustituir la ecuación 26.9 y la análoga para el soluto B en la ecuación 26.13 se obtiene una relación entre el factor de selectividad para los dos solutos y sus factores de retención:

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A} \quad (26.14)$$

donde k_B y k_A son los factores de retención de B y de A, respectivamente. La sustitución de la ecuación 26.12, para los dos solutos, en la ecuación 26.14 permite ob-

tener una ecuación que permite a su vez determinar α a partir de un cromatograma experimental:

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} \quad (26.15)$$

En la sección 26D.2 se muestra cómo se utilizan los factores de selectividad y de retención para calcular el poder de resolución de una columna.

26C ENSANCHAMIENTO DE BANDA Y EFICIENCIA DE LA COLUMNA

La eficiencia de una columna cromatográfica se ve afectada por la cantidad de ensanchamiento de banda que ocurre a medida que un compuesto pasa por la columna. Antes de definir la eficiencia de la columna en términos más cuantitativos, se examinan las razones por las cuales las bandas se ensanchan mientras bajan por la columna.

26C.1 Teoría cinética de la cromatografía

La *teoría cinética de la cromatografía* explica las formas y anchos de las bandas de elución en términos cuantitativos con base en un mecanismo de avance aleatorio para la migración de moléculas a través de la columna. El estudio detallado de esta teoría está fuera del alcance de este texto. Sin embargo, es posible dar una visión cualitativa de por qué se ensanchan las bandas y cuáles son las variables que mejoran la eficiencia de la columna.⁵

Si examina los cromatogramas que se muestran en este capítulo y en el siguiente, observará que los picos de elución se ven muy parecidos a las curvas gaussianas o de error normal (véase apéndice I). Como se muestra en el apéndice 1, sección a1B.1, las curvas de error normal pueden entenderse si se supone que la incertidumbre asociada con cualquier medición individual es la suma de un gran número de pequeñas incertidumbres, aleatorias e individualmente indetectables, cada una de las cuales tiene igual probabilidad de ser positiva o negativa. De una manera similar, la forma característica gaussiana de una banda cromatográfica se atribuye a la combinación aditiva de los movimientos aleatorios de las diversas moléculas a medida que descienden por la columna. En el siguiente análisis se supone que se ha introducido una zona angosta de modo que el ancho de la inyección no es el factor limitante que determina el ancho total de la banda que eluye. Es importante tener en cuenta que los anchos de las bandas de elución nunca pueden ser *más angostos* que el ancho de la zona de inyección.

⁵ Para más información consulte J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, Nueva York: Wiley, 1991, pp. 94-96.

Es ilustrativo considerar una sola molécula de soluto mientras pasa por miles de transferencias entre las fases estacionaria y móvil durante la elución. El tiempo de residencia en cualquiera de las fases es muy irregular. La transferencia de una fase a otra requiere energía y la molécula la debe tomar de los alrededores. Por consiguiente, el tiempo de residencia en una fase dada a veces es momentáneo después de alguna transferencia y relativamente largo después de otra. Recuerde que el descenso por la columna ocurre *sólo mientras la molécula está en la fase móvil*. Por tanto, ciertas partículas viajan con rapidez gracias a su inclusión accidental en la fase móvil la mayor parte del tiempo, mientras otras se retrasan a causa de que están incorporadas en la fase estacionaria por un tiempo mayor al promedio. El resultado de estos procesos aleatorios individuales es una dispersión simétrica de velocidades alrededor del valor medio, lo cual representa el comportamiento de la molécula de analito promedio.

El ensanchamiento de una zona aumenta a medida que desciende por la columna porque ha habido más tiempo para que haya dispersión. Entonces, el ensanchamiento de la zona está relacionado de manera directa con el tiempo de residencia en la columna y de manera inversa con la velocidad de flujo de la fase móvil.

Como se puede ver en la figura 26.5, algunos picos cromatográficos son no ideales y presentan *deformación hacia la cola o hacia el frente*. En el primer caso la cola del pico, que aparece a la derecha en el cromatograma, se alarga y el frente se acorta bruscamente. Cuando la deformación es hacia el frente ocurre lo contrario. Una causa común de estas deformaciones es una constante de distribución que varía con la concentración. La asimetría o deformación del frente también se presenta cuando se introduce demasiada muestra en una columna. Las distorsiones de este tipo son indeseables porque ocasionan separaciones deficientes y a tiempos de elución menos reproducibles. En el análisis que sigue se supone que las distorsiones en el frente y en la cola son mínimas.

26C.2 A Descripción cuantitativa de la eficiencia de la columna

Dos términos afines se utilizan ampliamente como medidas cuantitativas de la eficiencia de una columna cromatográfica: 1) *la altura de plato H* y 2) *el número de platos o cantidad teórica de platos, N* . Los dos están relacionados por la ecuación

$$N = \frac{L}{H} \quad (26.16)$$

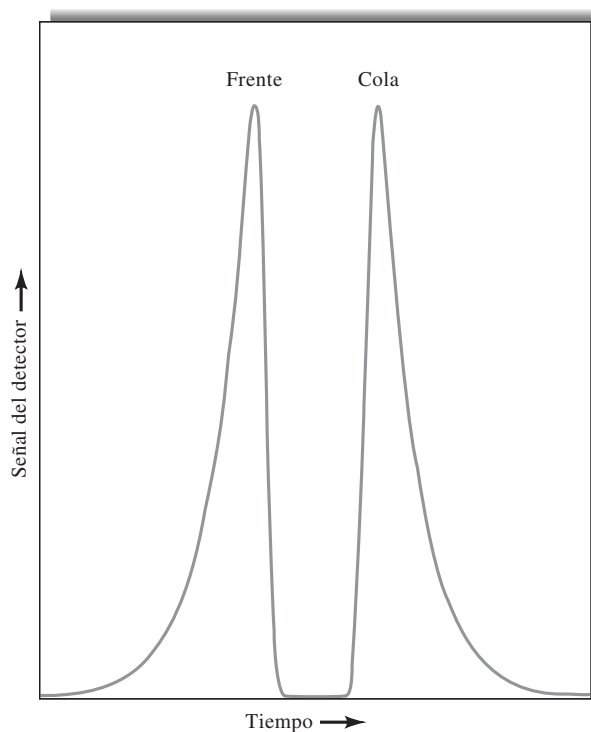


FIGURA 26.5 Ilustración del frente y de la cola de los picos cromatográficos.

donde L es la longitud (por lo regular en centímetros) del relleno de la columna. La eficiencia de la columna cromatográfica aumenta cuanto mayor es el número de platos N y cuanto menor es la altura H del plato. Se han encontrado enormes diferencias en las eficiencias debido a diferencias en el tipo de columna y en las fases móvil y estacionaria. Las eficiencias en términos del número de platos varían desde pocos cientos a varios cientos de miles; son frecuentes las alturas de plato que oscilan desde unas pocas décimas hasta una milésima de centímetro o menos.

El origen de los términos “altura de plato” y “cantidad de platos teóricos” proviene de uno de los primeros estudios teóricos realizado por Martin y Synge en que trataron a una columna cromatográfica como si fuera similar a una columna de destilación que estuviera constituida por numerosas capas angostas, o platos, distintos pero contiguos, a las que denominaron *platos teóricos*.⁶ Se suponía que en cada plato se establecía el equilibrio de la especie entre las fases móvil y estacionaria. El descenso del soluto por la columna se trataba entonces como una transferencia por etapas de fase móvil equilibrada de un plato al siguiente.

⁶A. J. P. Martin y R. L. M. Synge, *Biochem. J.*, **1941**, 35, p. 1358.

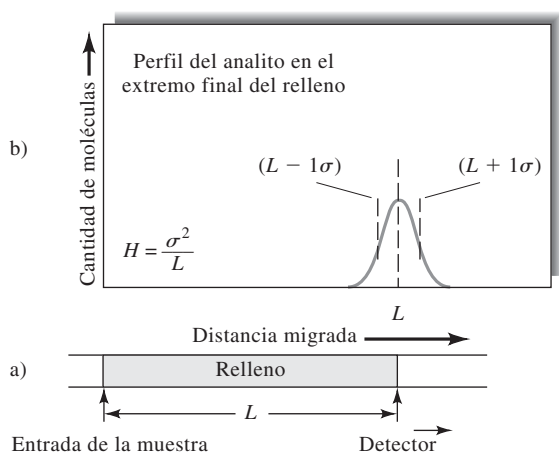


FIGURA 26.6 Definición de la altura de plato $H = \sigma^2/L$. En a) la longitud de la columna es la distancia desde el punto de entrada de la muestra hasta el detector. En b) se muestra la distribución gaussiana de las moléculas de la muestra.

La *teoría del plato* explica de manera satisfactoria la forma gaussiana de los picos cromatográficos y su velocidad de desplazamiento por la columna. Pero la teoría se abandonó en favor de la *teoría de la velocidad*, debido a que la primera fallaba al intentar justificar el ensanchamiento de los picos de una manera mecanicista. No obstante, los términos originales para la eficiencia se han incorporado a la teoría de velocidad. Esta nomenclatura es tal vez desafortunada porque tiende a perpetuar el mito de que una columna contiene platos donde hay condiciones de equilibrio. De hecho, el estado de equilibrio nunca se puede alcanzar con la fase móvil en movimiento constante.

Definición de altura de plato

Como se muestra en la sección a1B.1 del Apéndice 1, la anchura de una curva gaussiana está directamente relacionada con su desviación estándar σ o su varianza σ^2 . A menudo se supone que las bandas cromatográficas tienen una forma gaussiana, lo cual es conveniente para definir la eficiencia de una columna en términos de la varianza por unidad de longitud de la columna. Es decir, la altura de plato H viene dada por

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad (26.17)$$

Esta definición de la eficiencia de la columna se ilustra en la figura 26.6a, donde se muestra una columna con un relleno de L cm de longitud. Encima de este esquema (figura 26.6b) se muestra una gráfica que representa la distribución de las moléculas a lo largo de la columna en el momento en que el pico del analito

alcanza el extremo final del relleno (es decir, en el tiempo de retención). La curva es gaussiana y la ubicación de $L + 1\sigma$ y $L - 1\sigma$ se indica mediante líneas verticales discontinuas. Observe que las unidades de L son centímetros y las de σ^2 son centímetros cuadrados; entonces, H representa una distancia lineal en centímetros (ecuación 26.17). De hecho, puede pensarse en la altura de plato como la longitud de columna que contiene una fracción de analito comprendida entre L y $L - \sigma$. Debido a que el área bajo una curva normal de error limitada por una desviación estándar ($\pm 1\sigma$) es de alrededor de 68% del área total, la altura de plato, tal como se ha definido, contiene 34% del analito.

La evaluación experimental de H y N

La figura 26.7 ilustra un cromatograma característico con el tiempo en la abscisa. La varianza del pico del soluto, que se puede obtener por un procedimiento gráfico sencillo, tiene unidades de segundos al cuadrado y, por lo regular, se designa como τ^2 para distinguirlo de σ^2 , la cual tiene unidades de centímetros al cuadrado. Las dos desviaciones estándar τ y σ se relacionan mediante

$$\tau = \frac{\sigma}{L/t_R} \quad (26.18)$$

donde L/t_R es la velocidad lineal promedio $\bar{v}$ del soluto en centímetros por segundo (ecuación 26.4).

La figura 26.7 ilustra una manera sencilla de determinar aproximadamente τ y σ a partir de un cromatograma experimental. Se trazan las tangentes en los puntos de inflexión a los dos lados del pico cromatográfico y se prolongan para formar un triángulo con la línea base del cromatograma. Se puede demostrar que el área de este triángulo es casi 96% del área total bajo el pico, si éste es gaussiano. En la sección a1B.1 del apéndice 1 se indica que casi 96% del área bajo un pico gaussiano se encuentra dentro del intervalo comprendido entre más o menos dos desviaciones estándar

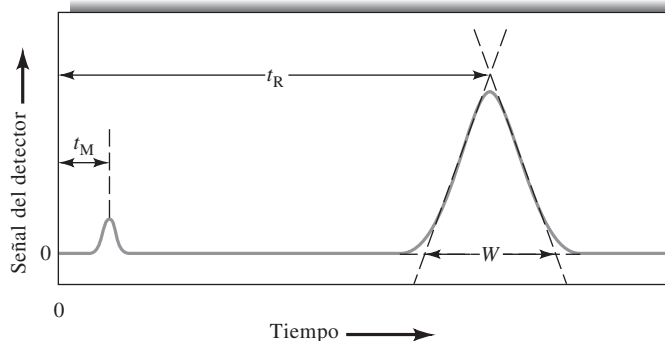


FIGURA 26.7 Determinación de la cantidad de platos $N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$.

($\pm 2\sigma$) de su máximo. Entonces, las intersecciones que se indican en la figura 26.7 tienen lugar a alrededor de más o menos dos desviaciones estándar ($\pm 2\tau$) respecto al máximo y $W = 4\tau$, donde W es la magnitud de la base del triángulo. Al sustituir esta relación en la ecuación 26.18 y reordenar los términos se tiene:

$$\sigma = \frac{LW}{4t_R} \quad (26.19)$$

La sustitución de esta ecuación por σ en la ecuación 26.17 da:

$$H = \frac{LW^2}{16t_R^2} \quad (26.20)$$

Para obtener N , se sustituye lo anterior en la ecuación 26.16 y se reordena para obtener

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (26.21)$$

Por tanto, N se puede calcular a partir de dos medidas de tiempo, t_R y W ; para calcular H , también se tiene que conocer la longitud del relleno de la columna L . Tome en cuenta que estos cálculos sólo son aproximados y que se supone que las formas de los picos son gaussianas.

Otro método para evaluar de manera aproximada N , que algunos investigadores creen más confiable, es determinar $W_{1/2}$, la anchura del pico a la mitad de su altura máxima. El número de platos es entonces

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (26.22)$$

Como las determinaciones experimentales de H y de N que se explican aquí se basan en los picos gaussianos cromatográficos, los cálculos son sólo aproximaciones. En las publicaciones especializadas se encuentran métodos más exactos para tratar los picos gaussianos sesgados; se basan en determinar la varianza del pico mediante cálculos estadísticos de segundo momento.⁷

El número de platos N y la altura de plato H se utilizan con frecuencia, tanto en la bibliografía como entre los fabricantes de instrumentos. Son cantidades que pueden ser muy útiles al comparar la potencia de separación y las eficiencias entre columnas. Sin embargo, para que estas cantidades tengan sentido al comparar dos columnas, es esencial que se hayan determinado con el mismo compuesto.

⁷J. P. Foley y J. G. Dorsey, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, p. 730; *J. Chromatogr. Sci.*, **1984**, 22, p. 40. Para un procedimiento mediante hojas de cálculo aplicable a formas de picos no ideales, refiérase a S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

TABLA 26.2 Variables que influyen en la eficiencia de la columna.

Variable	Símbolo	Unidades habituales
Velocidad lineal de la fase móvil	u	cm s^{-1}
Coefficiente de difusión en la fase móvil*	D_M^{**}	$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
Coefficiente de difusión en la fase estacionaria*	D_s	$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
Factor de retención (ecuación 26.12)	k	sin unidades
Diámetro de las partículas del relleno	d_p	cm
Espesor del revestimiento líquido en la fase estacionaria	d_f	cm

*Aumenta al incrementarse la temperatura y disminuir la viscosidad.

**En los líquidos, los valores D_M para moléculas pequeñas y medianas son del orden de $10^{-5} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$; en el caso de los gases, los valores, D_M son $\sim 10^5$ veces más grandes.

26C.3 Variables cinéticas que influyen en la eficiencia de la columna

El ensanchamiento de banda refleja una pérdida de la eficiencia de la columna. Cuanto más lenta es la velocidad de los procesos de transferencia de masa que ocurren mientras un soluto migra por la columna, más ancha es la banda en salida de la columna. Algunas de las variables que afectan las velocidades de transferencia de masa son susceptibles de ser controladas y se pueden aprovechar para mejorar las separaciones. En la tabla 26.2 se da una lista de las variables más importantes. Sus efectos sobre la eficiencia de la columna, de acuerdo con la altura H del plato, se explican en los párrafos que siguen.

Influencia de la tasa de flujo de la fase móvil

El grado de ensanchamiento de la banda depende del tiempo que la fase móvil está en contacto con la fase estacionaria, lo cual a su vez depende de la tasa de flujo de la fase móvil. Por esta razón, los estudios sobre la eficiencia se han realizado casi siempre determinando H (mediante las ecuaciones 26.21 o 26.22 y la ecuación 26.16) en función de la velocidad de la fase móvil. Las gráficas para CL y para CG que se muestran en la figura 26.8 son características de los datos que se obtienen mediante estos estudios. Aunque ambos muestran un mínimo en H , o un máximo en eficiencia a tasas de flujo lineales bajas, el mínimo para CL se presenta casi siempre a tasas de flujo muy por debajo de las de CG. A menudo, estas tasas de flujo son tan bajas que no se observa la H mínima para CL en condiciones normales de operación. La teoría cinética, en su tratamiento del



Clase interactiva: aprenda más acerca de la eficiencia de la columna.

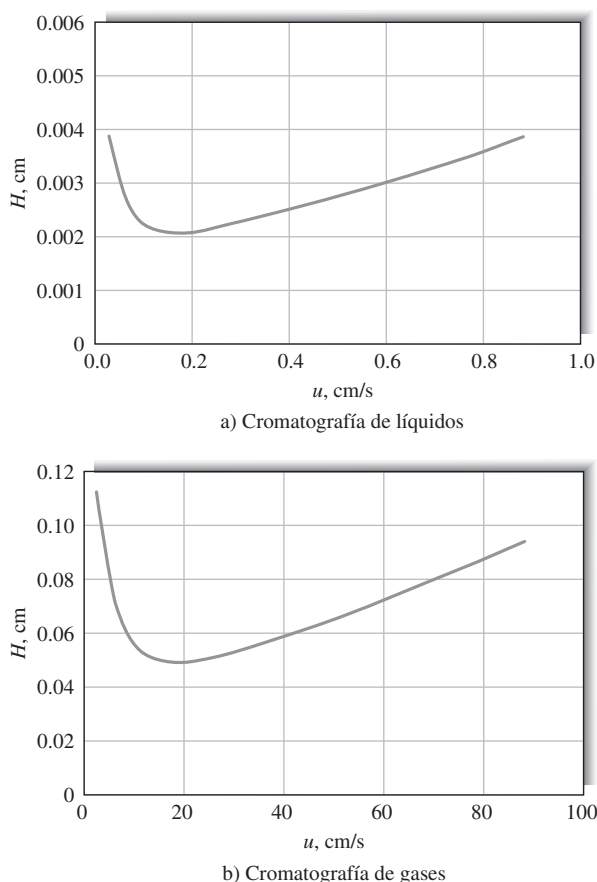


FIGURA 26.8 Efecto de la tasa de flujo de la fase móvil sobre la altura de plato para a) cromatografía de líquidos y b) cromatografía de gases. Observe las escalas muy diferentes de la tasa de flujo y de la altura de plato.

ensanchamiento de banda cromatográfico, que se explica en esta sección, predice con exactitud el perfil de la gráfica de H frente a u . Esta gráfica se denomina a menudo *curva de van Deemter* por ser él quien planteó la teoría.

Como se indica en la figura 26.8, las tasas de flujo de la cromatografía de líquidos son significativamente menores que las que se utilizan en cromatografía de gases. Esto significa que las separaciones por cromatografía de gases se completan en menos tiempo que las separaciones por cromatografía de líquidos. Además, tal como se puede observar en la figura, las alturas de plato para las columnas de cromatografía de líquidos son de un orden de magnitud o menores que las de las columnas de cromatografía de gases. Pero esta ventaja se contrarresta porque en cromatografía de líquidos resulta poco práctico emplear columnas de longitud mayor a 25 cm (debido a las elevadas caídas de presión que se producen), mientras que en cromatografía de gases las columnas pueden tener una longitud de 50 m o más. Por tanto, el número total de platos, así como la

eficiencia de la columna son por lo regular superiores con las columnas de cromatografía de gases. Por tanto, si se compara la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos, la primera es capaz de realizar separaciones más rápidas y con mayor eficacia, aunque ambas cualidades no se den necesariamente en forma simultánea.

Teoría del ensanchamiento de bandas

En los últimos cuarenta años se dedicó un enorme esfuerzo tanto experimental como teórico para perfeccionar relaciones cuantitativas que describan los efectos de las variables experimentales que se enlistan en la tabla 26.2 sobre las alturas de plato de diversos tipos de columnas. Tal vez se han propuesto y aplicado, con más o menos acierto, una docena o más de expresiones matemáticas para calcular la altura de plato. Ninguna de estas ecuaciones es por completo satisfactoria para explicar las interacciones y los efectos físicos complejos que causan el ensanchamiento de la zona y, por tanto, una eficiencia menor de la columna. Sin embargo, algunas de las ecuaciones, aunque imperfectas, fueron de gran utilidad para indicar la forma de mejorar el rendimiento de la columna.

La eficiencia de las columnas cromatográficas se puede conocer de manera aproximada mediante la expresión

$$H = A + \frac{B}{u} + C_S u + C_M u \quad (26.23)$$

donde H es la altura de plato en centímetros y u es la velocidad lineal de la fase móvil en centímetros por segundo. La cantidad A es un coeficiente que describe los *efectos de la trayectoria múltiple* (difusión en remolino), como se analiza más adelante, B es el *coeficiente de difusión longitudinal* y C_S y C_M son los *coeficientes de transferencia de masa* para las fases estacionaria y móvil, respectivamente. La ecuación 26.23 equivale a la bien conocida *ecuación de van Deemter*, que formularon ingenieros químicos holandeses en los años cincuenta y que, a menudo, se utiliza para expresar la eficiencia cromatográfica.

Estudios más recientes han llevado a la elaboración de la expresión básica de van Deemter, pero está demostrado experimentalmente que la ecuación 26.23 es muy satisfactoria para explicar la eficiencia de la columna.⁸ Observe que la ecuación de van Deemter contiene términos independientes que son lineal e inversamente proporcionales a la velocidad de la fase móvil.

A continuación se examinan con algún detalle las variables que afectan los cuatro términos de la ecuación

⁸E. Katz, K. L. Ogan y R. P. W. Scott, *J. Chromatogr.*, **1983**, 270, p. 51.

TABLA 26.3 Procesos que contribuyen al ensanchamiento de banda.

Proceso	Término en la ecuación 26.23	Relación entre las propiedades del analito y de la columna*
Trayectorias de flujo múltiple	A	$A = 2\lambda d_p$
Difusión longitudinal	B/u	$\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$
Transferencia de masa hacia la fase estacionaria y desde ésta	$C_S u$	$C_S u = \frac{f(k)d_i^2}{D_s} u$
Transferencia de masa en la fase móvil	$C_M u$	$C_M u = \frac{f'(k)d_p^2}{D_M} u$

* u , D_S , D_M , d_i , d_p , y k tal como se definen en la tabla 26.2.

$f(k)$ y $f'(k)$ son funciones de k .

λ y γ son constantes que dependen de la calidad del relleno.

B es el coeficiente de difusión longitudinal.

C_S y C_M son coeficientes de transferencia de masa en las fases estacionaria y móvil, respectivamente.

ción 26.23. Éstos se identifican en la tabla 26.3 y se describen en los párrafos que siguen.⁹

Término de trayectoria múltiple A . El ensanchamiento de una zona en la fase móvil se debe en parte a la multitud de caminos por los cuales las moléculas o los iones pueden desplazarse por la columna rellena. Como se muestra en la figura 26.9, la longitud de estos caminos puede diferir de manera importante; por consiguiente, el tiempo que residen en la columna las moléculas de la misma especie también es variable. Las moléculas de soluto alcanzan el extremo de la columna durante un intervalo de tiempo, lo cual ocasiona un ensanchamiento de banda. Este efecto de trayectorias múltiples, que se denomina a veces *difusión en remolino*, sería independiente de la velocidad del solvente si no fuera compensado en parte por la difusión ordinaria, lo cual resulta en moléculas que son transferidas desde una corriente que sigue una trayectoria hasta una corriente que sigue otra. Si la velocidad de flujo es muy baja, tiene lugar un gran número de estas transferencias, y cada molécula en su desplazamiento descendente por la columna prueba numerosos caminos de flujo y gasta en cada uno un tiempo breve. Por tanto, la velocidad a la que cada molécula desciende por la columna tiende a aproximarse a la media. Entonces, a velocidades bajas de la fase móvil, las moléculas no se dispersan de manera apreciable por el efecto de las trayectorias múltiples. Sin embargo, con velocidades moderadas o elevadas, no se dispone de tiempo sufi-

ciente para que se produzca el promedio por difusión, y por ello se observa un ensanchamiento de banda debido a las diferentes longitudes de los caminos. Con velocidades suficientemente altas, el efecto de la difusión en remolino se vuelve independiente de la tasa de flujo.

Además del efecto de la difusión en remolino está otro que surge de los estancamientos de fase móvil en las cavidades de la fase estacionaria. Por consiguiente, cuando un sólido funciona como fase estacionaria, sus poros se llenan con volúmenes *estáticos* de fase móvil. Las moléculas del soluto tienen que difundirse entonces a través de estos estancos antes de que la transferencia ocurra entre la fase móvil *que se desplaza* y la fase estacionaria. Esta situación se aplica no sólo a fases sólidas estacionarias, sino también a las fases líquidas estacionarias inmovilizadas en sólidos porosos porque el líquido inmóvil no suele llenar por completo los poros.

La presencia de estancos de fase móvil hace que los procesos de intercambio sean lentos y produce una contribución a la altura de plato que es directamente proporcional a la velocidad de la fase móvil e inversamente proporcional al coeficiente de difusión del soluto en la fase móvil. Un incremento en el volumen interno acompaña entonces a los aumentos en las dimensiones de las partículas.

El término de difusión longitudinal B/u . La difusión es un proceso en el cual las especies migran desde una zona de un medio con mayor concentración a una región más diluida. La velocidad de migración es proporcional a la diferencia de concentración entre las regiones y al *coeficiente de difusión* D_M de las especies. Este último, que es una medida de la movilidad de una sustancia en un medio, es una constante para una es-

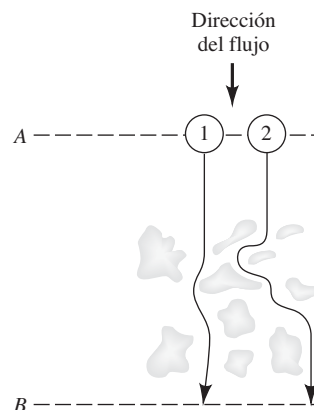


FIGURA 26.9 Trayectorias características de dos moléculas durante la elución. Obsérvese que la distancia que recorre la molécula 2 es mayor que la recorrida por la molécula 1. Por tanto, la molécula 2 llegará a B después que la molécula 1.

⁹Para un acercamiento a la hoja de cálculo, utilizando la ecuación de van Deemter, vea S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

pecie dada igual a la velocidad de migración en un gradiente de concentración unitario.

En cromatografía, la difusión longitudinal da como resultado la migración de un soluto desde el centro concentrado de una banda hacia regiones más diluidas en cualquiera de los dos lados, es decir, en dirección del flujo o en sentido contrario. La difusión longitudinal es una causa común del ensanchamiento de banda en la cromatografía de gases porque las moléculas de gas se difunden a velocidades relativamente altas. El fenómeno tiene poca importancia en la cromatografía de líquidos porque las velocidades de difusión son mucho menores. La magnitud del término B en la ecuación 26.23 está determinada en gran medida por el coeficiente de difusión D_M del analito en la fase móvil, y es directamente proporcional a esta constante.

Como se puede ver en la ecuación 26.23, la contribución de la difusión longitudinal a la altura de plato resulta inversamente proporcional a la velocidad lineal del eluyente. Esta relación no es sorprendente si se considera que el analito está en la columna durante un periodo más corto cuando la tasa de flujo es alta. Por consiguiente, la difusión desde el centro de la banda hacia los dos bordes tiene menos tiempo para ocurrir.

Los decrementos iniciales en H que se aprecian en ambas curvas de la figura 26.8 son resultado directo de la difusión longitudinal. Observe que el efecto es mucho menos pronunciado en la cromatografía de líquidos debido a que las velocidades de difusión son mucho más bajas en una fase móvil líquida. La gran diferencia en las alturas de los platos que se puede ver en las dos curvas de la figura 26.8 también se puede explicar si se consideran las velocidades relativas de la difusión longitudinal en las dos fases móviles. Es decir, los coeficientes de difusión en medios gaseosos son algunos órdenes de magnitud mayores que los correspondientes en los líquidos. Por tanto, el ensanchamiento de la banda ocurre en mucho mayor grado en la cromatografía de gases que en la cromatografía de líquidos.

El término de la transferencia de masa en la fase estacionaria $C_S u$. Cuando la fase estacionaria es un líquido inmovilizado, el coeficiente de transferencia de masa es directamente proporcional al cuadrado del espesor de la película que hay sobre las partículas de soporte d_f^2 e inversamente proporcional al coeficiente de difusión D_s del soluto en la película. Estos efectos se pueden entender si se tiene en cuenta que ambos factores reducen la frecuencia promedio con que las moléculas de analito alcanzan la interfase líquido-líquido donde puede tener lugar la transferencia hacia la fase móvil. Por ejemplo, si la película es gruesa, las moléculas deberán recorrer por término medio más camino para

llegar a la superficie, y con coeficientes de difusión menores, irán más despacio. La consecuencia de todo ello es una menor velocidad de transferencia de masa y un aumento de la altura de plato.

Cuando la fase estacionaria es una superficie sólida, el coeficiente de transferencia de masa C_s es directamente proporcional al tiempo requerido para que una especie sea adsorbida o desorbida, lo cual a su vez es inversamente proporcional a la constante de velocidad de primer orden de los procesos.

El término de transferencia de masa de la fase móvil $C_M u$. Los procesos de transferencia de masa que hay en la fase móvil son tan complejos que todavía se carece de una descripción cuantitativa completa. Por otro lado, se tiene un buen entendimiento cualitativo de las variables que afectan el ensanchamiento de las zonas por esta causa, y esto ha originado una gran cantidad de mejoras en todos los tipos de columnas cromatográficas.

Se sabe que el coeficiente de transferencia de masa de la fase móvil C_M es inversamente proporcional al coeficiente de difusión del analito en la fase móvil D_M . En el caso de columnas rellenas, C_M es proporcional al cuadrado del diámetro de la partícula del material de relleno, d_p^2 . En el caso de columnas tubulares abiertas, C_M es proporcional al cuadrado del diámetro de la columna, d_c^2 .

La contribución de la transferencia de masa de la fase móvil a la altura de plato es el producto del coeficiente de transferencia de masa C_M (que es una función de la velocidad del solvente) y la velocidad del mismo solvente. Por tanto, la contribución neta de $C_M u$ a la altura de plato no es lineal en u (véase la curva marcada con $C_M u$ en la figura 26.10), pero depende en forma compleja de la velocidad del solvente.

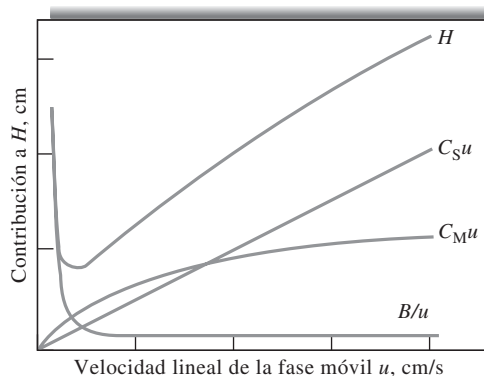


FIGURA 26.10 Contribución de varios términos de transferencia de masa a la altura de plato. El término $C_S u$ surge de la tasa de transferencia de masa hacia la fase estacionaria y desde ésta. El término $C_M u$ proviene de una limitación en la tasa de transferencia de masa en la fase móvil, y B/u se relaciona con la difusión longitudinal.

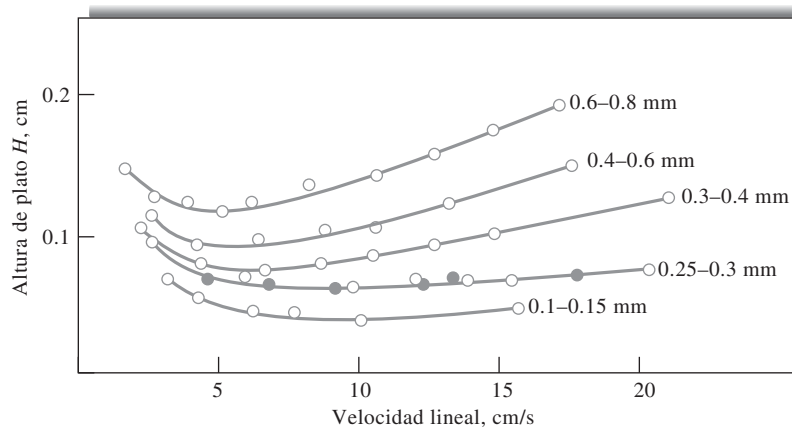


FIGURA 26.11 Efecto de las dimensiones de las partículas en la altura de plato para el caso de una columna rellena para cromatografía de gases. Las cantidades a la derecha de cada curva son los diámetros de las partículas. (Tomado de J. Boheman y J. H. Purnell, en *Gas Chromatography* 1958, D. H. Desty, ed., Nueva York: Academic Press, 1958. Con autorización.)

Efecto de la velocidad de la fase móvil sobre los términos de la ecuación 26.23. La figura 26.10 muestra la variación de los tres términos de la ecuación 26.23 en función de la velocidad de la fase móvil. La curva superior es la suma de estos diversos efectos. Note que hay un caudal óptimo al cual la altura de plato mínima y la eficiencia en la separación es máxima.

Resumen de los métodos para reducir el ensanchamiento de banda. En el caso de las columnas empacadas, la variable más importante que afecta su eficiencia es el diámetro de las partículas que constituyen el relleno. En el caso de columnas tubulares abiertas, el diámetro de la columna ya de por sí es una variable importante. El efecto del diámetro de partícula se demuestra con los datos que se representan en la figura 26.11 para cromatografía de gases. En la figura 28.2 se ilustra una gráfica similar para cromatografía de líquidos. Con la finalidad de aprovechar la ventaja del efecto del diámetro de la columna, en años recientes se han utilizado columnas más y más angostas.

Con fases móviles gaseosas, la tasa de difusión longitudinal puede reducirse de forma apreciable disminuyendo la temperatura y, por tanto, el coeficiente de difusión. Cuando se trabaja a velocidades bajas de la fase móvil en las que el término B/u es importante (véase figura 26.10), las temperaturas inferiores dan alturas de plato menores. Este efecto es imperceptible en cromatografía de líquidos debido a que la difusión es lo suficientemente lenta para que el término de difusión longitudinal tenga un efecto pequeño sobre la altura de plato. Asimismo, casi todos los estudios cromatográficos se efectúan con velocidades de fase móvil superiores a la velocidad óptima, por esa razón los términos de transferencia de masa (términos C) controlan la eficiencia de la columna.

Con fases estacionarias líquidas, el espesor de la capa de líquido adsorbido debería ser el menor posible, debido a que C_s en la ecuación 26.23 es proporcional al cuadrado de esta variable.

26D MEJORAMIENTO DEL RENDIMIENTO DE LA COLUMNA

Una separación cromatográfica se mejora al variar las condiciones experimentales hasta que los componentes de una mezcla se separan con claridad en el menor tiempo posible. Los experimentos de mejoramiento tienen como objetivo 1) reducir el ensanchamiento de banda o bien 2) modificar las velocidades relativas de migración de los componentes. Como se demuestra en la sección 26C, el ensanchamiento de la zona se incrementa a causa de aquellas variables cinéticas que aumentan la altura de plato de una columna. Por otra parte, las velocidades de migración se modifican al cambiar aquellas variables que afectan los factores de retención y selectividad (sección 26B).

26D.1 Resolución de la columna

La *resolución* R_s de una columna señala qué tan separadas están dos bandas en relación con sus anchos. La resolución proporciona una medida cuantitativa de la capacidad de la columna para separar dos analitos. La importancia de este término se ilustra en la figura 26.12, que está formada por cromatogramas de las especies A y B en tres columnas con diferentes poderes de resolución. La resolución de cada columna se define como

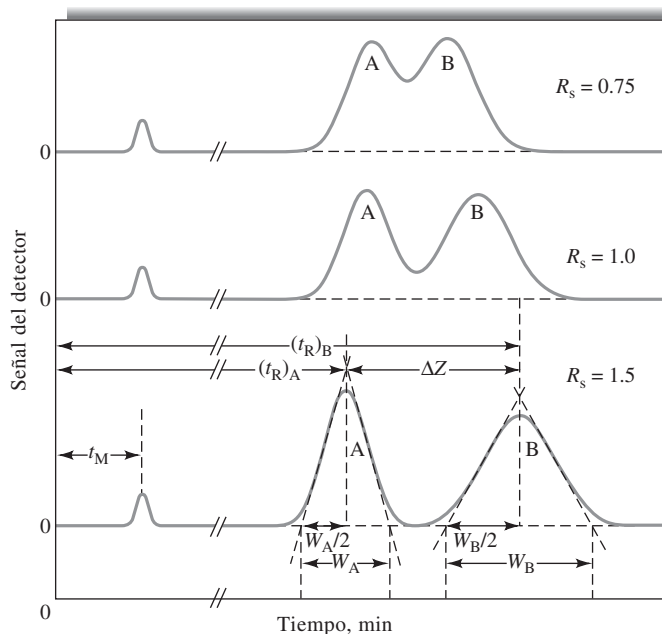
$$R_s = \frac{\Delta Z}{\frac{W_A}{2} + \frac{W_B}{2}} = \frac{2\Delta Z}{W_A + W_B} = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} \quad (26.24)$$

donde todos los términos del segundo miembro se definen en la figura.



Clase interactiva: aprenda más acerca de la **resolución de las columnas.**

FIGURA 26.12 Separación a tres valores de resolución distintos: $R_s = 2\Delta Z/(W_A + W_B)$. Las alturas de los picos se han ajustado para que sean aproximadamente iguales en todos los casos.



Resulta evidente a partir de la figura 26.12 que una resolución de 1.5 permite una separación esencialmente completa de A y B, y que no es así con una resolución de 0.75. Con una resolución de 1.0, la zona de A contiene alrededor de 4% de B, y la zona de B contiene una cantidad similar de A. Con una resolución de 1.5, el traslape es del orden de 0.3%. Para una fase estacionaria dada, la resolución puede mejorar si se alarga la columna, lo que aumenta el número de platos. Sin embargo, la adición de platos teóricos aumenta el tiempo que se requiere para separar los componentes.

26D.2 Influencia de los factores de retención y selectividad en la resolución

Es conveniente desarrollar una ecuación matemática que relacione la resolución de una columna con los factores de retención k_A y k_B de dos solutos, el factor de selectividad α , y el número de platos N que forman la columna. Se supondrá que se está tratando con dos solutos A y B cuyos tiempos de retención son suficientemente próximos como para establecer que

$$W_A = W_B \approx W$$

Entonces, la ecuación 26.24 se transforma en

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{W}$$

Se despeja W de la ecuación 26.21 en términos de $(t_R)_B$ y N y luego se sustituye la expresión resultante en la ecuación anterior para obtener

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Al sustituir la ecuación 26.12 en esta ecuación y reacomodar los términos se llega a una expresión para R_s en función de los factores de retención de A y B. Es decir,

$$R_s = \frac{k_B - k_A}{1 + k_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Se elimina k_A de esta expresión sustituyendo la ecuación 26.14 y reacomodando los términos. Entonces,

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_B}{1 + k_B} \right) \quad (26.25)$$

donde k_B es el factor de retención de la especie que se desplaza con mayor lentitud y α es el factor de selectividad. La ecuación 26.25 se puede reordenar para calcular el número de platos necesarios para conseguir una determinada resolución:

$$N = 16R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k_B}{k_B} \right)^2 \quad (26.26)$$

A veces se encuentran formas simplificadas de las ecuaciones 26.25 y 26.26 cuando se aplican a un par de



Clase interactiva: aprenda más acerca del **factor de selectividad**.

solutos cuyas constantes de distribución son tan similares que hacen difícil separarlas. Por consiguiente, cuando $K_A \approx K_B$, se deduce a partir de la ecuación 26.9 que $k_A \approx k_B = k$ y a partir de la ecuación 26.13, $\alpha \rightarrow 1$. Con estas aproximaciones, las ecuaciones 26.25 y 26.26 se reducen a

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4}(\alpha - 1) \left(\frac{k}{1 + k} \right) \quad (26.27)$$

$$N = 16R_s^2 \left(\frac{1}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k}{k} \right)^2 \quad (26.28)$$

donde k es el promedio de k_A y k_B .

26D.3 Efecto de la resolución en el tiempo de retención

Antes de considerar con detalle la importancia de las cuatro ecuaciones apenas deducidas, vale la pena formular una ecuación para una característica relacionada con el rendimiento de la columna, a saber, el tiempo necesario para completar la separación de los solutos A y B. En cromatografía, el objetivo es obtener la más alta resolución en el menor tiempo posible. Por desgracia, estas dos metas son incompatibles, por lo que se debe buscar un término medio entre las dos.

El tiempo necesario para completar una separación está determinado por la velocidad $\bar{v}_B$ del soluto que se mueve con más lentitud, según la ecuación 26.4. Es decir,

$$\bar{v}_B = \frac{L}{(t_R)_B}$$

Al combinar esta expresión con la 26.10 y la 26.16 y después de reordenar se obtiene

$$(t_R)_B = \frac{NH(1 + k_B)}{u}$$

donde $(t_R)_B$ es el tiempo necesario para que salga de la columna el pico de B cuando la velocidad de la fase móvil es u . Cuando esta ecuación se combina con la 26.26 y se reordena, se tiene

$$(t_R)_B = \frac{16R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k_B)^3}{(k_B)^2} \quad (26.29)$$

Puesto que H es una función de u y α es una función de k , dicha ecuación es difícil de resolver y usar, excepto cuando se hacen comparaciones en las que varios de los factores se pueden anular en un cociente.

Varias de estas relaciones se aplican en el ejemplo 26.1.

EJEMPLO 26.1

Las sustancias A y B tienen tiempos de retención de 16.40 y de 17.63 minutos, respectivamente, en una columna de 30.0 cm. Una especie que no es retenida pasa por la columna en 1.30 minutos. Las anchuras de pico (en la base) para A y B son 1.11 y 1.21 minutos, respectivamente. Calcule a) la resolución de la columna; b) el número de platos promedio de la columna; c) la altura de plato; d) la longitud de la columna necesaria para conseguir una resolución de 1.5; e) el tiempo necesario para que la sustancia B eluya en la columna que da un valor de R_s de 1.5 y f) la altura de plato necesaria para obtener una resolución de 1.5 mediante la columna original de 30.0 cm y en el tiempo que se da en un principio.

Solución

a) Por medio de la ecuación 26.24 se tiene que

$$R_s = \frac{2(17.63 - 16.40)}{1.11 + 1.21} = 1.06$$

b) La ecuación 26.21 permite el cálculo de N :

$$N = 16 \left(\frac{16.40}{1.11} \right)^2 = 3493 \quad \text{y} \quad N = 16 \left(\frac{17.63}{1.21} \right)^2 = 3397$$

$$N_{\text{prom}} = \frac{3493 + 3397}{2} = 3445$$

$$\text{c) } H = \frac{L}{N} = \frac{30.0}{3445} = 8.7 \times 10^{-3} \text{ cm}$$

d) k y α no cambian mucho al aumentar N y L . Entonces, al sustituir N_1 y N_2 en la ecuación 26.25 y dividiendo una de las ecuaciones resultantes entre la otra se obtiene

$$\frac{(R_s)_1}{(R_s)_2} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}}$$

donde los subíndices 1 y 2 se refieren, respectivamente, a las columnas original y a la más larga. Si se sustituyen los valores convenientes de N_1 , $(R_s)_1$, y $(R_s)_2$ se tiene

$$\frac{1.06}{1.5} = \frac{\sqrt{3445}}{\sqrt{N_2}}$$

$$N_2 = 3445 \left(\frac{1.5}{1.06} \right)^2 = 6.9 \times 10^3$$

Pero

$$L = NH = 6.9 \times 10^3 \times 8.7 \times 10^{-3} = 60 \text{ cm}$$

e) Al sustituir $(R_s)_1$ y $(R_s)_2$ en la ecuación 26.29 y dividiendo se obtiene

$$\frac{(t_R)_1}{(t_R)_2} = \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} = \frac{17.63}{(1.5)^2} = \frac{(1.06)^2}{(1.5)^2}$$

$$(t_R)_2 = 35 \text{ min}$$

Entonces, para obtener una mejora en la resolución, es necesario duplicar la longitud de la columna y, por tanto, el tiempo de separación será el doble.

- f) Si se sustituyen H_1 y H_2 en la ecuación 26.29 y se divide una de las ecuaciones resultantes entre la segunda se tiene

$$\frac{(t_R)_B}{(t_R)_B} = \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} \times \frac{H_1}{H_2}$$

donde los subíndices 1 y 2 se refieren a la altura de plato original y a la nueva, respectivamente. Si se reordenan los términos se obtiene

$$H_2 = H_1 \frac{(R_s)_1^2}{(R_s)_2^2} = 8.7 \times 10^{-3} \text{ cm} \times \frac{(1.06)^2}{(1.5)^2}$$

$$= 4.3 \times 10^{-3} \text{ cm}$$

Por tanto, para conseguir una resolución de 1.5 en 17.63 minutos con una columna de 30.0 cm, la altura de plato tendría que reducirse a la mitad.

26D.4 Variables que afectan el rendimiento de la columna

Las ecuaciones 26.25 y 26.29 son importantes porque sirven de guía para la elección de aquellas condiciones que puedan permitir al usuario del cromatógrafo conseguir el objetivo, a veces difícil, de una buena separación en un tiempo mínimo. Un examen de estas ecuaciones revela que se componen de tres partes. La primera, que se relaciona con los efectos cinéticos que causan el ensanchamiento de banda, consta de $\sqrt{N}$ o H/u . La segunda y la tercera parte se relacionan con las propiedades termodinámicas de los constituyentes por separar, es decir, con la magnitud relativa de sus constantes de distribución y los volúmenes de las fases móvil y estacionaria. El segundo término en las ecuaciones 26.25 y 26.29, que es el cociente en el que aparece α , es un término de selectividad. En el caso de una combinación dada de fase móvil y fase estacionaria, el término α depende sólo de las propiedades de los dos solutos. El tercer término, el cociente en el que aparece k_B , depende de las propiedades tanto del soluto como de la columna.

Al buscar las condiciones óptimas para conseguir la separación adecuada, debe tenerse en cuenta que los parámetros fundamentales α , k , y N (o H) se pueden

ajustar más o menos de manera independiente. Por tanto, la manera más fácil de modificar, α y k es variando la temperatura o la composición de la fase móvil. Aunque es menos conveniente, se puede cambiar el relleno de la columna. Como ya se estableció, es posible cambiar N si se modifica la longitud de la columna y modificar H alterando el caudal de la fase móvil, el tamaño de las partículas del relleno, la viscosidad de la fase móvil y, por tanto D_M o D_S , y el espesor de la película del líquido adsorbido que constituye la fase estacionaria (véase la tabla 26.3).

Variación de N

Una forma obvia de mejorar la resolución es aumentar el número de platos teóricos de la columna (ecuación 26.25). Tal como se demuestra en el ejemplo 26.1, este recurso suele requerir más tiempo para completar la separación, a no ser que el aumento de N se lleve a cabo mediante una reducción de H en vez de alargar la columna.

Variación de H

En el ejemplo 26.1f se demostró que se puede lograr una importante mejora de la resolución sin que repercuta en el tiempo si se puede reducir la altura de plato. En la tabla 26.3 se indican las variables que pueden modificarse para conseguir este objetivo. Observe que la disminución en el tamaño de la partícula de relleno causa importantes mejoras de H . En el caso de fases móviles líquidas, en las que B/u por lo regular es insignificante, se pueden conseguir menores alturas de plato al reducir la viscosidad del solvente y, por tanto, aumentando el coeficiente de difusión en la fase móvil.

Variación del factor de retención

Muchas veces una separación puede mejorar de manera importante al manipular el factor de retención k_B . Por lo general, los incrementos de k_B aumentan la resolución, pero a expensas del tiempo de elución. Para determinar el intervalo óptimo de los valores de k_B , es conveniente escribir la ecuación 26.25 en la forma

$$R_s = \frac{Q k_B}{1 + k_B}$$

donde $Q = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)$, y la ecuación 26.29 como

$$(t_R)_B = Q' \frac{(1 + k_B)^3}{(k_B)^2}$$

donde

$$Q' = \frac{16 R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2$$

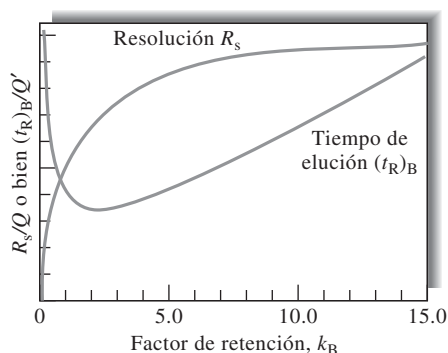


FIGURA 26.13 Influencia del factor de retención k_B en la resolución R_s y en el tiempo de elución $(t_R)_B$. Se supone que Q y Q' permanecen constantes al variar k_B .

La figura 26.13 es una gráfica de R_s/Q y de $(t_R)_B/Q'$ en función de k_B , suponiendo que Q y Q' permanecen casi constantes. Observe que los valores de k_B mayores que 10 tienen que evitarse debido a que proporcionan poco aumento en la resolución, pero sí un marcado incremento del tiempo necesario para las separaciones. El mínimo en la curva del tiempo de elución se nota en un valor de k_B de alrededor de 2. Las curvas de la figura 26.13 apuntan a que el valor óptimo de k_B , teniendo en cuenta tanto la resolución como el tiempo de elución, se encuentra en el intervalo de 1 a 5.

Por lo general, la forma más fácil de mejorar la resolución es haciendo óptimo el valor de k . Con fases móviles gaseosas, k puede mejorarse si se cambia la temperatura. En el caso de fases móviles líquidas, el cambio en la composición del solvente permite manipular k para obtener mejores separaciones. En la figura 26.14 se muestra un ejemplo del efecto espectacular que puede ocasionar un cambio relativamente pequeño en la composición del solvente. En este caso, variaciones moderadas en la relación metanol-agua convierten cromatogramas insatisfactorios (*a* y *b*) en unos donde los picos de cada uno de los componentes se encuentran bien separados (*c* y *d*). Para la mayoría de los fines, el cromatograma que se muestra en *c* es el mejor debido a que presenta una resolución adecuada en un tiempo mínimo. El factor de retención también recibe influencia del espesor de la película de la fase estacionaria.

Variación del factor de selectividad

Cuando k se aproxima a la unidad, mejorar K y aumentar N no suele ser suficiente para conseguir una separación satisfactoria de dos solutos en un tiempo razonable. En estas circunstancias, se ha de buscar un

procedimiento para aumentar α mientras k se conserva en el intervalo óptimo de 1 a 10. Se dispone de varias opciones; en orden decreciente de conveniencia, determinada ésta por sus expectativas y comodidad, las opciones son 1) cambiar la composición de la fase móvil, 2) cambiar la temperatura de la columna, 3) cambiar la composición de la fase estacionaria y 4) utilizar efectos químicos especiales.

Un ejemplo de la opción 1 es el que se ha propuesto para la separación del anisol ($C_6H_5OCH_3$) y el benceno.¹⁰ Con una fase móvil de la mezcla metanol-agua al 50%, la k era de 4.5 para anisol y 4.7 para el benceno, mientras que la α era sólo de 1.04. La sustitución por una fase móvil acuosa que contenía 37% de tetrahydrofurano dio valores de k de 3.9 y 4.7 y un valor de α de 1.20. La superposición de picos fue importante con el primer solvente e insignificante con el segundo.

Un método menos apropiado, pero con frecuencia muy efectivo para mejorar α y mantener los valores de k en su intervalo óptimo consiste en cambiar la composición química de la fase estacionaria. A fin de aprovechar esta opción, la mayoría de laboratorios que realizan separaciones cromatográficas frecuentes dispone de varias columnas que se pueden intercambiar con facilidad.

Por lo regular, los aumentos de temperatura ocasionan disminuciones en k y podrían afectar los valores de α en cromatografía líquido-líquido y líquido-sólido. Por el contrario, en la cromatografía de intercambio iónico, los efectos de la temperatura pueden ser lo suficientemente grandes como para explorar esta valiosa opción antes de recurrir al cambio del material de relleno de la columna.

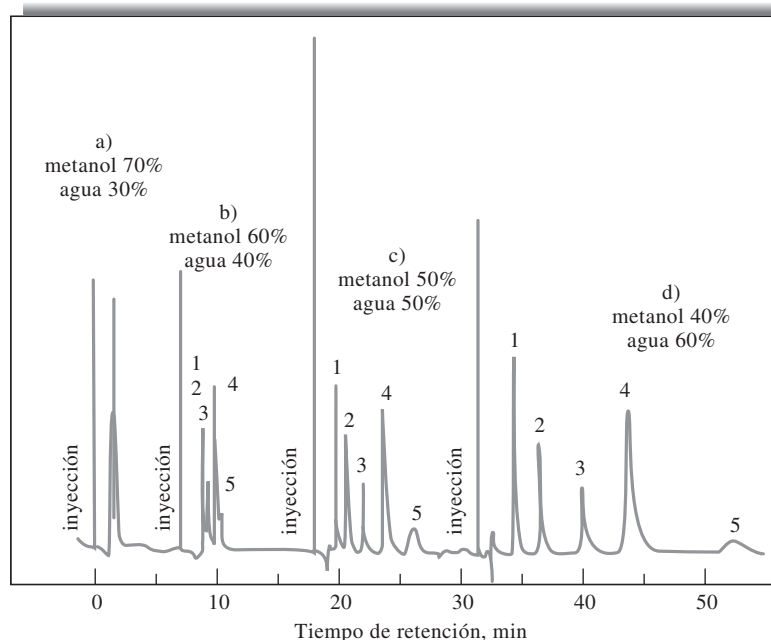
Un último procedimiento para aumentar la resolución consiste en incorporar a la fase estacionaria una especie que forme complejos o que interaccione de otra forma con uno o más componentes de la muestra. Un ejemplo bien conocido de la utilidad de esta opción consiste en el uso de un adsorbente impregnado con una sal de plata para mejorar la separación de olefinas. La mejora es el resultado de la formación de complejos entre los iones plata y los compuestos orgánicos insaturados.

26D.5 El problema general de la elución

La figura 26.15 muestra unos cromatogramas hipotéticos para una mezcla de seis componentes formada por tres pares de sustancias que difieren ampliamente en

¹⁰L. R. Snyder y J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2a. ed., p. 75, Nueva York: Wiley, 1979.

FIGURA 26.14 Efecto de la variación del solvente en los cromatogramas. Analitos: 1) 9,10-antraquinona; 2) 2-metil-9,10-antraquinona; 3) 2-etil-9,10-antraquinona; 4) 1,4-dimetil-9,10-antraquinona; 5) 2-*t*-butil-9,10-antraquinona.



sus constantes de distribución y, por tanto, en sus factores de retención. En el cromatograma *a*), las condiciones se han ajustado de tal forma que los factores de retención de los componentes 1 y 2 (k_1 y k_2) están en el intervalo óptimo de 1 a 5. Sin embargo, los factores de los otros componentes están muy alejados del intervalo óptimo. Por consiguiente, las bandas que corresponden a los componentes 5 y 6 aparecen tras un

tiempo desmesurado; además, están tan ensanchadas que puede ser difícil identificarlas sin equivocarse.

Como se muestra en el cromatograma *b*), al cambiar las condiciones para mejorar la separación de los componentes 5 y 6, los picos de los cuatro primeros componentes se agrupan de tal modo que su distinción es insatisfactoria. Sin embargo, el tiempo de elución resulta ideal.

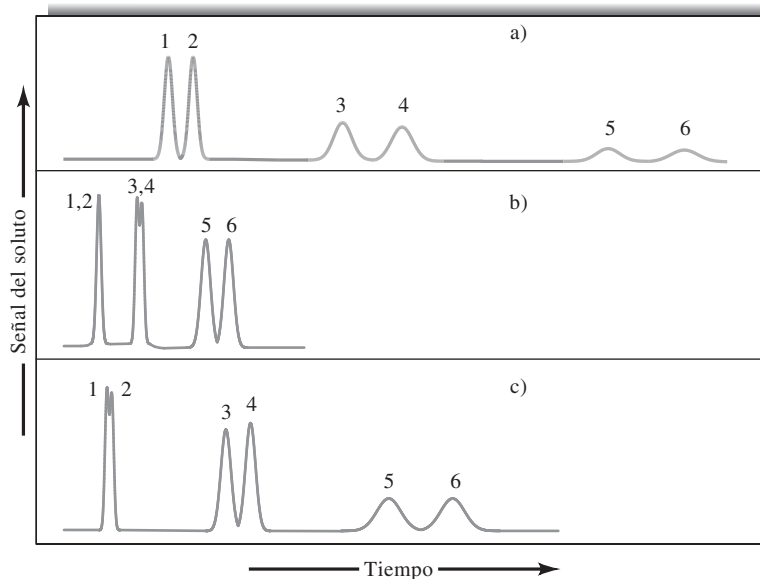


FIGURA 26.15 El problema general de la elución en cromatografía.

En un tercer conjunto de condiciones, en el cual los valores de k son óptimos para los componentes 3 y 4, se obtiene el cromatograma c). Una vez más, la separación de los otros dos pares de componentes no es enteramente satisfactoria.

El fenómeno que se ilustra en la figura 26.15 se da con la suficiente frecuencia como para darle un nombre: *el problema general de la elución*. Una solución usual para este problema es cambiar las condiciones que determinan los valores de k mientras tiene lugar la separación. Esos cambios se pueden realizar por etapas o de forma continua. Entonces, para la mezcla que se muestra en la figura 26.15, las condiciones al principio podrían ser las que corresponden al cromatograma a). Inmediatamente después de la elución de los componentes 1 y 2, las condiciones se podrían cambiar a las que resultaban óptimas para la separación de los componentes 3 y 4, como en el cromatograma c). Tras la aparición de los picos de estos componentes, la elución se podría completar en las condiciones que permiten obtener el cromatograma b). A menudo, este procedimiento conduce a separaciones satisfactorias para todos los componentes de una mezcla en un tiempo mínimo.

En cromatografía de líquidos las variaciones de k se obtienen al cambiar por variaciones en la composición de la fase móvil durante la elución. Dicho procedimiento se denomina *elución con gradiente* o *programación del solvente*. La elución con una composición constante de la fase móvil se llama *elución isocrática*. En el caso de la cromatografía de gases, se puede modificar la temperatura en la manera conocida para originar cambios en k . Este modo de *programación de la temperatura* ayuda a conseguir las condiciones óptimas para muchas separaciones. Estos modos se tratan con mayores detalles en los capítulos 26 y 28.

26E RESUMEN DE LAS ECUACIONES CROMATOGRÁFICAS

La cantidad de parámetros, términos y ecuaciones que se emplean en cromatografía es grande y, a menudo, confusa. En las tablas 26.4 y 26.5 se resumen las ecuaciones y definiciones más importantes que se utilizan en los tres capítulos siguientes.

26F APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA

La cromatografía ha llegado a ser el principal método para la separación de especies químicas estrechamente relacionadas entre sí. Además, se puede emplear para la identificación cualitativa y para la determinación cuantitativa de las especies separadas. En esta sección se estudian algunas de las características generales de la cromatografía como una herramienta para la realización de un análisis.

26F.1 Análisis cualitativo

Un cromatograma proporciona sólo un elemento de información cualitativa acerca de cada una de las especies de la muestra, a saber, su tiempo de retención o su posición en la fase estacionaria después de cierto periodo de elución. Por supuesto que a partir de cromatogramas obtenidos con diferentes fases móviles y estacionarias y a diversas temperaturas de elución se puede obtener más información. A pesar de todo, la cantidad de información que se obtiene mediante la cromatografía es pequeña comparada con la que proporciona un solo espectro IR, de resonancia magnética nuclear o de masas. Además, la longitud de

TABLA 26.4 Parámetros y relaciones cromatográficos de interés.

Nombre	Símbolo del parámetro experimental	Forma de determinación
Tiempo de migración, especies no retenidas	t_M	Cromatograma (figura 26.7)
Tiempos de retención, especies A y B	$(t_R)_A, (t_R)_B$	Cromatograma (figuras 26.7 y 26.12)
Tiempo de retención ajustado para A	$(t'_R)_A$	$(t'_R)_A = (t_R)_A - t_M$
Anchuras de picos para A y B	W_A, W_B	Cromatograma (figuras 26.7 y 26.12)
Longitud del relleno de la columna	L	Medición directa
Tasa de flujo volumétrico	F	Medición directa
Velocidad de flujo lineal	u	F y dimensiones de la columna (ecuaciones 26.6 y 26.7)
Volumen de la fase estacionaria	V_S	Datos de preparación del relleno
Concentración del analito en las fases móvil y estacionaria	c_M, c_S	Datos del análisis y de la preparación

TABLA 26.5 Relaciones y cantidades derivadas importantes.

Nombre	Cálculo de cantidades derivadas	Relación con otros parámetros
Velocidad lineal de la fase móvil	$u = \frac{L}{t_M}$	
Volumen de la fase móvil	$V_M = t_M F$	
Factor de retención	$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$	$k = \frac{KV_S}{V_M}$
Constante de distribución	$K = \frac{kV_M}{V_S}$	$K = \frac{c_S}{c_M}$
Factor de selectividad	$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$	$\alpha = \frac{k_B}{k_A} = \frac{K_B}{K_A}$
Resolución	$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$	$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_B}{1 + k_B} \right)$
Número de platos	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$	$N = 16 R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k_B}{k_B} \right)^2$
Altura de plato	$H = \frac{L}{N}$	
Tiempo de retención	$(t_R)_B = \frac{16 R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k_B)^3}{(k_B)^2}$	

onda espectral o los datos de frecuencia de los espectros se pueden determinar con mucha más precisión que sus contrapartes cromatográficos t_R .

Lo anterior no significa que la cromatografía carezca de importantes aplicaciones cualitativas. De hecho es una herramienta que se utiliza ampliamente para identificar la presencia o ausencia de componentes en mezclas que contienen un número limitado de posibles especies cuyas identidades se conocen. Por ejemplo, mediante un cromatograma se pueden detectar 30 o más aminoácidos en el hidrolizado de una proteína con un grado de certeza relativamente alto. Aun así, la confirmación de la identidad requiere la investigación química o espectral de los componentes aislados. Tenga en cuenta que una identificación espectroscópica positiva sería de ordinario imposible en una mezcla tan compleja como la anterior sin una separación cromatográfica previa. Por tanto, la cromatografía es con frecuencia una etapa vital en los análisis espectroscópicos cualitativos.

Es importante considerar que, aunque los cromatogramas no ayudan en la identificación positiva de las especies presentes en una muestra, proporcionan a menudo la evidencia segura de la *ausencia* de ciertos compuestos. Entonces, si la muestra no origina un pico con el mismo tiempo de retención que un patrón en condiciones idénticas, se puede suponer que el compuesto en cuestión no está presente, o bien que lo

está con una concentración por debajo del límite de detección del procedimiento.

26F.2 Análisis cuantitativo

La cromatografía debe su crecimiento acelerado durante las pasadas cuatro décadas en parte a su rapidez, sencillez, a su relativamente bajo costo y a su gran aplicabilidad como herramienta de separación. No obstante, resultaría dudoso que su uso se hubiera extendido tanto si no fuera porque puede también proporcionar información cuantitativa acerca de las especies separadas. Por tanto, es importante tratar algunos de los aspectos cuantitativos aplicables a todos los tipos de cromatografía.

Las características cromatográficas cuantitativas de la columna se basan en la comparación de la altura o el área del pico del analito con la de uno o más patrones. En el caso de la cromatografía en plano, el área que ocupan las especies separadas funciona como variable analítica. Si se controlan las condiciones de manera adecuada, estas variables cambian en forma lineal con la concentración.

Análisis basados en la altura del pico

La altura de un pico cromatográfico se obtiene al unir las líneas base a cada lado del pico con una línea recta y midiendo la distancia vertical desde esta línea hasta el pico. A menudo, esta medición se puede hacer con una precisión razonablemente buena. Sin embargo, es importante considerar que las alturas de pico están relacionadas de manera inversa con sus anchuras. Por



Clase interactiva: aprenda más acerca del análisis cromatográfico cuantitativo.

tanto, se obtienen resultados exactos con las alturas de pico sólo si las variaciones en las condiciones de la columna no alteran las anchuras del pico durante el tiempo necesario para obtener los cromatogramas de la muestra y de los patrones. Las variables que deben controlarse con rigor son la temperatura de la columna, la tasa de flujo del eluyente y la velocidad de inyección de la muestra. Además, se ha de tener mucho cuidado para evitar sobrecargar la columna. El efecto de la velocidad de inyección de la muestra es crítico sobre todo para los primeros picos del cromatograma. Al efectuar la inyección con jeringa no es extraño que se originen errores relativos de 5 a 10 por ciento.

Análisis basados en las áreas de los picos

Las áreas de los picos son independientes de los efectos de ensanchamiento debido a las variables que se mencionaron en el párrafo anterior. Desde este punto de vista, por tanto, las áreas son un parámetro analítico más adecuado que la altura del pico. Por otra parte, las alturas de los picos se miden con más facilidad y, en el caso de picos estrechos, se determinan con mayor exactitud. No obstante, las alturas de los picos se ven afectadas por los cambios en el tiempo de retención o la eficiencia de la columna en tanto que las áreas de los picos no. Por tanto, las áreas de los picos son el método de cuantificación preferido.

Los instrumentos cromatográficos más modernos están equipados con computadoras o con integradores electrónicos digitales, los cuales permiten un cálculo preciso del área del pico. Si no se dispone de tales equipos, se tiene que efectuar un cálculo manual. Un método sencillo, que resulta adecuado si los picos son simétricos y de ancho razonable, consiste en multiplicar la altura del pico por su anchura a la mitad de su altura. Para otros métodos se requiere un planímetro o recortar el pico y determinar su masa en relación con la masa de un área conocida de papel de registro. En general, las técnicas de integración manual proporcionan áreas que son reproducibles en un nivel de 2 a 5%; los integradores digitales son al menos un orden de magnitud más precisos.¹¹

Calibración y patrones

El método más sencillo para el análisis cromatográfico cuantitativo requiere la preparación de una serie de soluciones patrón externo de composición parecida a la de la muestra. A continuación se obtienen los cromatogramas de los patrones y se grafican las alturas o áreas del pico en función de la concentración. La gráfica

de los datos debería originar una línea recta que pase por el origen del sistema coordinado; las determinaciones se basan en esta curva de calibración. Para una mayor exactitud es necesaria una recalibración frecuente.

Al utilizar este método, la fuente de error más importante en los análisis es por lo regular la incertidumbre en el volumen de la muestra; a veces, la velocidad de inyección de la muestra es también un factor por considerar. A menudo, las muestras son pequeñas ($\sim 1 \mu\text{L}$) y la incertidumbre asociada con la inyección de un volumen reproducible de este tamaño con una microjeringa puede alcanzar cierto porcentaje relativo, tal vez de varias unidades. La situación es más difícil en la cromatografía de gases porque la muestra se ha de inyectar en una vía de acceso para la muestra, la cual está caliente; en este caso, la evaporación en el extremo de la aguja puede conducir a una gran variación del volumen inyectado. Los errores relativos en el volumen de muestra se pueden reducir a un 1 o 2% usando tomadores de muestra automáticos o una válvula rotatoria para la muestra semejante a la que se describe en el capítulo 27.

El método del patrón interno

La mayor precisión en cromatografía cuantitativa se consigue con el uso de patrones internos debido a que se evitan las incertidumbres asociadas a la inyección de la muestra. En este procedimiento se introduce en cada patrón y en la muestra una cantidad cuidadosamente medida de una sustancia patrón interno, y la relación del analito con las áreas (o alturas) del pico del patrón interno sirve como variable analítica. Para que este método sea satisfactorio, es necesario que el pico del patrón interno esté bien separado de los picos de los demás componentes de la muestra ($R_s > 1.25$); por otra parte, el pico del patrón interno debería aparecer cerca del pico del analito. Con un patrón interno adecuado, se pueden conseguir precisiones relativas mejores que uno por ciento.

El método de normalización de áreas

Otro procedimiento que evita las incertidumbres asociadas con la inyección de la muestra es el método de la normalización de las áreas. Es necesario que se produzca la elución completa de todos los componentes de la muestra. En el método de normalización se determinan las áreas de todos los picos eluidos; tras corregir dichas áreas respecto a las diferencias en la respuesta del detector a los distintos tipos de compuestos, se calcula la concentración del analito a partir de la relación de su área con el área total de todos los picos. El siguiente ejemplo ilustra el procedimiento.

¹¹ Véase N. A. Dyson, *Chromatographic Integration Methods*, 2a. ed., Londres: Royal Society of Chemistry, 1998.

EJEMPLO 26.2

El método de normalización de áreas se aplicó para la determinación de los alcoholes butílico normal, secundario, isobutílico y tercbutílico. Con la finalidad de obtener el factor de respuesta relativa de los alcoholes se preparó una solución patrón de los alcoholes y se observó el cromatograma de gases. Los resultados fueron los siguientes:

Alcohol	Peso medido, g	% en peso de alcohol	Área del pico A , cm^2	% en peso por unidad de área	Factor de respuesta relativa F
<i>n</i> -butílico	0.1731	24.61	3.023	8.141	1.000
<i>i</i> -isobutílico	0.1964	27.92	3.074	9.083	1.116
<i>s</i> -secbutílico	0.1514	21.52	3.112	6.915	0.849
<i>t</i> -tercbutílico	0.1826	25.96	3.004	8.642	1.062
Σ pesos = 0.7035		Σ % = 100.00	$\Sigma A = 12.213$		

Los factores de respuesta relativa se obtuvieron al dividir los datos de la columna 5 entre 8.141 que es el primer dato de la misma columna.

Para una muestra que contiene sólo los cuatro alcoholes se obtuvieron los siguientes datos de área en la segunda columna de la tabla siguiente. Calcule el porcentaje en peso de cada alcohol presente en la muestra.

Solución

Los resultados se muestran en la columna 4 de la tabla siguiente

Alcohol	Área del pico, cm^2	Área $\times F$	% en peso de alcohol
<i>n</i> -butílico	1.731	1.731	18.18
<i>i</i> -isobutílico	3.753	4.188	43.99
<i>s</i> -secbutílico	2.845	2.415	25.36
<i>t</i> -tercbutílico	1.117	1.186	12.46
		$\Sigma = 9.521$	99.99

Por desgracia, es impráctico acomodar las condiciones de modo que todos los componentes de una mezcla se eluyan en una columna en un periodo razonable. Por esta razón, el método de normalización de áreas tiene aplicaciones limitadas.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

26.1 Defina

a) elución	g) factor de selectividad
b) fase móvil	h) altura de plato
c) fase estacionaria	i) difusión longitudinal
d) constante de distribución	j) difusión en remolino
e) tiempo de retención	k) resolución de la columna
f) factor de retención	l) eluyente

26.2 Describa el problema general de la elución.**26.3** Enumere las variables que originan el ensanchamiento de banda en cromatografía.**26.4** ¿Cuáles son las principales diferencias entre la cromatografía gas-líquido y líquido-líquido?**26.5** ¿Cuáles son las principales diferencias entre la cromatografía líquido-líquido y líquido-sólido?**26.6** ¿Qué variables tienen más probabilidad de afectar al factor de selectividad α correspondiente a un par de analitos?**26.7** Explique la manera en que se puede manipular el factor de retención de un soluto.**26.8** Describa un método para determinar el número de platos de una columna.**26.9** Mencione dos métodos generales para mejorar la resolución de dos sustancias en la columna cromatográfica.**26.10** ¿Por qué el mínimo en la gráfica de la altura de plato frente a tasa de flujo se encuentra a tasas de flujo menores en cromatografía de líquidos que en cromatografía de gases?**26.11** ¿Qué es la elución con gradiente?**26.12** Elabore una lista de las variables cromatográficas que causan la zona de separación.**26.13** ¿Qué efecto causaría en un pico cromatográfico introducir la muestra a una velocidad demasiado baja?***26.14** Los siguientes datos corresponden a una columna para cromatografía de líquidos:

Longitud del relleno	24.7 cm
Tasa de flujo	0.313 mL/min
V_M	1.37 mL
V_S	0.164 mL

Un cromatograma de una mezcla de las especies A, B, C y D proporciona los siguientes datos:

	Tiempo de retención, min	Anchura del pico en la base (W), min
No retenida	3.1	—
A	5.4	0.41
B	13.3	1.07
C	14.1	1.16
D	21.6	1.72

Calcule

- El número de platos para cada pico.
- La media y la desviación estándar de N .
- La altura de plato de la columna.

***26.15** Con los datos del problema 26.14 calcule para A, B, C y D.

- El factor de retención.
- La constante de distribución.

***26.16** Con los datos del problema 26.14, calcule para las especies B y C.

- La resolución.
- El factor de selectividad α .
- La longitud de columna necesaria para separar las dos especies con una resolución de 1.5.
- El tiempo necesario para separar las dos especies en la columna del inciso c).

***26.17** Con los datos del problema 26.14 calcule para las especies C y D.

- La resolución.
- La longitud de columna necesaria para separar las dos especies con una resolución de 1.5.

 ***26.18** Los siguientes datos se obtuvieron mediante cromatógrafo gas-líquido con una columna rellena de 40 cm:

Compuesto	t_R , min	W , min
Aire	1.9	—
Metilciclohexano	10.0	0.76
Metilciclohexeno	10.9	0.82
Tolueno	13.4	1.06

Calcule

- El número de platos promedio a partir de los datos.
- La desviación estándar para el promedio en a).
- La altura de plato promedio para la columna.

 ***26.19** En relación con el problema 26.18, calcule la resolución para

- Metilciclohexeno y metilciclohexano.
- Metilciclohexeno y tolueno.
- Metilciclohexano y tolueno.

 ***26.20** Si fuera necesaria una resolución de 1.5 para separar metilciclohexano y metilciclohexeno en el problema 26.18,

- ¿Cuántos platos se necesitarían?
- ¿Qué longitud debería tener la columna si se utiliza el mismo relleno?
- ¿Cuál sería el tiempo de retención del metilciclohexeno en la columna del inciso b)?

 ***26.21** Si V_S y V_M para la columna del problema 26.18 son 19.6 y 62.6 mL respectivamente y el pico de aire no retenido aparece después de 1.9 min, calcule

- El factor de retención para cada compuesto.
- La constante de distribución para cada compuesto.
- El factor de selectividad para el metilciclohexano y el metilciclohexeno.



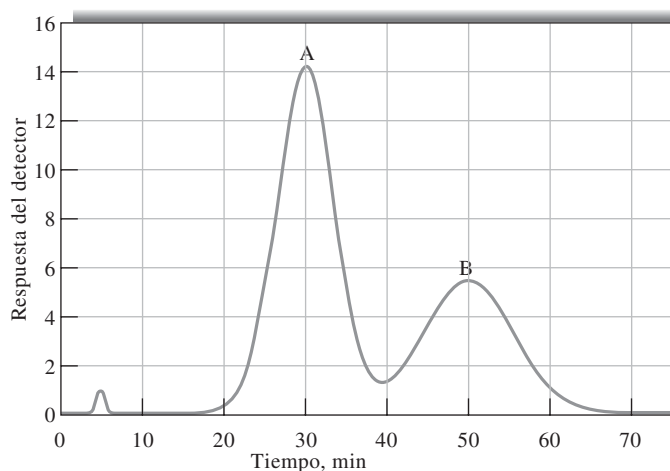
***26.22** Las áreas relativas de pico para los cinco picos obtenidos por cromatografía de gases en la separación de cinco esteroides se indican a continuación. También se proporcionan las respuestas relativas del detector para los cinco compuestos. Calcule el porcentaje de cada compuesto en la mezcla.

Compuesto	Área relativa, de pico	Respuesta relativa, del detector
Dehidroepiandrosterona	27.6	0.70
Estradiol	32.4	0.72
Estrona	47.1	0.75
Testosterona	40.6	0.73
Estriol	27.3	0.78

Problema de reto

26.23 En la figura que sigue se muestra un cromatograma de una mezcla de dos componentes en una columna rellena de 25 cm para cromatografía de líquidos. La tasa de flujo fue de 0.40 mL/min.

- Determine el tiempo que los componentes A y B pasan en la fase estacionaria.
- Determine los tiempos de retención para A y B.
- Determine los factores de retención para los dos componentes.
- Calcule las anchuras totales para cada pico y la anchura total a la mitad de los valores máximos.
- Evalúe la resolución de los dos picos.



- Determine el número promedio de platos para la columna.
- Determine la altura promedio del plato.
- ¿Qué longitud de columna sería necesaria para alcanzar una resolución de 1.75?
- ¿Qué tiempo se requeriría para alcanzar la resolución del inciso h)?
- Suponga que la longitud de la columna está fija en 25 cm y que el material de relleno está fijo también. ¿Qué medidas tomaría usted con el fin de incrementar la resolución para lograr una separación de referencia?
- ¿Hay algunas medidas que usted pudiera aplicar para alcanzar una mejor separación en un tiempo menor con la misma columna del inciso j)?

Cromatografía de gases

En *cromatografía de gases* los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia de que se reparten entre una fase gaseosa y una fase estacionaria contenida en una columna. Al efectuar una separación cromatográfica de gases, la muestra se vaporiza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se lleva a cabo mediante el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de la mayoría de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito; su única función es transportar este último a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la *cromatografía gas-líquido* (CGL) y la *cromatografía gas-sólido* (CGS). La primera tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia; su denominación se suele abreviar a *cromatografía de gases* (CG).¹ La segunda se basa en una fase estacionaria sólida en que la retención de los analitos ocurre porque hay adsorción. Su aplicación es limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas muy notables. La formación de las colas es resultado de la naturaleza no lineal del proceso de adsorción. Por tanto, esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular, por lo que se trata sólo de manera breve en la sección 27F.

En la cromatografía gas-líquido el analito se divide entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un relleno sólido inerte o en las paredes de un tubo capilar. El concepto de cromatografía gas-líquido fue enunciado por primera vez en 1941 por Martin y Synge, quienes también perfeccionaron la cromatografía de distribución líquido-líquido. Sin embargo, tuvo que pasar más de una década antes de que la importancia de la cromatografía gas-líquido se demostrara en forma experimental² y la técnica se empezara a utilizar en forma rutinaria como herramienta de laboratorio. En 1955 apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas-líquido. Desde entonces, sus aplicaciones han crecido de una forma espectacular. En la actualidad hay casi un millón de cromatógrafos en todo el mundo.

27A PRINCIPIOS DE LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Los principios generales de la cromatografía, que se han desarrollado en el capítulo 26, y las relaciones matemáticas resumidas en la sección 26E son aplicables a la cromatografía de gases con sólo ligeras modificaciones que surgen de la compresibilidad de las fases móviles gaseosas.

27A.1 Volúmenes de retención

A fin de tener en cuenta los efectos de la presión y la temperatura en cromatografía de gases, a menudo es útil usar los volúmenes de retención en vez de los tiempos de retención a los que se hace referencia en la sec-

¹ Para un estudio detallado de la cromatografía de gases consulte R. L. Grob y E. F. Barry, eds., *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4a. ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 2004; H. M. McNair y J. M. Miller, *Basic Gas Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1998; R. P. W. Scott, *Introduction to Analytical Gas Chromatography*, 2a. ed., Nueva York: Marcel Dekker, 1997; W. Jennings, E. Mittlefehldt y P. Strempel, *Analytical Gas Chromatography*, 2a ed., Orlando, FL: Academic Press, 1997.

² A. T. James y A. J. P. Martin, *Analyst*, **1952**, 77, pp. 915-932.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

ción 26B. La relación entre los dos se expresa mediante las ecuaciones 27.1 y 27.2

$$V_R = t_R F \quad (27.1)$$

$$V_M = t_M F \quad (27.2)$$

donde F es la tasa de flujo volumétrico promedio en el interior de la columna; V y t son los volúmenes de retención y los tiempos de retención, respectivamente, y los subíndices R y M se refieren a las especies que son retenidas en la columna y a las que no lo son. La tasa de flujo dentro de la columna no se puede medir en forma directa; en cambio, la que sí se puede evaluar mediante un medidor y sólo en forma experimental es la tasa de flujo de gas en la salida de la columna, tema que se trata en la sección 27B. En el caso de los medidores de flujo del tipo de bombas de jabón, en los que el gas está saturado con agua, la tasa de flujo promedio F está relacionada con la tasa de flujo medida F_m por medio de

$$F = F_m \times \frac{T_c}{T} \times \frac{(P - P_{H_2O})}{P} \quad (27.3)$$

donde T_c es la temperatura de la columna en kelvin, T es la temperatura en el medidor y P es la presión del gas en la salida de la columna. Por lo regular, P y T son la presión y la temperatura ambientales. El término que relaciona la presión de vapor del agua, P_{H_2O} , es una corrección de la presión que se usa cuando el gas está saturado con agua.

Tanto V_R como V_M dependen de la presión promedio en el interior de la columna, su valor es intermedio entre la presión de entrada P_i y la presión de salida P (presión atmosférica). El *factor de corrección de caída de presión* j , también conocido como *factor de compresibilidad*, explica la presión dentro de la columna, que es una función no lineal del cociente P_i/P . Los volúmenes de retención corregidos V_R^0 y V_M^0 , que corresponden a los volúmenes a la presión promedio de la columna, se obtienen con las ecuaciones

$$V_R^0 = j t_R F \quad \text{y} \quad V_M^0 = j t_M F \quad (27.4)$$

donde j se calcula a partir de la ecuación

$$j = \frac{3[(P_i/P)^2 - 1]}{2[(P_i/P)^3 - 1]} \quad (27.5)$$

El *volumen de retención específico* V_g se define como

$$V_g = \frac{V_R^0 - V_M^0}{m_s} \times \frac{273}{T_c} = \frac{jF(t_R - t_M)}{m_s} \times \frac{273}{T_c} \quad (27.6)$$

donde m_s es la masa de la fase estacionaria, una cantidad que se determina en el momento de preparar la columna.

27A.2 Relación entre V_g y K

El volumen de retención específico V_g se puede relacionar con la constante de distribución K_c . Para conseguirlo, se sustituye la expresión que relaciona t_R y t_M con k (ecuación 26.12) en la ecuación 27.6, lo que da

$$V_g = \frac{jF t_M k}{m_s} \times \frac{273}{T_c}$$

Al combinar esta expresión con la ecuación 27.4 se obtiene

$$V_g = \frac{V_M^0 k}{m_s} \times \frac{273}{T_c}$$

Al sustituir k por la ecuación 26.9 se tiene (aquí, V_M^0 y V_M son idénticos)

$$V_g = \frac{K V_s}{m_s} \times \frac{273}{T_c}$$

La densidad del líquido en la fase estacionaria ρ_s es

$$\rho_s = \frac{m_s}{V_s}$$

donde V_s es el volumen de la fase estacionaria. Entonces,

$$V_g = \frac{K}{\rho_s} \times \frac{273}{T_c} \quad (27.7)$$

Observe que V_g a una temperatura dada depende sólo de la constante de distribución del soluto y de la densidad del líquido que constituye la fase estacionaria.

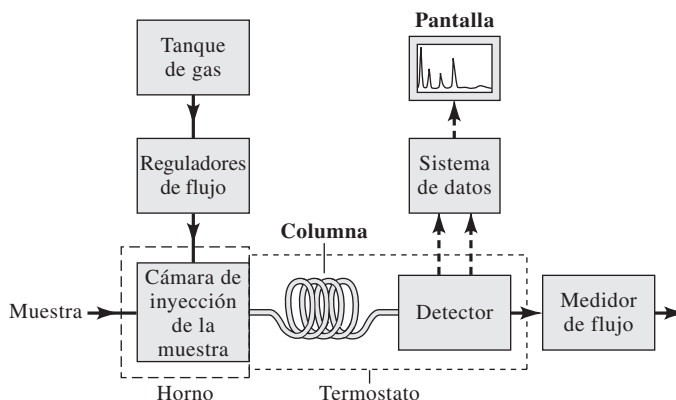
27A.3 Efecto de la tasa de flujo de la fase móvil

La ecuación 26.23 y las relaciones que se indican en la tabla 26.3 son totalmente aplicables a la cromatografía de gases. Debido a que las velocidades de difusión son mucho mayores en los gases (10^4 a 10^5 veces mayores que en los líquidos), el término de la difusión longitudinal (B/u) es más importante en la cromatografía gas-líquido que en otros procesos cromatográficos. Por consiguiente, los mínimos que se observan en las curvas que relacionan la altura de plato H con la tasa de flujo (gráficas de van Deemter) suelen ser más anchos en la cromatografía de gases (véase figura 26.8).

27B INSTRUMENTOS PARA LA CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Los instrumentos de cromatografía de gases que han aparecido en el mercado presentan muchos cambios y mejoras desde su introducción en el comercio. En los años setenta se volvieron comunes los integradores electrónicos y los equipos para procesar datos apoyados en una computadora. Los años ochenta vieron cómo las computadoras se utilizaban para el control

FIGURA 27.1 Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típico.



automático de la mayoría de los parámetros instrumentales, como la temperatura de la columna, las tasas de flujo y la inyección de la muestra; el desarrollo de instrumentos de muy alto rendimiento a un precio moderado y, tal vez lo más importante, de las columnas abiertas capaces de separar los componentes de mezclas complejas en un tiempo relativamente corto. En la actualidad, más de 50 fabricantes de instrumentos ofrecen varios cientos de modelos de equipo para cromatografía de gases a precios que varían de casi 1000 a más de 50 000 dólares.

Los componentes básicos de un instrumento característico para cromatografía de gases se muestran en la figura 27.1. A continuación se proporciona una descripción de cada uno de los componentes.

27B.1 Sistema de gas portador

En la cromatografía de gases la fase móvil se llama *gas portador* y debe ser químicamente inerte. El helio es el gas para fase móvil más común, pero también se usan argón, nitrógeno e hidrógeno. Estos gases se surten en recipientes a presión. Se requieren reguladores de presión, manómetros y medidores de flujo para controlar la corriente del gas. Además, el sistema del gas portador contiene a menudo un tamiz molecular para eliminar el agua y otras impurezas.

Los flujos se controlan mediante un regulador de presión de dos etapas colocado en el cilindro de gas y algún tipo de regulador de presión o de flujo instalado en el cromatógrafo. Las presiones de entrada normalmente oscilan entre 10 y 50 psi (lb/in.²) por encima de la presión del entorno, lo que ocasiona flujos de 25 a 150 mL/min con columnas empacadas y de 1 a 25 mL/min en las columnas de capilares tubulares. Por lo general se supone que los flujos son constantes si la presión de entrada permanece constante. Los flujos se establecen mediante un rotámetro situado en la cabeza



FIGURA 27.2 Flujómetro de bombas de jabón. (Cortesía de Agilent Technologies.)

de la columna; sin embargo, este dispositivo no es tan exacto como el simple flujómetro de bombas de jabón que se muestra en la figura 27.2. Por lo regular, el medidor de flujo se coloca al final de la columna, como se puede ver en la figura 27.1. Cuando se aprieta una pera de goma que contiene una solución acuosa de jabón o detergente se forma una película de jabón en el camino del gas; a continuación se mide el tiempo necesario para que esta película se desplace entre dos divisiones de la bureta y se calcula entonces el flujo volumétrico (véase figura 27.2). Tenga en cuenta que los flujos volumétricos y las velocidades de flujo lineal se relacionan mediante las ecuaciones 26.6 o 26.7. Muchos cromatógrafos de gases modernos controlados mediante computadora están equipados con medidores de flujo electrónicos que se pueden regular para mantener el flujo en un nivel deseado.



Ejercicio: aprenda más acerca de la **cromatografía de gases**.



FIGURA 27.3 Juego de microjeringas para inyectar la muestra. (Cortesía de Hamilton Company.)

27B.2 Sistema de inyección de la muestra

Con el fin de tener una alta eficiencia de la columna se requiere que la muestra sea de un tamaño adecuado y que se introduzca como un “tapón” de vapor; la inyección lenta o muestras demasiado grandes causan dispersión de las bandas y una mala resolución. Las microjeringas calibradas, como las que se ilustran en la figura 27.3, se utilizan para inyectar muestras líquidas, a través de un diafragma de goma de silicón, en una cámara caliente especial para la muestra que se ubica en la cabeza de la columna. La cámara de la muestra (figura 27.4) está casi siempre a unos 50°C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra. En el caso de las columnas analíticas rellenas ordinarias, el tamaño de la muestra varía desde unas pocas décimas de microlitro a 20 μL . Las columnas capilares requieren muestras menores por un factor de 100 o más. En estos casos se emplea un *sistema divisor de la muestra* que permite entregar una pequeña fracción conocida (1 :50 a 1 :500) de la muestra inyectada y el resto se desecha. Los cromatógrafos de gases comerciales con columnas capilares están equipados con dichos divisores; también permiten la *inyección sin división* para mejorar la sensibilidad o para usarse con columnas empacadas. En el caso de entradas sin división, la válvula de purga cierra la inyección y permanece cerrada de 30 a 60 segundos. Durante este tiempo, el vapor de la muestra sólo puede avanzar por la columna. Al abrirse la válvula de purga, cualquier vapor remanente sale con rapidez. En la cromatografía de gases con capilares también hay *inyectores en la columna*, con las cuales la muestra entera se inyecta en la columna como líquido que luego se vaporiza al programar la temperatura de la columna o de la entrada. En este caso, el analito se separa del solvente por efectos térmicos y del mismo solvente.³

³N. H. Snow, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., cap. 9, Nueva York: Wiley-Interscience, 2004.

En el trabajo cuantitativo se pueden obtener tamaños de muestra más reproducibles tanto en el caso de líquidos como en el de gases con una válvula de muestreo de gas como la que se observa en la figura 27.5. Con estos dispositivos, los tamaños de la muestra pueden reproducirse con menos de 0.5% de error relativo. Están disponibles autoinyectores con bandejas automáticas de muestreo para la mayoría de los cromatógrafos de gases. Con éstos se puede mejorar en gran medida la precisión del volumen inyectado en comparación con la inyección manual con jeringa.

27B.3 Configuraciones de columna y hornos para la columna

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas, las *empacadas* y las *tubulares abiertas o capilares*. Antes, la mayor parte de los estudios cromatográficos de gases se ejecutaba con columnas empacadas. En la mayoría de aplicaciones actuales, las columnas empacadas dejaron paso a las columnas capilares, más eficaces y rápidas.

Las columnas cromatográficas empacadas varían desde 1 m hasta 5 m de longitud, y las columnas capilares varían de pocos metros hasta 100 m. Están construidas con sílice fundida o con acero inoxidable, pero también se usa el vidrio o el Teflón. A fin de poder colocarse en el interior de un horno con temperatura controlada, se les da la forma de helicoides con diámetros de 10 a 30 cm (figura 27.6). En la sección 27C se proporciona

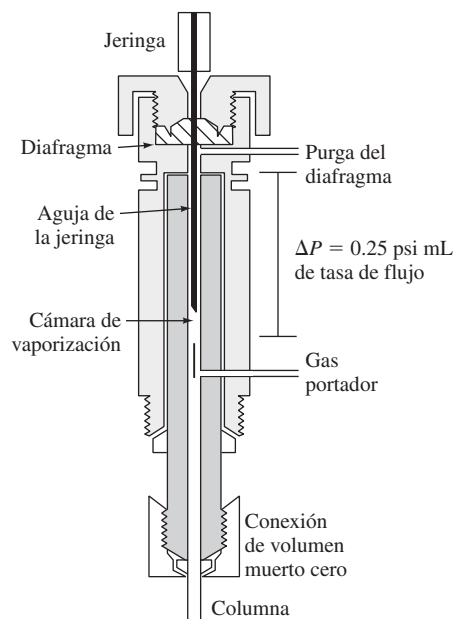
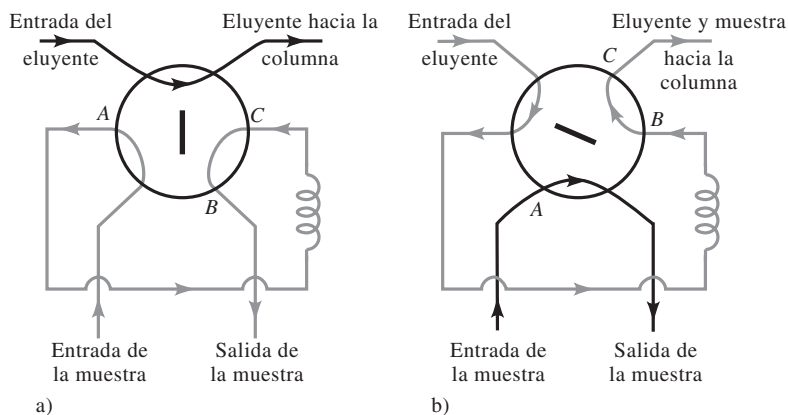


FIGURA 27.4 Vista de la sección transversal de un inyector directo de vaporización instantánea.

FIGURA 27.5 Válvula giratoria para la muestra: en la posición a) de la válvula se llena el circuito ACB con la muestra; la posición b) es para la introducción de la muestra en la columna.



un estudio minucioso acerca de las columnas, sus rellenos y las fases estacionarias.

La temperatura de la columna es una variable importante que se tiene que regular hasta unas décimas de grado en el caso de un trabajo preciso. Por consiguiente, la columna se suele alojar dentro de un horno con temperatura controlada. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. En la práctica, con una temperatura igual o ligeramente superior al

punto de ebullición promedio de la muestra se obtiene un tiempo de elución razonable (2 a 30 min). Para muestras cuya temperatura de ebullición varía ampliamente, lo mejor es aplicar una *programación de temperatura*, con la cual se aumenta la temperatura de la columna en forma continua o por etapas a medida que avanza la separación. En la figura 27.7 se muestra la mejora de un cromatograma gracias a la programación de la temperatura.

En general, la resolución óptima se asocia con una temperatura mínima, pero al reducir esta última se produce un aumento en el tiempo de elución y, por tanto, del periodo necesario para completar un análisis. Las figuras 27.7a y 27.7b ilustran este principio.

Algunas veces, los analitos de volatilidad limitada se pueden determinar mediante la formación de derivados que son más volátiles. De igual manera, la derivación se usa a veces para aumentar la detección o el rendimiento cromatográfico.

27B.4 Sistemas de detección

Durante las separaciones mediante cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores.⁴ A continuación se describen primero las características ideales del detector para la cromatografía de gases y luego se analizan los sistemas de detección más utilizados. En algunos casos los cromatógrafos de gases se acoplan a instrumentos espectroscópicos como los de infrarrojo. En este caso, el dispositivo espectrométrico sirve no sólo para detectar la aparición de los analitos, sino también para identificarlos.

⁴ Véase L. A. Colon y L. J. Baird, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., cap. 6, Nueva York: Wiley-Interscience, 2004.



FIGURA 27.6 Columnas capilares de sílice fundida. (Cortesía de Restek Corp., Bellefonte, PA.)

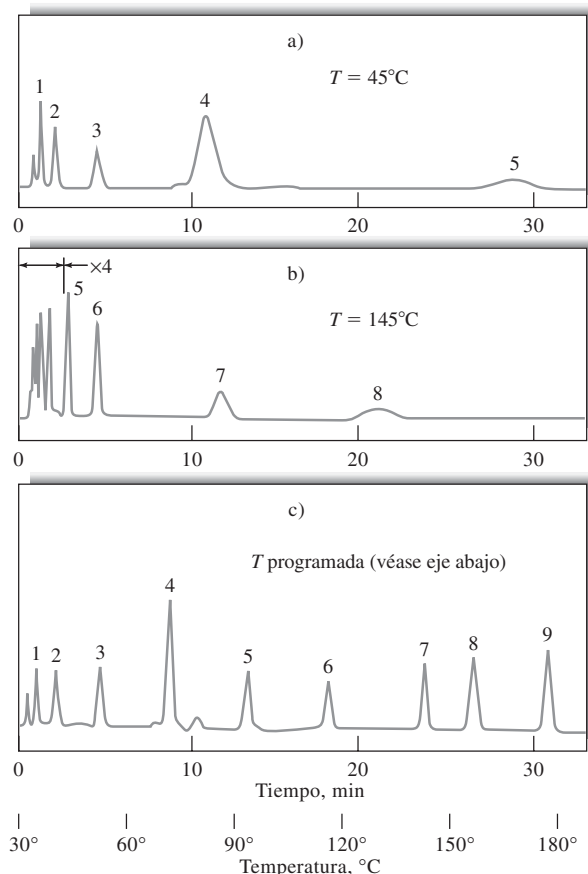


FIGURA 27.7 Efecto de la temperatura en los cromatogramas de gases. a) isotérmica a 45°C; b) isotérmica a 145°C; c) programada de 30°C a 180°C. (Tomada de W. E. Harris y H. W. Habgood, *Programmed Temperature Gas Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1966, p. 10. Reimpreso con autorización.)

Características del detector ideal

El detector ideal para cromatografía de gases tiene las siguientes características:

1. Sensibilidad adecuada. Justo lo que constituye una adecuada sensibilidad no puede evaluarse de forma cuantitativa. Por ejemplo, las sensibilidades de los detectores que se describen en esta sección difieren por un factor de 10^7 . Aunque todos se utilizan extensamente y son satisfactorios en ciertos casos, los menos sensibles no son adecuados para algunas aplicaciones. En general, las sensibilidades de los detectores actuales se encuentran en el intervalo de 10^{-8} a 10^{-15} g de soluto/s.
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Respuesta lineal para los solutos que se extienda a varios órdenes de magnitud.
4. Intervalo de temperaturas desde la temperatura ambiente hasta al menos 400°C.
5. Tiempo de respuesta corto independiente de la tasa de flujo.
6. Alta confiabilidad y manejo sencillo. El detector debería estar a prueba de la impericia de operadores inexpertos, si es posible.
7. Respuesta semejante para todos los solutos o, por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para uno o más tipos de solutos.
8. No debe destruir la muestra.

Por desgracia, no hay un detector que reúna todas estas características. Algunos de los detectores más comunes son los que se mencionan en la tabla 27.1. Enseñada se describen varios de los detectores más usados.

Detectores de ionización por llama

El detector de ionización por llama (FID, por sus siglas en inglés) es el que más se utiliza y, por lo general, uno de los que más se aplican en cromatografía de gases. En un detector como el que se muestra en la figura 27.8, el efluente de la columna se dirige a una pequeña llama de hidrógeno y aire. La mayoría de los compuestos orgánicos

TABLA 27.1 Detectores característicos para cromatografía de gases.

Tipo	Muestras aplicables	Límite característico de detección
Ionización por llama	Hidrocarburos	1 pg/s
Conductividad térmica	Detector universal	500 pg/mL
Captura de electrones	Compuestos halogenados	5 fg/s
Espectrómetro de masas (EM)	Sintonizable para cualquier especie	0.25 a 100 pg
Termoiónico	Nitrógeno y compuestos de fósforo	0.1 pg/s (P), 1 pg/s (N)
Conductividad electrolítica (Hall)	Compuestos que contienen halógenos, azufre o nitrógeno	0.5 pg Cl/s, 2 pg S/s, 4 pg N/s
Fotoionización	Compuestos ionizados mediante radiación UV	2 pg C/s
Infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR)	Compuestos orgánicos	0.2 a 40 ng

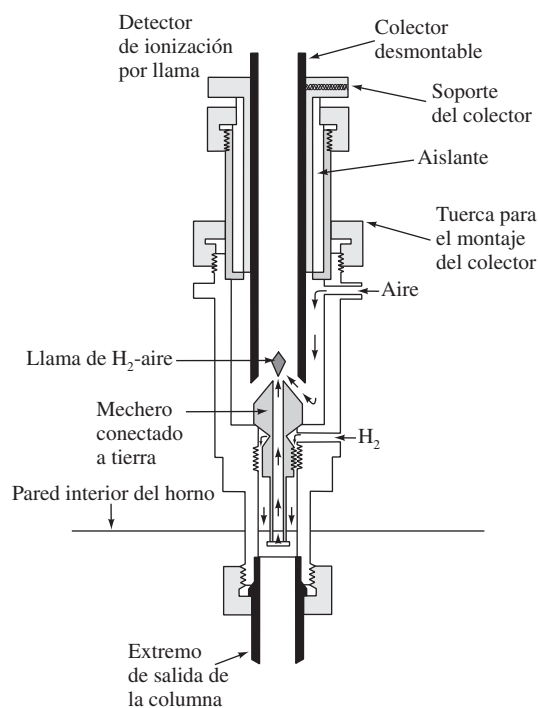


FIGURA 27.8 Un detector de ionización por llama característico. (Cortesía de Agilent Technologies.)

nicos producen iones y electrones cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno-aire. La detección implica controlar la corriente producida al recolectar estos portadores de carga. Cuando se aplica una diferencia de potencial de unos pocos cientos de volts entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, los iones y los electrones se dirigen hacia el colector. La corriente resultante ($\sim 10^{-12}$ A) se mide con un picoamperímetro de alta impedancia.

La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono es un proceso no muy bien conocido, aunque se observa que el número de iones que se produce es relativamente proporcional al número de átomos de carbono que se *reducen* en la llama. Puesto que el detector de ionización por flama responde a la cantidad de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, es más un detector *sensible a la masa* que un dispositivo *sensible a la concentración*. Como tal, este detector tiene la ventaja de que los cambios en la tasa de flujo de la fase móvil afectan poco la respuesta del detector.

Los grupos funcionales, como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan pocos iones o prácticamente ninguno en la llama. Además, el detector es insensible a los gases no combustibles como H_2O , CO_2 , SO_2 , CO , gases nobles y NO_x . Estas propiedades hacen del detector de ionización por flama uno de los que más se

utiliza para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos, sin olvidar los contaminados con agua y óxidos de nitrógeno y de azufre.

El detector de ionización por llama manifiesta una elevada sensibilidad ($\sim 10^{-13}$ g/s), un gran intervalo de respuesta lineal ($\sim 10^7$) y un bajo ruido. Las desventajas de este detector son la destrucción de la muestra durante el paso de la combustión y la necesidad de gases adicionales y controladores.

Detector de conductividad térmica

Uno de los primeros detectores que se utilizaron en cromatografía de gases es el *detector de conductividad térmica* (TCD, por sus siglas en inglés) que todavía tiene una gran aplicación. Este dispositivo contiene una fuente que se calienta mediante electricidad y cuya temperatura a una potencia eléctrica constante depende de la conductividad térmica del gas circundante. El elemento calentado puede ser un hilo fino de platino, oro o tungsteno, o también un pequeño termistor. La resistencia eléctrica de este elemento depende de

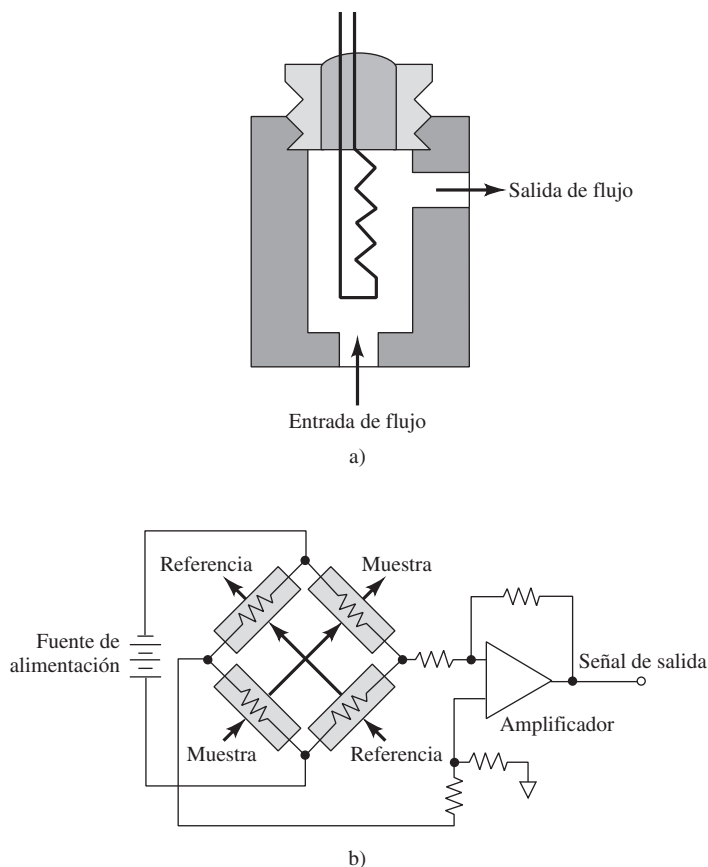


FIGURA 27.9 Esquema de a) celda de un detector de conductividad térmica y b) configuración de las dos celdas de muestra y de las dos de referencia de un detector. (Tomado de J. Hinshaw, *LC-GC*, 1990, 8, p. 298. Con autorización.)

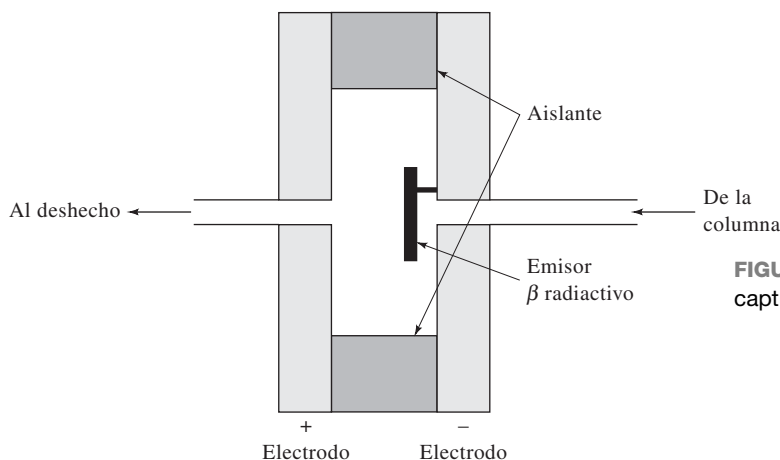


FIGURA 27.10 Esquema de un detector de captura de electrones.

la conductividad térmica del gas. En la figura 27.9a se muestra una sección transversal de uno de los elementos sensibles a la temperatura de un detector de conductividad térmica.

Por lo regular se usan detectores gemelos: uno de los pares se coloca más allá de la cámara de inyección de la muestra y el otro más allá de la columna. Los elementos del detector se denominan *muestra* y *referencia* en la figura 27.9b. Otra posibilidad es que la corriente de gas se puede dividir. Los detectores están incorporados en dos ramas de un circuito puente que se configura de modo que se cancele la conductividad térmica del gas portador. Además, se reducen al mínimo los efectos de las variaciones de temperatura, presión y potencia eléctrica.

También hay detectores de conductividad térmica modulados de un solo filamento. En este caso, los gases de referencia y analítico se hacen pasar de manera alternada sobre un minúsculo filamento contenido en una celda de poco volumen: tan sólo ($\sim 5 \mu\text{L}$). El dispositivo de conmutación de los gases opera con una frecuencia de 10 Hz. Por consiguiente, la salida es una señal eléctrica de 10 Hz cuya amplitud es proporcional a la diferencia en la conductividad térmica de los gases de referencia y analítico. Como el amplificador responde sólo a una señal de 10 Hz, el ruido térmico del sistema se elimina en gran medida.

Las conductividades térmicas del helio y del hidrógeno son de alrededor de 6 a 10 veces mayores que las de la mayoría de los compuestos orgánicos. Por tanto, incluso pequeñas cantidades de materia orgánica ocasionan una disminución relativamente grande de la conductividad térmica del efluente de la columna, lo cual da como resultado un marcado aumento en la temperatura del detector. La detección mediante conductividad térmica es menos satisfactoria con gases portadores cuyas conductividades térmicas son muy parecidas a las de la mayoría de los componentes de la muestra.

Las ventajas del detector de conductividad térmica son su sencillez, su amplio intervalo dinámico lineal ($\sim 10^5$), su respuesta general tanto a especies orgánicas como a inorgánicas y su carácter no destructivo, lo que permite recoger los solutos tras la detección. Su limitación principal es su sensibilidad relativamente baja ($\sim 10^{-8}$ g de soluto/mL de gas portador). Otros detectores son de 10^4 a 10^7 veces más sensibles. Debe subrayarse que la baja sensibilidad de los detectores de conductividad térmica imposibilita con frecuencia usarlos con columnas capilares si las cantidades de muestra son muy pequeñas.

Detector de captura de electrones

El detector de captura de electrones (ECD, por sus siglas en inglés)⁵ ha llegado a ser uno de los más ampliamente utilizados para el análisis de muestras ambientales porque es sensible a compuestos orgánicos que contienen halógenos, como los plaguicidas y los bifenilos policlorados. Como se muestra en la figura 27.10, el eluyente de la muestra procedente de la columna pasa por un emisor β radiactivo, casi siempre de níquel-63. Un electrón del emisor provoca la ionización del gas portador, con frecuencia nitrógeno, y la producción de una ráfaga de electrones. Cuando no hay especies orgánicas se forma una corriente constante entre un par de electrodos a causa de este proceso de ionización. En cambio, la corriente disminuye de manera notable si hay moléculas orgánicas que contengan grupos funcionales electronegativos que tiendan a captar electrones.

Este tipo de detector es de respuesta selectiva. Identifica compuestos como halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro; en cambio, es insensible a grupos funcionales como aminas, alcoholes e hidrocarburos. Una aplicación importante del detector es el reconocimiento y la determinación cuantitativa de insecticidas clorados.

⁵Para una descripción reciente de los detectores de captación de electrones comerciales, consulte D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 442A.

Los detectores de captación de electrones son muy sensibles y tienen la ventaja de no alterar la muestra de manera significativa, a diferencia del detector de ionización por flama, que consume la muestra. Por otra parte, la respuesta lineal del detector se limita a alrededor de dos órdenes de magnitud.

Detectores termoiónicos

El detector termoiónico es sensible a los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. Su respuesta a un átomo de fósforo es aproximadamente 10 veces mayor que a un átomo de nitrógeno y de 10^4 a 10^6 veces superior que a un átomo de carbono. En comparación con el detector de ionización por flama, el detector termoiónico es unas 500 veces más sensible a los compuestos que contienen fósforo y unas 50 veces más sensible a las especies nitrogenadas. Estas propiedades hacen de la detección termoiónica un sistema muy útil para percibir y determinar muchos plaguicidas que contienen fósforo.

Un detector termoiónico tiene una configuración similar al detector de flama que se ilustra en la figura 27.8. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno, pasa a través de la punta de la flama y se quema. Entonces, el gas caliente fluye alrededor de una bola de silicato de rubidio calentada mediante electricidad que se mantiene a unos 180 V respecto al colector. La bola caliente forma un plasma que alcanza una temperatura de 600°C a 800°C. Se desconoce lo que ocurre exactamente en el plasma para que se produzca una cantidad inusual y enorme de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o nitrógeno, pero el resultado es una gran corriente iónica, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que contienen estos dos elementos.

Detectores de conductividad electrolítica

Los compuestos que contienen halógenos, azufre o nitrógeno se mezclan en el detector Hall de conductividad electrolítica con un gas de reacción en un reactor tubular pequeño, casi siempre de níquel. El tubo de la reacción se mantiene a 850°C–1000°C. Luego se disuelven los productos en un líquido, lo cual origina una solución conductora. A continuación se mide el cambio en la conductividad como resultado de las especies iónicas en la celda de conductancia. Un detector típico se ilustra en la figura 27.11.

En el modo de halógenos, el hidrógeno se usa como gas para la reacción. Los compuestos que contienen halógenos se convierten en HX y se disuelven en alcohol *n*-propílico como solvente de conductividad. De este modo, los compuestos que contienen azufre se transforman en H₂S y los compuestos que contienen nitrógeno en NH₃, lo cual no da respuestas significativas porque ambos se ionizan de manera deficiente en

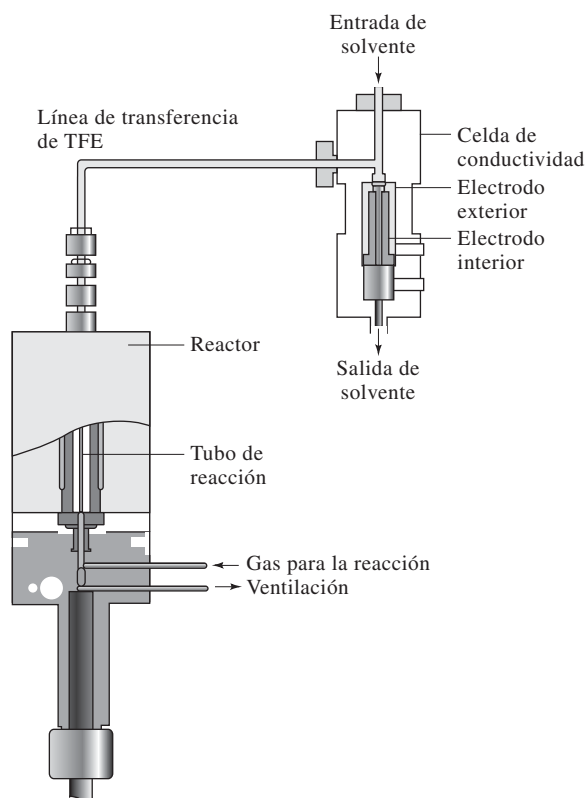


FIGURA 27.11 Diagrama de un detector Hall de conductividad electrolítica. (Cortesía de ThermoElectron Corp.)

el solvente. El límite de detección es ~ 0.5 pg Cl/s, y el intervalo lineal es 10^6 .

En el modo de azufre, el gas para la reacción es aire, el cual transforma los compuestos que contienen azufre en SO₂. El solvente de conductividad es alcohol metílico con una pequeña cantidad de agua. El SO₂ se convierte en sulfito y en iones sulfato en presencia de agua. Los compuestos que contienen nitrógeno se transforman en N₂ y óxidos de nitrógeno y manifiestan poca o ninguna respuesta. Los compuestos que contienen halógeno se transforman en HX y se tienen que eliminar mediante un depurador después de reaccionar y antes de la detección. En la modalidad de azufre, alrededor se puede detectar 2 pg S/s con un intervalo lineal de tres órdenes de magnitud.

En el modo de nitrógeno se utiliza hidrógeno como gas de reacción, como en el modo de halógeno. No obstante, en este caso se usa agua que contiene una pequeña cantidad de un solvente orgánico como solvente de conductividad. En este solvente el NH₃ producido se transforma en NH₄⁺. El HX y el H₂S producidos a partir de compuestos que contienen halógenos y azufre se eliminan con un depurador después de la reacción. El límite de detección es de ~ 4 pg N/s con un intervalo lineal de tres órdenes de magnitud.

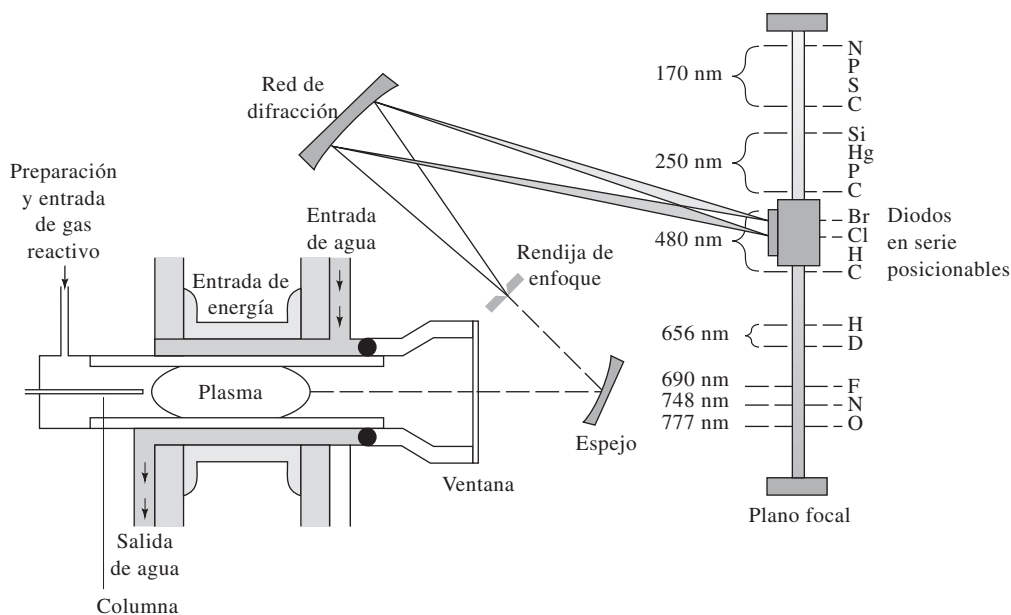


FIGURA 27.12 Detector de emisión atómica para cromatografía de gases. (Cortesía de Agilent Technologies.)

También hay detectores de conductividad electro-lítica en seco. La diferencia con los detectores ordinarios es que no requieren un solvente, sino que detectan los iones del producto en la fase gaseosa. Los detectores en seco son sensibles a los compuestos que contienen cloro y bromo. Se utilizan en serie con un detector de ionización por flama.

Detector de fotoionización

En el detector de fotoionización, las moléculas que salen de la columna de cromatografía de gases son fotoionizadas mediante radiación ultravioleta proveniente de una lámpara de hidrógeno de 10.2 eV o de una lámpara de argón de 11.7 eV. Esta fuente ioniza las especies con un potencial de ionización por debajo de la energía de la lámpara. Los compuestos con un potencial de ionización superior no absorben la energía y, por tanto, no son detectados. Luego, los iones y los electrones producidos por fotoionización se colectan en un par de electrodos polarizados. El detector es más sensible a los hidrocarburos aromáticos y los compuestos organosulfurados u organofosforados que se fotoionizan con facilidad. El intervalo lineal es hasta de siete órdenes de magnitud.

Detectores de emisión atómica

En el detector de emisión atómica (AED, por sus siglas en inglés), el efluente procedente de la columna de cromatografía de gases se introduce en un plasma inducido por microondas (MIP), un plasma acoplado por inducción (ICP) o un plasma de corriente continua (DCP). El plasma inducido por microondas es el que se usa más ampliamente y ya se encuentra en el comercio. Se uti-

liza junto con diodos en serie o con un espectrómetro de emisión atómica con un dispositivo de acoplamiento de carga como se muestra en la figura 27.12. El plasma tiene suficiente energía para atomizar todos los elementos de una muestra y excitarlos para obtener así sus espectros de emisión atómica característicos. Por tanto, el detector de emisión atómica es un detector *selectivo de elemento*. Como se puede ver a la derecha de la figura, los diodos en serie posicionables son capaces de supervisar de manera simultánea varios elementos en cualquier posición.

La figura 27.13 ilustra el poder de la detección selectiva de elementos. En este caso, la muestra es una gasolina que contiene una pequeña concentración de metil-*terc*-butiléter (MTBE), un agente antidetonante, además de varios alcoholes alifáticos en bajas concentraciones. El cromatograma superior se obtuvo supervisando la línea de emisión del carbono a 198 nm, y está constituido por una miríada de picos que sería imposible resolver e identificar. Por el contrario, cuando se utilizó la línea del oxígeno a 777 nm para obtener el cromatograma (figura 27.13b), los picos de varios alcoholes y del MTBE eran evidentes y se identificaron con facilidad.

Detector fotométrico de flama

El detector *fotométrico de flama* (FPD, por sus siglas en inglés) se ha utilizado de manera extensa para el análisis de contaminantes del aire y del agua, de plaguicidas y de los productos de la hidrogenación del carbón. Se trata de un detector selectivo que es sensible sobre todo a los compuestos que contienen azufre y fósforo. En este detector el eluyente se hace pasar a través de una

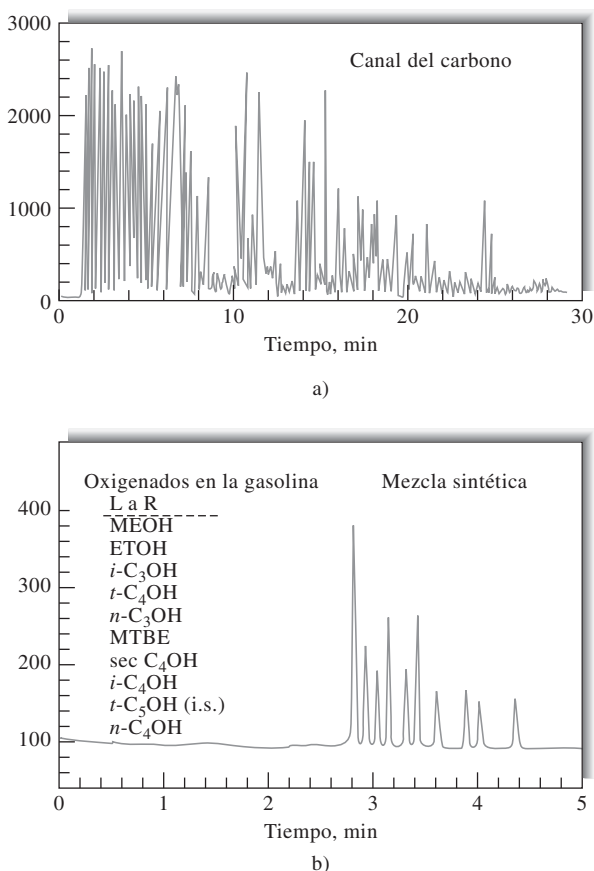


FIGURA 27.13 Cromatogramas para una muestra de gasolina que contiene una pequeña cantidad de MTBE y varios alcoholes alifáticos. a) Supervisión de una línea de emisión de carbono; b) supervisión de una línea de emisión de oxígeno. (Cortesía de Agilent Technologies.)

flama de hidrógeno-aire a baja temperatura, la cual convierte parte del fósforo en una especie HPO que emite bandas de radiación centradas alrededor de 510 y 526 nm. El azufre de la muestra se convierte al mismo tiempo en S_2 , el cual emite una banda centrada en 394 nm. Sin embargo, el detector de quimioluminiscencia del azufre, que se analiza más adelante en esta sección, proporciona límites de detección más bajos y un intervalo de trabajo lineal más amplio que el detector fotométrico de flama. Para aislar estas bandas se emplean filtros adecuados y su intensidad se registra por medios fotométricos. Con la fotometría de flama se han detectado otros elementos, entre los que están los halógenos, nitrógeno y diversos metales, como estaño, cromo, selenio y germanio.

Detectores de espectrometría de masas

Uno de los detectores más potentes para cromatografía de gases es el espectrómetro de masas. Este instrumento y sus aplicaciones se tratan en los capítulos 11 y

20. La combinación de cromatografía de gases con espectrometría de masas se conoce por las siglas GC-MS.⁶ En la actualidad, alrededor de 50 compañías que fabrican instrumentos ofrecen equipo para GC-MS. La tasa de flujo procedente de las columnas capilares es casi siempre tan baja que la salida de la columna se puede alimentar de manera directa a la cámara de ionización del espectrómetro de masas. Un esquema de un sistema característico se muestra en la figura 27.14. Antes del surgimiento de las columnas capilares en la GC, cuando se usaban las columnas empacadas, era necesario reducir al mínimo el gran volumen del gas portador que salía de la GC. Con este propósito se utilizaban diversas válvulas, membranas y separadores de efusión; pero, en muchos casos, dichos dispositivos también eliminaban una cantidad importante del analito, por lo cual eran muy ineficientes. En la actualidad las columnas capilares se emplean de modo invariable en los equipos de GC-MS y los mencionados separadores ya no se utilizan.

La degradación térmica de los componentes puede ser una dificultad en la GC-MS. No sólo la portezuela de inyección de la GC y la columna de GC causan degradación, sino también las superficies metálicas de la fuente de iones del espectrómetro de masas podrían ocasionar problemas. La reducción de la temperatura reduce al mínimo la degradación. Sin embargo, con frecuencia el espectrómetro de masas se usa para identificar productos de descomposición, los cuales pueden ocasionar modificaciones cromatográficas que resuelven el problema de la degradación.

Las fuentes de iones más comunes que se usan en GC-MS son la ionización por impacto de electrones y la ionización química. Las fuentes de iones en la espectrometría de masas se estudian con detalle en la sección 20B. Los analizadores de masa más comunes son los cuadrupolares y los de trampa de iones. Éstos se tratan en las secciones 11B.2 y 20C.3. Los analizadores de masa de tiempo de vuelo también se usan, pero no con tanta frecuencia como los cuadrupolares y los de trampas de iones.

En GC-MS, el espectrómetro de masas barre la masa en forma repetida durante el experimento cromatográfico. Si éste dura 10 minutos, por ejemplo, y se toma un barrido cada segundo, entonces se registran 600 espectros de masas. La información se analiza mediante el sistema de datos de varias maneras. Primero, se puede sumar la abundancia de iones en cada espectro y

⁶ Para mayor información, véase a J. Masucci y G. W. Caldwell, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4a. ed., R. L. Grob y E. F. Barry, eds., cap. 7, Nueva York: Wiley-Interscience, 2004; H.-J. Hubschmann, *Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2001; M. McMaster y C. McMaster, *GC/MS: A Practical User's Guide*, Nueva York, Wiley-VCH, 1998.

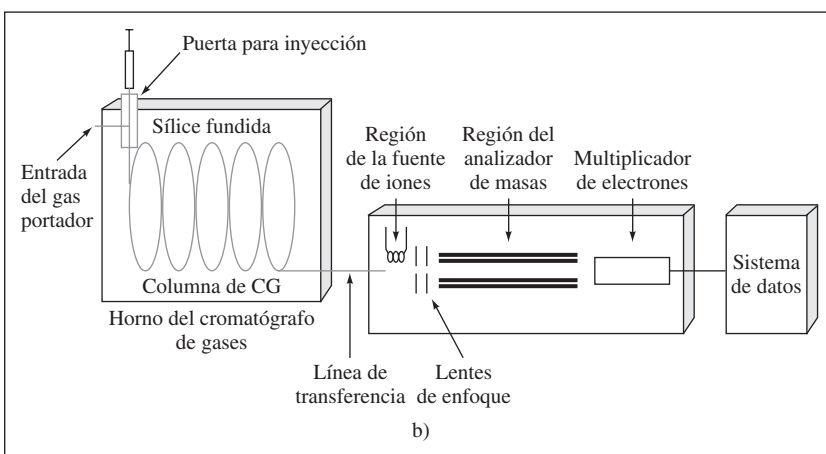


FIGURA 27.14 Esquema de un sistema de CG-EM capilar típico. El efluente que proviene de la CG pasa por la entrada del espectrómetro de masas, donde las moléculas del gas se fragmentan, ionizan, analizan y detectan.

graficarla en función del tiempo para obtener un *cromatograma de iones totales*. Esta gráfica es parecida a un cromatograma ordinario. Asimismo, se puede desplegar el espectrómetro de masas en un momento en particular durante el cromatograma para identificar las especies que salen en dicho momento. Por último, se puede elegir un solo valor de masa-carga (m/z) y supervisar a lo largo de todo el experimento cromatográfico. A esta técnica se le conoce como *supervisión de un ion selecto*. Los espectros de masas de iones seleccionados que se obtienen durante un experimento cromatográfico se conocen como *cromatogramas de masas*.

Los instrumentos para GC-MS se usan para identificar miles de componentes presentes en sistemas naturales y biológicos. Por ejemplo, estos procedimientos han permitido identificar los componentes que causan el olor y el sabor en los alimentos, identificar contaminantes del agua, llevar a cabo diagnósticos médicos basados en los componentes del aliento y estudios sobre los metabolitos de fármacos.

En la figura 27.15 se muestra un ejemplo de aplicación de la GC-MS. La figura superior es el cromato-



Animación: aprenda más acerca de **GC-MS**.

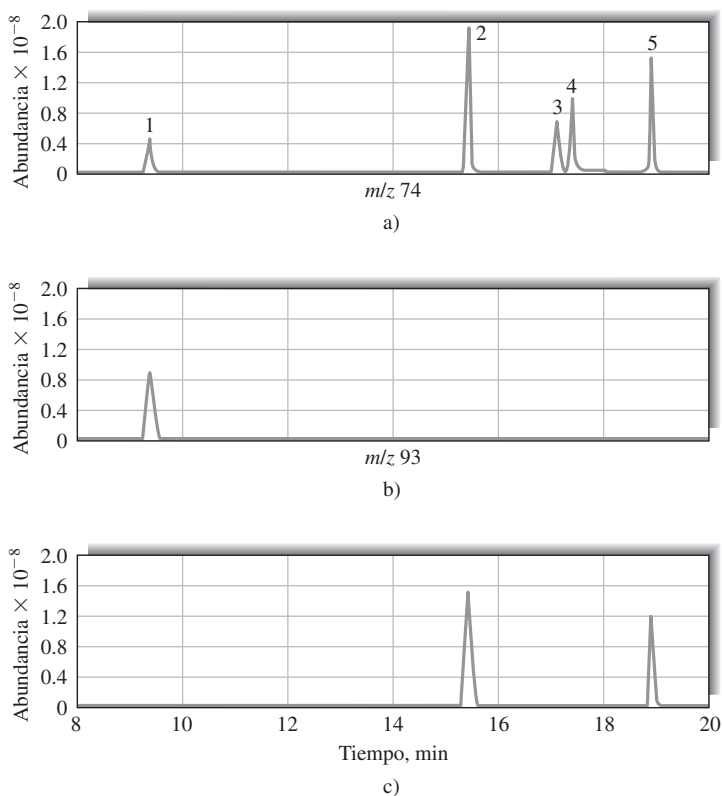


FIGURA 27.15 Salidas características del sistema GC-MS. En a) se muestra el cromatograma de la corriente de iones total de una mezcla de cinco componentes. Los componentes fueron 1, *N*-nitrosodimetilamina, 2, bis(2-cloroetil)éter, 3, bis(2-cloroisopropil)éter, 4, *N*-nitrosodi-*n*-propilamina y 5, bis(2-cloroetoxi)metano. En b) se muestra el cromatograma de masas a $m/z = 74$. El pico se debe al ion padre de nitrosodimetilamina ($C_2H_6N_2O$). En c) se ilustra un cromatograma de ion selecto a $m/z = 93$. Los picos 2 y 5 dan una respuesta a este valor de m/z debido a los productos de fragmentación. (Con autorización de J. A. Masucci y G. W. Caldwell, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4a ed., R. L. Grob y E. F. Barry, eds., New York: Wiley-Interscience, 2004, p. 356.)

grama de iones totales de una mezcla de cinco componentes. También se ilustran cromatogramas de masas a $m/z = 74$ y $m/z = 93$. A partir de éstos, se determinan los componentes 1, 2 y 5.

La espectrometría de masas también se puede aplicar para obtener información acerca de los componentes separados de manera incompleta. Por ejemplo, el espectro de masas del borde frontal de un pico de GC podría ser diferente del de la parte media del pico o del borde posterior si dicho pico se debe a más de un componente. Con la espectrometría de masas es factible no sólo determinar que un pico se debe a más de una especie, sino también identificar sus diversos componentes sin resolver. La cromatografía de gases también se acopla a espectrómetros de masas en tándem o a espectrómetros de masas de transformada de Fourier para tener así sistemas GC-MS-MS o GC-MSⁿ. Estas son herramientas en extremo potentes para identificar componentes de mezclas.

Cromatografía de gases acoplada con detección espectroscópica

A menudo, la cromatografía de gases se combina con otras técnicas selectivas como la espectroscopía y la electroquímica para generar herramientas potentes con las que se pueden separar e identificar los componentes de muestras complejas. Las combinaciones de GC con espectrometría de masas (GC-MS), con espectroscopía en infrarrojo y transformada de Fourier (GC-FTIR), con espectroscopía magnética nuclear y métodos electroanalíticos se llaman a veces *métodos acoplados*.

En los primeros sistemas, los gases efluentes de una columna cromatográfica se recogían como fracciones separadas en una trampa fría y se usaba un detector no destructivo y no selectivo para indicar su aparición. La composición de cada fracción se investigaba mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear, de infrarrojo o a través de mediciones electroanalíticas. Una limitación importante en esta metodología era que las cantidades de soluto que contenían las fracciones eran muy pequeñas (normalmente micromoles).

La mayor parte de los métodos acoplados modernos supervisa en forma continua el efluente proveniente de la columna cromatográfica mediante métodos espectroscópicos. La combinación de dos técnicas que se basan en principios distintos puede alcanzar una enorme selectividad. Los actuales instrumentos computarizados para cromatografía de gases ya tienen incorporadas bases de datos muy grandes para comparar espectros e identificar compuestos.

Otros tipos de detectores

Otros tipos de detectores para cromatografía de gases son útiles para aplicaciones específicas. El *detector de quimioluminiscencia del azufre* se basa en la reacción

entre ciertos compuestos azufrados y el ozono. La intensidad de la luminiscencia resultante es proporcional a la concentración de azufre. Está demostrado que este detector es especialmente útil en la detección de contaminantes como los mercaptanos. En el detector de quimioluminiscencia del azufre el eluyente se mezcla con hidrógeno y aire, y se produce la combustión igual que en el detector de ionización por flama. Los gases así obtenidos se mezclan luego con ozono y se mide la intensidad de la emisión resultante. El intervalo lineal es de alrededor de cinco órdenes de magnitud y el límite de detección para el azufre es de casi 0.5 pg/s. El detector de quimioluminiscencia del azufre también ha sido adaptado a la cromatografía de fluidos supercríticos.

El detector de quimioluminiscencia específico para nitrógeno es muy similar al detector del azufre. El producto de combustión del óxido nitroso reacciona con el ozono para producir quimioluminiscencia. La respuesta del detector es lineal con respecto al nitrógeno en casi cuatro órdenes de magnitud. El límite de detección para el nitrógeno es de casi 5 pg/s. El detector se puede usar para compuestos orgánicos nitrogenados y compuestos inorgánicos, como el amoníaco, hidracina, HCN y óxidos de nitrógeno.

27C COLUMNAS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES Y FASES ESTACIONARIAS

Los estudios pioneros en cromatografía gas-líquido a principios de los años cincuenta se llevaron a cabo en columnas empacadas, en las que la fase estacionaria era una película delgada de líquido adsorbida en la superficie de un soporte sólido inerte y finamente dividido. A partir de los estudios teóricos que se realizaron en este periodo inicial, se puso de manifiesto que las columnas no empacadas con diámetros internos de unas pocas décimas de milímetro deberían proporcionar separaciones mucho mejores que las columnas empacadas tanto en lo referente a rapidez como a eficiencia de la columna. En estas *columnas capilares*, la fase estacionaria era una película uniforme de líquido de unas pocas décimas de micrómetro de espesor que cubría el interior del tubo capilar. Este tipo de *columnas tubulares abiertas* se construyó a finales de los años cincuenta y las características de funcionamiento predichas se confirmaron de manera experimental en distintos laboratorios, y se describió el uso de columnas tubulares abiertas con 300 000 platos o más.⁷ En la actualidad predomi-

⁷En 1987, la compañía holandesa Chrompack International Corporation estableció un récord de longitud de una columna tubular abierta y cantidad de platos teóricos según el *Libro de récords Guinness*. La columna era de sílice fundida de una sola pieza cuyo diámetro interior era de 0.32 mm y longitud de 2.1 km. Estaba cubierta por una película de 0.1 µm de polidimetil siloxano. Una sección de 1.3 km de esta columna contenía más de dos millones de platos.

nan las columnas tubulares abiertas en cromatografía de gases porque, sin relleno, las columnas se pueden hacer más angostas y más largas, lo que ocasiona eficiencias más altas que con las columnas empacadas.

A pesar de tales características de funcionamiento tan espectaculares, las columnas capilares no se generalizaron sino hasta más de dos décadas después de su invención. Las razones de esta demora fueron diversas, entre ellas su capacidad, limitada a muestras pequeñas, la fragilidad de las columnas, algunos problemas mecánicos relacionados con la introducción de la muestra y la conexión de la columna al detector, dificultades en la reproducibilidad del revestimiento de la columna, la corta duración de las columnas mal preparadas, la tendencia de las columnas a obstruirse y las patentes, que limitaron el desarrollo comercial a un único fabricante (la patente original expiró en 1977). A finales de los años setenta, esos problemas en parte habían dejado de serlo y varias compañías fabricantes de instrumentación comenzaron a ofrecer columnas abiertas a un precio razonable. Desde entonces ha tenido lugar un considerable aumento de las aplicaciones de las columnas capilares.⁸

27C.1 Columnas tubulares abiertas

Las columnas tubulares o columnas capilares son de dos tipos básicos, a saber, *columnas tubulares abiertas de pared revestida* (WCOT) y *columnas tubulares abiertas revestidas con soporte* (SCOT).⁹ Las primeras son simplemente capilares cuya pared interna está revestida con una fina capa de fase estacionaria. En las segundas la superficie interna del capilar está cubierta con una capa delgada ($\sim 30 \mu\text{m}$) de un material de soporte, tal como tierra de diatomáceas. Este tipo de columna contiene varias veces la fase estacionaria que tiene una columna de pared revestida y, por tanto, posee mayor capacidad para la muestra. En general, la efectividad de una columna SCOT es menor que la de una columna WCOT, pero en gran medida superior a la de una columna empacada.

Las primeras columnas WCOT se construyeron con acero inoxidable, aluminio, cobre o plástico. Después se empezó a utilizar el vidrio. Con frecuencia, las columnas de vidrio se trataban con ácido clorhídrico gaseoso, soluciones de ácido clorhídrico concentrado o fluoruro ácido de potasio para originar una superficie rugosa, a la que se unía con más fuerza la fase estacionaria. Las columnas capilares que más se han utilizado son las *tubulares abiertas con pared revestida de sílice*

fundida (FSWC). Los capilares de sílice fundida se fabrican a partir de sílice purificada que contiene cantidades mínimas de óxidos metálicos. Estos capilares tienen las paredes mucho más delgadas que sus equivalentes de vidrio. La resistencia de los tubos se refuerza con un revestimiento externo protector de poliimida que se aplica en el momento de la fabricación del capilar. Las columnas que resultan son bastante flexibles y pueden doblarse en forma helicoidal con diámetro de algunos centímetros. En la figura 27.6 se ilustran columnas tubulares abiertas de sílice fundida. Las columnas abiertas de sílice están disponibles en el comercio y ofrecen importantes ventajas, como resistencia física, una reactividad mucho menor frente a los componentes de la muestra y flexibilidad. En la mayoría de las aplicaciones, han sustituido a las antiguas columnas de vidrio WCOT.

Las columnas tubulares abiertas de sílice que más se emplean tienen diámetros interiores de 0.32 y 0.25 mm. También se venden columnas de mayor resolución, con diámetros de 0.20 y 0.15 mm. El uso de estas columnas es más problemático en lo referente a los sistemas de detección e inyección. Por consiguiente, se tiene que utilizar un divisor para reducir el tamaño de la muestra que se inyecta en la columna y se requiere un sistema de detección más sensible con un tiempo de respuesta rápido.

Recientemente aparecieron en el mercado capilares de $530 \mu\text{m}$ a veces llamados *columnas megacapilares*. Éstas admiten muestras de tamaño similar al que se emplea en las columnas empacadas. El funcionamiento de las columnas tubulares abiertas megacapilares no es tan bueno como el de las columnas de menor diámetro, pero es significativamente mejor que el de las columnas empacadas.

En la tabla 27.2 se comparan las características de desempeño de las columnas capilares de sílice fundida con las de otros tipos de columnas de pared revestida, así como con las revestidas de soporte y las empacadas.

27C.2 Columnas empacadas

Las columnas empacadas modernas se fabrican con tubos de vidrio o de metal; por lo regular, miden de 2 a 3 m de largo y su diámetro interior es de 2 a 4 mm. Estos tubos se rellenan densamente con un material finamente dividido y homogéneo, que es el soporte sólido, cubierto con una capa delgada de 0.05 a $1 \mu\text{m}$ de fase estacionaria líquida. En general, los tubos se configuran en forma helicoidal con un diámetro aproximado de unos 15 cm con el objetivo de facilitar el control de la temperatura en un horno.

Materiales de soporte sólidos

El relleno o soporte sólido de una columna empacada sirve para retener la fase estacionaria líquida en su

⁸Para mayor información sobre columnas en cromatografía de gases, consulte E. F. Barry, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., cap. 3, Nueva York: Wiley-Interscience, 2004.

⁹Una detallada descripción de las columnas tubulares abiertas se encuentra en M. L. Lee, F. J. Yang y K. D. Bartle, *Open Tubular Column Gas Chromatography: Theory and Practice*, Nueva York: Wiley, 1984.

TABLA 27.2 Propiedades y características de las columnas típicas para cromatografía de gases.

	Tipo de columna			
	FSWC*	WCOT†	SCOT‡	Empacada
Longitud, m	10–100	10–100	10–100	1–6
Diámetro interior, mm	0.1–0.3	0.25–0.75	0.5	2–4
Eficiencia, platos/m	2000–4000	1000–4000	600–1200	500–1000
Tamaño de la muestra, ng	10–75	10–1000	10–1000	10–10 ⁶
Presión relativa	Baja	Baja	Baja	Alta
Velocidad relativa	Rápida	Rápida	Rápida	Baja
Flexibilidad	Sí	No	No	No
Químicamente inerte	Mejor			Deficiente

*Columnas tubulares abiertas con pared revestida con sílice fundida.

†Columnas tubulares abiertas de metal, plástico o vidrio con pared revestida.

‡Columnas tubulares abiertas revestidas con soporte, también conocidas como columnas tubulares abiertas de capa porosa, PLOT.

lugar, de tal forma que exista la mayor área superficial expuesta a la fase móvil. El soporte ideal consiste en partículas esféricas, pequeñas y uniformes con una buena resistencia mecánica y área superficial específica de al menos 1 m²/g. Además, el material debe ser inerte a elevadas temperaturas y proclive a humectarse de modo homogéneo con la fase líquida. Todavía no se dispone de ninguna sustancia que reúna perfectamente todas estas características.

El material de soporte más utilizado desde el principio hasta la actualidad para cromatografía de gases está preparado de tierra de diatomáceas, la cual está constituida por esqueletos de miles de especies de vegetales unicelulares que habitaron antiguos mares y la-

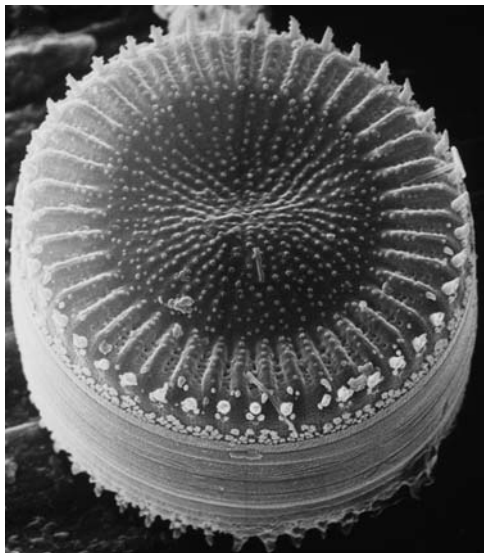


FIGURA 27.16 Microfotografía de una diatomácea, ampliada 5000×. (© Dr. Anne Smith/Photo Researchers, Inc.)

gos. En la figura 21.17 se puede apreciar una fotografía ampliada de una diatomácea que se tomó con un microscopio de barrido electrónico. Estas plantas tomaban sus nutrientes y eliminaban sus desechos mediante difusión molecular a través de sus poros. Por tanto, sus restos resultan muy adecuados como materiales de soporte porque la cromatografía de gases también se fundamenta en este tipo de difusión molecular.

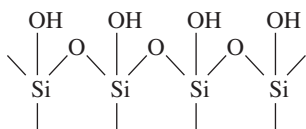
Tamaño de partícula de los soportes

La efectividad de la columna en cromatografía de gases aumenta con rapidez cuando disminuye el diámetro de la partícula de relleno, como se indica en la figura 26.11. Pero la diferencia de presión que se requiere para mantener una tasa de flujo aceptable de gas portador varía inversamente con el cuadrado del diámetro de la partícula; este hecho establece límites inferiores en el tamaño de las partículas que se utilizan en cromatografía de gases, dado que no es conveniente trabajar con diferencias de presión superiores a los 50 psi. Como resultado, las partículas de soporte comunes son de malla 60 a 80 (250 a 170 μm) o de malla 80 a 100 (170 a 149 μm).

27C.3 Adsorción sobre los rellenos de la columna o las paredes del capilar

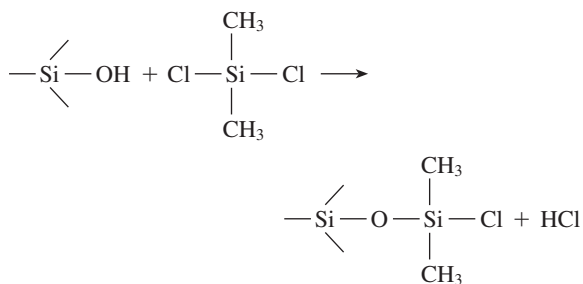
Uno de los problemas que ha afectado a la cromatografía de gases desde sus comienzos es la adsorción física de los analitos polares o polarizables, como alcoholes o hidrocarburos aromáticos, en las superficies de silicato del relleno de la columna o en las paredes del capilar. La adsorción da como resultado picos distorsionados, los cuales se ensanchan y a menudo presentan una cola (revise la figura 26.5). La adsorción se produce por los grupos silanol que se forman en la superficie de los silicatos debido a la humedad. Por consiguiente,

una superficie de silicato totalmente hidrolizada tiene la estructura

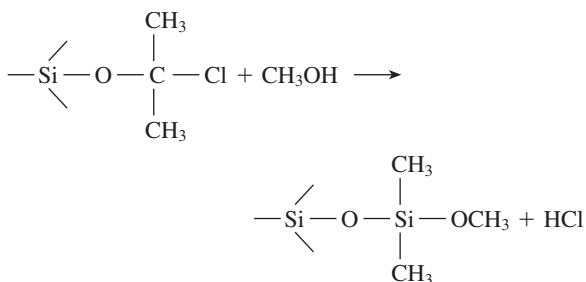


Los grupos SiOH presentes en la superficie del soporte poseen una gran afinidad hacia las moléculas orgánicas polares y tienden a retenerlas por adsorción.

Los materiales de soporte se desactivan por silanización con dimetilclorosilano (DMCS). La reacción es



Mediante un lavado con metanol, el segundo cloruro se reemplaza con un grupo metoxi, es decir,



Las superficies silanizadas de los rellenos de las columnas todavía pueden mostrar una adsorción residual, que al parecer se produce debido a las impurezas de óxidos metálicos presentes en la tierra de diatomáceas. Un lavado ácido previo a la silanización las elimina. La sílice fundida que se utiliza para la fabricación de columnas tubulares abiertas está casi del todo libre de este tipo de impurezas. Por esta razón, con las columnas de sílice fundida se tienen pocos problemas de adsorción.

27C.4 Fase estacionaria

Entre las propiedades deseables para una fase líquida inmovilizada en una columna cromatográfica gas-líquido están 1) *baja volatilidad* (idealmente, el punto de ebullición del líquido debe ser al menos 100°C mayor que la temperatura de trabajo máxima de la columna);

2) *estabilidad térmica*; 3) *químicamente inerte*; 4) *características de solvente* tales que los valores de k y α (secciones 26B.5 y 26B.6, respectivamente) de los solutos por resolver estén dentro de un intervalo satisfactorio.

Durante el perfeccionamiento de la cromatografía gas-líquido se ha propuesto un número incontable de solventes como fases estacionarias. Por ahora, menos de una docena se usa de manera ordinaria. La elección apropiada de la fase estacionaria es a menudo decisiva para el éxito de la separación. Las directrices cualitativas para realizar la elección de la fase estacionaria se pueden basar en la revisión de la bibliografía, en una búsqueda en Internet antes del experimento o con la asesoría del vendedor de equipo y suministros cromatográficos.

El tiempo de retención de un analito en una columna depende de su constante de distribución, que a su vez está relacionada con la naturaleza química de la fase estacionaria líquida. Para separar diversos componentes de la muestra, sus constantes de distribución tienen que ser muy diferentes para poder lograr una separación clara. Al mismo tiempo, estas constantes no tienen que ser ni muy grandes ni muy pequeñas porque las constantes de distribución grandes ocasionan tiempos de retención muy largos y las pequeñas dan como resultado tiempos de retención tan cortos que las separaciones son incompletas.

Para que un analito tenga un tiempo de residencia razonable en la columna, debe presentar cierto grado de compatibilidad (solubilidad) con la fase estacionaria. Aquí se aplica el principio de “lo semejante disuelve a lo semejante”, donde “semejante” se refiere a las polaridades del analito y del líquido inmovilizado. La polaridad de una molécula, según la indica su momento dipolar, es una medida del campo eléctrico producido por la separación de carga dentro de ella. Las fases estacionarias polares contienen grupos funcionales, como —CN, —CO y —OH. Las fases estacionarias del tipo de los hidrocarburos y dialquilsiloxanos son no polares y las fases poliéster son muy polares. Entre los analitos polares están: alcoholes, ácidos y aminas; entre los solutos de polaridad intermedia están éteres, cetonas y aldehídos. Los hidrocarburos saturados son no polares. Por lo general, la polaridad de la fase estacionaria debe corresponder con la de los componentes de la muestra. Cuando la correspondencia es buena, el orden de elución está determinado por el punto de ebullición de los eluyentes.

Clasificación de fases estacionarias

Se han publicado muchos esquemas diferentes para clasificar las fases estacionarias y así simplificar su elec-

TABLA 27.3 Algunas fases estacionarias líquidas comunes en cromatografía gas-líquido.

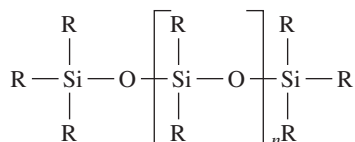
Fase estacionaria	Nombre comercial común	Temperatura máxima, °C	Aplicaciones comunes
Polidimetilsiloxano	OV-1, SE-30	350	Fase no polar de uso general, hidrocarburos, aromáticos polinucleares, esteroides, bifenilos policlorados
Fenil-polidimetilsiloxano 5%	OV-3, SE-52	350	Ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, fármacos, compuestos halogenados
Fenil-polidimetilsiloxano, 50%	OV-17	250	Fármacos, esteroides, plaguicidas, glicoles
Trifluoropropil-polidimetilsiloxano, 50%	OV-210	200	Aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituidos
Polietilenglicol	Carbowax 20M	250	Ácidos libres, alcoholes, éteres, aceites esenciales, glicoles
Cianopropil-polidimetilsiloxano, 50%	OV-275	240	Ácidos grasos poliinsaturados, ácidos de la colofonia, ácidos libres, alcoholes

ción. La mayoría de ellos se basa en sondas de soluto que prueban interacciones específicas entre el soluto y la fase líquida al medir las características de retención del soluto. Dos de las clasificaciones más importantes se basan en las investigaciones de Rohrschneider y McReynolds.¹⁰ El resultado fue la elaboración de listas de fases estacionarias y las clases de compuestos que puede separar cada una (véase tabla 27.3). De manera similar, los valores numéricos, conocidos como constantes de McReynolds, están disponibles para que el usuario tenga una guía al seleccionar la fase estacionaria para separar analitos que tienen distintos grupos funcionales, como alcoholes de aldehídos o cetonas.¹¹

Fases estacionarias ampliamente usadas

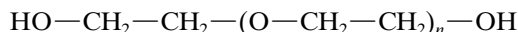
En la tabla 27.3 se proporciona una lista de las fases estacionarias que más se utilizan en cromatografía de gases, tanto en columnas empacadas como tubulares abiertas en orden de polaridad creciente. Es probable que estos seis líquidos proporcionen separaciones satisfactorias para un 90% o más de las muestras.

Cinco de los líquidos que se enlistan en la tabla 27.3 son polidimetilsiloxanos cuya estructura general es



En el primero de ellos, el polidimetilsiloxano, todos los grupos —R son —CH₃, lo que origina un líquido que es relativamente no polar. En los otros polisiloxanos de la tabla, se sustituye una fracción de los grupos metilo por grupos funcionales como fenilo (—C₆H₅), cianopropilo (—C₃H₆CN), y trifluoropropilo (—C₃H₆CF₃). El porcentaje señalado en cada uno de los casos representa el grado de sustitución de los grupos metilo del esqueleto de polisiloxano por un determinado grupo funcional. Por ejemplo, el fenilo-polidimetilsiloxano 5% tiene un anillo de fenilo enlazado a 5% de los átomos de silicio que constituyen el polímero. Estas sustituciones incrementan la polaridad de los líquidos en grado variable.

La quinta entrada en la tabla 27.3 corresponde al polietilenglicol cuya estructura es



tiene gran utilidad para separar especies polares. La figura 27.17 ilustra algunas de las aplicaciones de las fases que se enlistan en la tabla 27.3 para columnas tubulares abiertas.

Fases estacionarias enlazadas y con enlaces entrecruzados

De las columnas comerciales se dice que están equipadas con fases estacionarias enlazadas o con enlaces entrecruzados. El objetivo del enlace y del entrecruzamiento es ofrecer una fase estacionaria de larga duración que no se altere a altas temperaturas o durante la programación de la temperatura. Con el uso, las columnas que no han sido tratadas pierden lentamente

¹⁰ L. Rohrschneider, *J. Chromatogr.*, **1966**, 22, p. 6; W. O. McReynolds, *J. Chromatogr. Sci.*, **1970**, 8, p. 685.

¹¹ J. A. Dean, *Analytical Chemistry Handbook*, pp. 4.34-4.37, Nueva York: McGraw-Hill, 1995.

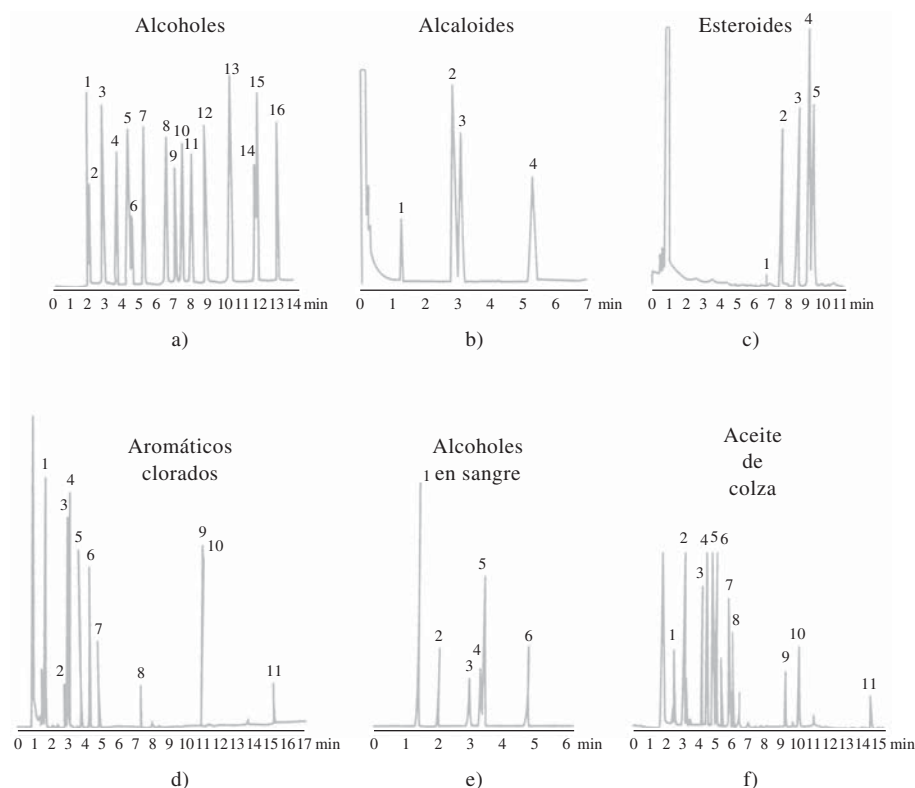


FIGURA 27.17 Cromatogramas característicos obtenidos con columnas tubulares abiertas revestidas con a) polidimetilsiloxano; b) (fenil-metildimetil) siloxano 5%; c) (fenil-metildimetil) siloxano 50%; d) poli(trifluoropropildimetil) siloxano 50%; e) polietilenglicol; f) poli(cianopropildimetil) siloxano 50%. (Cortesía de J & W Scientific.)

su fase estacionaria debido al “sangrado”, en el cual una pequeña cantidad de líquido inmovilizado es arrastrada fuera de la columna durante el proceso de elución. Tales columnas se recomiendan también para inyección en la columna, en la que se utiliza un volumen elevado de solvente. De hecho, en las columnas enlazadas o con entrecruzamiento químico se podría cambiar la dirección del flujo para eliminar los contaminantes sin pérdida importante de la fase estacionaria.

El enlace implica unir una capa monomolecular de la fase estacionaria a la superficie de sílice de la columna mediante una reacción química. En las columnas comerciales, la naturaleza de las reacciones que se utilizan normalmente es objeto de patente.

El entrecruzamiento se lleva a cabo *in situ* después de que la columna ha sido revestida con uno de los polímeros que se mencionan en la tabla 27.3. Una forma de realizar el entrecruzamiento consiste en incorporar un peróxido al líquido original. Al calentarse la película inicia la reacción entre los grupos metilo en las cadenas del polímero por medio de un mecanismo de radicales libres. Entonces, las moléculas del polímero se entrelazan mediante enlaces carbono-carbono. Las

películas que resultan de estos tratamientos casi no se pueden extraer y tienen una estabilidad térmica mucho mayor que las películas no tratadas. En otras ocasiones, los entrelazamientos también se inician por exposición de las columnas revestidas a radiación gamma.

Espesor de la película

Las columnas comercializadas están disponibles con fases estacionarias cuyo espesor varía de 0.1 a 5 μm . El espesor de la película afecta principalmente las características de retención y la capacidad de la columna, como se estudió en la sección 26C.3. Las películas gruesas se utilizan con analitos muy volátiles porque aquéllas retienen durante más tiempo los solutos, y así hay un mayor tiempo para que pueda tener lugar la separación. Las películas delgadas son apropiadas para separar especies de baja volatilidad en un tiempo razonable. Para la mayoría de las aplicaciones con columnas de 0.25 o 0.32 mm, se recomienda un grosor de película de 0.25 μm . Con columnas megacapilares se utilizan a menudo películas de 1 a 1.5 μm . En la actualidad se encuentran en el mercado columnas con películas de 8 μm .

Fases estacionarias quirales

En años recientes se ha dedicado un gran esfuerzo al perfeccionamiento de métodos para la separación de enantiómeros por cromatografía de gases o de líquidos.¹² Se han empleado dos procedimientos. Uno se basa en la formación de compuestos derivados del analito con un reactivo ópticamente activo, lo que origina un par de diastereómeros que se puedan separar en una columna aquiral. El otro método utiliza un líquido quiral como fase estacionaria. Con esta finalidad se crearon diversas fases quirales derivadas de aminoácidos y otras ya están disponibles en el comercio.

27D APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES

Para evaluar la importancia de la cromatografía de gases (GC) es necesario distinguir entre los dos papeles que desempeña la técnica. Primero, la cromatografía de gases es una herramienta para efectuar separaciones. En este sentido, los métodos de la GC son inmejorables cuando se aplican a muestras orgánicas complejas, a organometálicos y a sistemas bioquímicos conformados por especies volátiles o por especies que pueden someterse a un proceso para producir sustancias volátiles. El segundo papel que desempeña la GC es en la terminación de un análisis. En este caso se emplean los tiempos o volúmenes de retención para la identificación cualitativa y las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa. Desde el punto de vista cualitativo, la GC es una técnica mucho más limitada que la mayoría de los métodos espectroscópicos que se trataron en los capítulos anteriores. Por eso, una tendencia importante en este campo ha sido en la dirección de combinar las notables cualidades para la separación que tiene la GC con las mejores propiedades de identificación que poseen instrumentos como los espectrómetros de masas, de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear (véase sección 27B.4).

27D.1 Análisis cualitativo

Los cromatogramas de gases se utilizan extensamente para determinar la pureza de compuestos orgánicos. La aparición de picos adicionales revela que hay contaminantes presentes y las áreas bajo estos picos proporcionan un cálculo aproximado del grado de contaminación. Dichas áreas son sólo cálculos aproximados porque componentes diferentes podrían tener factores de respuesta del detector ampliamente distintos. Las técnicas de la cromatografía de gases también son útiles para evaluar la efectividad de los procedimientos de purificación.

¹²Para una revisión de las separaciones en fase estacionaria quiral por cromatografía de gases, véase J. V. Hinshaw, *LC-GC*, **1993**, *11*, p. 644; E. F. Barry, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., cap. 3, Nueva York: Wiley-Interscience, 2004.

En teoría, los tiempos de retención en GC deberían servir para identificar los componentes de una mezcla. Sin embargo, la aplicabilidad de tales datos está limitada por el número de variables que deben controlarse para obtener resultados reproducibles. No obstante, la cromatografía de gases es un medio excelente para confirmar la presencia o ausencia de un supuesto componente en una mezcla, siempre que se disponga de un patrón. Tras la adición del compuesto conocido a la muestra, el cromatograma de ésta no debe presentar ningún pico nuevo y debe observarse la intensificación de alguno de los picos ya existentes. La evidencia es en particular convincente si el efecto se puede reproducir con columnas diferentes y a distintas temperaturas.

Factores de selectividad

Como ya se ha visto (sección 26B.3) que el factor de selectividad α para los compuestos A y B viene dado por la relación

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} = \frac{(t'_R)_B}{(t'_R)_A}$$

donde $(t'_R)_A = [(t_R)_A - t_M]$ es el tiempo de retención ajustado para la especie A. Si se elige como sustancia patrón el compuesto B, entonces α puede proporcionar un índice para la identificación del compuesto A, que es en gran parte independiente de las variables de la columna, excepto de la temperatura. Se pueden preparar tablas numéricas de factores de selectividad para compuestos puros respecto a un patrón común y utilizarlos entonces para la caracterización de solutos. Por desgracia, es imposible encontrar un patrón universal que proporcione factores de selectividad de magnitud razonable para todos los tipos de analitos. Por tanto, es limitado el conjunto de factores de selectividad disponibles en las publicaciones actuales.

Índice de retención

E. Kovats propuso por primera vez el índice de retención I en 1958 para identificar solutos a partir de los cromatogramas.¹³ El índice de retención para cualquier soluto dado puede deducirse del cromatograma de una mezcla del soluto con al menos dos alcanos normales cuyos tiempos de retención igualen el valor del tiempo de retención del soluto. La escala de índices de retención se basa en los alcanos normales. Por definición, el índice de retención para un alcano normal es igual a 100 veces el número de carbonos del compuesto *sin considerar el relleno de la columna, la temperatura u otras condiciones cromatográficas*. Los índices de retención de todos aquellos compuestos que no sean alcanos normales varían a menudo varios cientos de unidades de índice de retención en función de las variables de la columna.

¹³E. Kovats, *Helv. Chim. Acta*, **1958**, *41*, p. 1915.

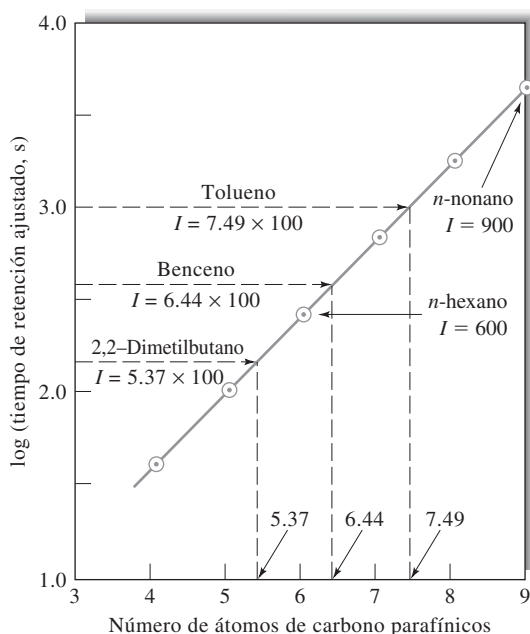


FIGURA 27.18 Ilustración gráfica del método para determinar los índices de retención de tres compuestos. Fase estacionaria: escualano. Temperatura: 60°C. Se indican los índices de retención para los alcanos patrones normales nonano y hexano.

Es bien conocido que, en una serie homóloga, la representación gráfica del logaritmo del tiempo de retención ajustado ($t'_R = t_R - t_M$) contra el número de átomos de carbono es lineal, siempre que se excluya el miembro menor de la serie. En la figura 27.18 se muestra la gráfica correspondiente a los patrones alcanos normales C_4 a C_9 . En las ordenadas se indica también el logaritmo de los tiempos de retención ajustados de tres compuestos para la misma columna y a la misma temperatura. Sus índices de retención se obtienen multiplicando por 100 los correspondientes valores en las abscisas. Entonces, el índice de retención del tolueno es 749 y el del benceno es 644.

Por lo regular no se requiere un procedimiento gráfico para determinar los índices de retención; en su lugar, los datos de retención ajustados se deducen por interpolación a partir de un cromatograma de una mezcla del soluto de interés y dos o más alcanos patrón.

Es importante repetir que el índice de retención para un alcano normal es independiente de la temperatura y del relleno de la columna. Entonces, I para el heptano, por definición, siempre es 700. En cambio, los índices de retención de los demás solutos tienen la capacidad de variar y, con frecuencia, lo hacen de una columna a otra. Por ejemplo, el índice de retención del acenafteno en una fase estacionaria de polidimetilsiloxano enlazado químicamente, a 140°C es 1460. Con fenilpolidimetilsiloxano al 5% como fase estacionaria,

resulta ser 1500 a la misma temperatura y con polietilenglicol como fase estacionaria, el índice de retención es 2084.

La ventaja del sistema de índices de retención es que se basa en materiales de referencia fáciles de conseguir y que abarcan un amplio intervalo de puntos de ebullición. Además, los índices de retención dependen relativamente poco de la temperatura. En 1984, los Laboratorios de Investigación Sadtler introdujeron una biblioteca de datos con los índices de retención medidos en cuatro tipos de columnas abiertas de sílice fundida. El formato de la base de datos es tal que permite la búsqueda del índice de retención y la identificación con la ayuda de una computadora de escritorio.¹⁴ La medición de los índices de retención es la base del esquema de Rohrschneider-McReynolds para la clasificación de las fases estacionarias en cromatografía de gases (véase la sección 27C.4).

Si se aplican los datos de retención de dos o más columnas cromatográficas se mejoran las oportunidades de identificar de manera correcta un compuesto desconocido. Las columnas se pueden utilizar en experimentos separados o, a veces, conectadas en tándem. El uso de dos o más columnas en serie se llama *cromatografía multidimensional*.¹⁵ De manera similar, las respuestas de dos o más detectores para GC ayuda de manera notable en la identificación cualitativa.

La combinación de cromatografía de gases con varios detectores espectroscópicos, en particular la espectrometría de masas, mejora sin lugar a dudas la identificación de componentes. De hecho, la cromatografía de gases junto con la espectrometría de masas (GC-MS) es ahora la técnica principal para separar e identificar especies en mezclas.

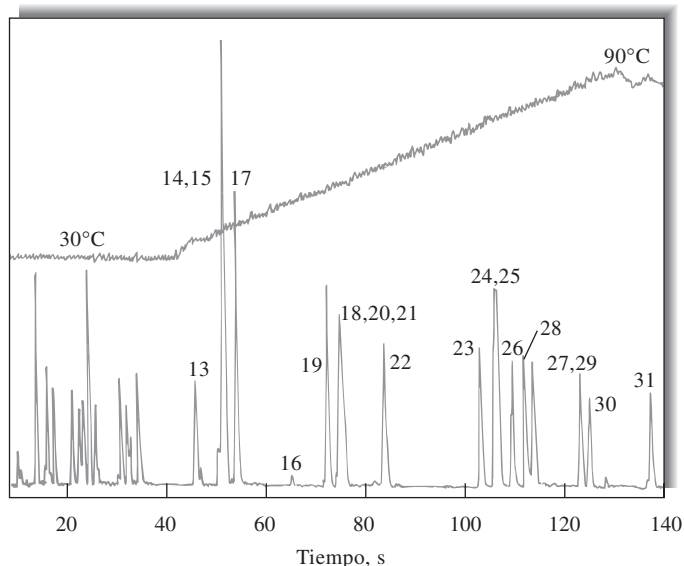
27D.2 Análisis cuantitativo

La altura del pico o el área bajo el pico de un producto de elución en una columna cromatográfica se utilizan ampliamente en los análisis cuantitativos o semicuantitativos. En condiciones muy bien controladas se puede alcanzar una exactitud (relativa) de 1% con el método del patrón externo o interno. Como con la mayoría de las técnicas analíticas, la confiabilidad se relaciona directamente con el control de las variables; la exactitud también depende en parte de la naturaleza de la muestra. El estudio general del análisis cromatográfico cuantitativo de la sección 26F.2 se aplica tanto a la cromatografía de gases como a los otros tipos; por esta razón no se hacen aquí más consideraciones sobre este aspecto.

¹⁴ *The Sadtler Standard Gas Chromatography Retention Index Library*, vols. 1 a 4, Filadelfia: Bio-Rad Laboratories, Sadtler Division, 1984-1985.

¹⁵ Un repaso de la cromatografía de gases bidimensional se encuentra en M. Adahchour, J. Beens, R. J. J. Vreuls, U. A. Th. Brinkman, *Trends Anal. Chem. (TRAC)*, **2006**, 25, p. 438; **2006**, 25, p. 540; **2006**, 25, p. 726.

FIGURA 27.19 Cromatograma de alta velocidad obtenido con una operación isotérmica (30°C) durante 37 s seguido por un incremento de temperatura de 35°C/min hasta 90°C. (Tomado de H. Smith y R. D. Sacks, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 4960. Copyright 1998 American Chemical Society.)



27E INNOVACIONES EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

A pesar de que la cromatografía de gases es ya una técnica madura, se han perfeccionado en los años recientes la teoría, los instrumentos, las columnas y las aplicaciones prácticas. Enseguida se estudian algunos de los adelantos en la cromatografía de gases de alta velocidad y los sistemas miniaturizados.

27E.1 Cromatografía de gases de alta velocidad

Los investigadores especializados en cromatografía de gases se enfocan a menudo en conseguir una resolución más alta para separar más y más mezclas complejas.¹⁶ En la mayoría de las separaciones, las condiciones se hacen variar para aislar el par de componentes más difícil de separar, denominado *par crítico*. En estas condiciones, muchos de los componentes de interés se separan en exceso. La idea básica de la cromatografía de gases de alta velocidad es que, para muchas de las separaciones de interés, la alta velocidad se puede lograr aunque sea a expensas de la selectividad y la resolución.

Los principios de las separaciones de alta velocidad se demuestran al sustituir la ecuación 26.5 en la ecuación 26.11

$$\frac{L}{t_R} = u \times \frac{1}{1 + k_n} \quad (27.8)$$

¹⁶Para mayor información véase R. D. Sacks, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 2004, cap. 5.

donde k_n es el factor de retención para el último componente de interés en el cromatograma. Si se reacomoda la ecuación 27.8 y se despeja el tiempo de retención del último componente de interés se obtiene

$$t_R = \frac{L}{u} \times (1 + k_n) \quad (27.9)$$

La ecuación 27.9 dice que es posible lograr separaciones más rápidas con columnas cortas, velocidades del gas portador superiores a las comunes y factores de retención pequeños. Por ejemplo, si se reduce la longitud de la columna L por un factor de 4 y se incrementa la velocidad del gas portador u por un factor de 5, el tiempo de análisis t_R disminuye por un factor de 20. El costo que se paga es un poder de resolución menor ocasionado por un mayor ensanchamiento de banda y una capacidad máxima reducida (la cantidad de picos que se ajustará en el cromatograma).

Los investigadores de este campo han diseñado instrumentos y condiciones cromatográficas para mejorar la velocidad de separación al costo mínimo en términos de resolución y capacidad máxima.¹⁷ Han diseñado sistemas para lograr columnas sintonizables y programación de temperatura de alta velocidad. Una columna sintonizable es una combinación en serie de una columna polar y una no polar. En la figura 27.19 se ilustra la separación de 12 compuestos antes de iniciar una rampa de temperatura programada y 19 compuestos después de que inició la programación de temperatura. El tiempo total requerido fue de 140 s. Estos investi-

¹⁷H. Smith y R. D. Sacks, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 4960.

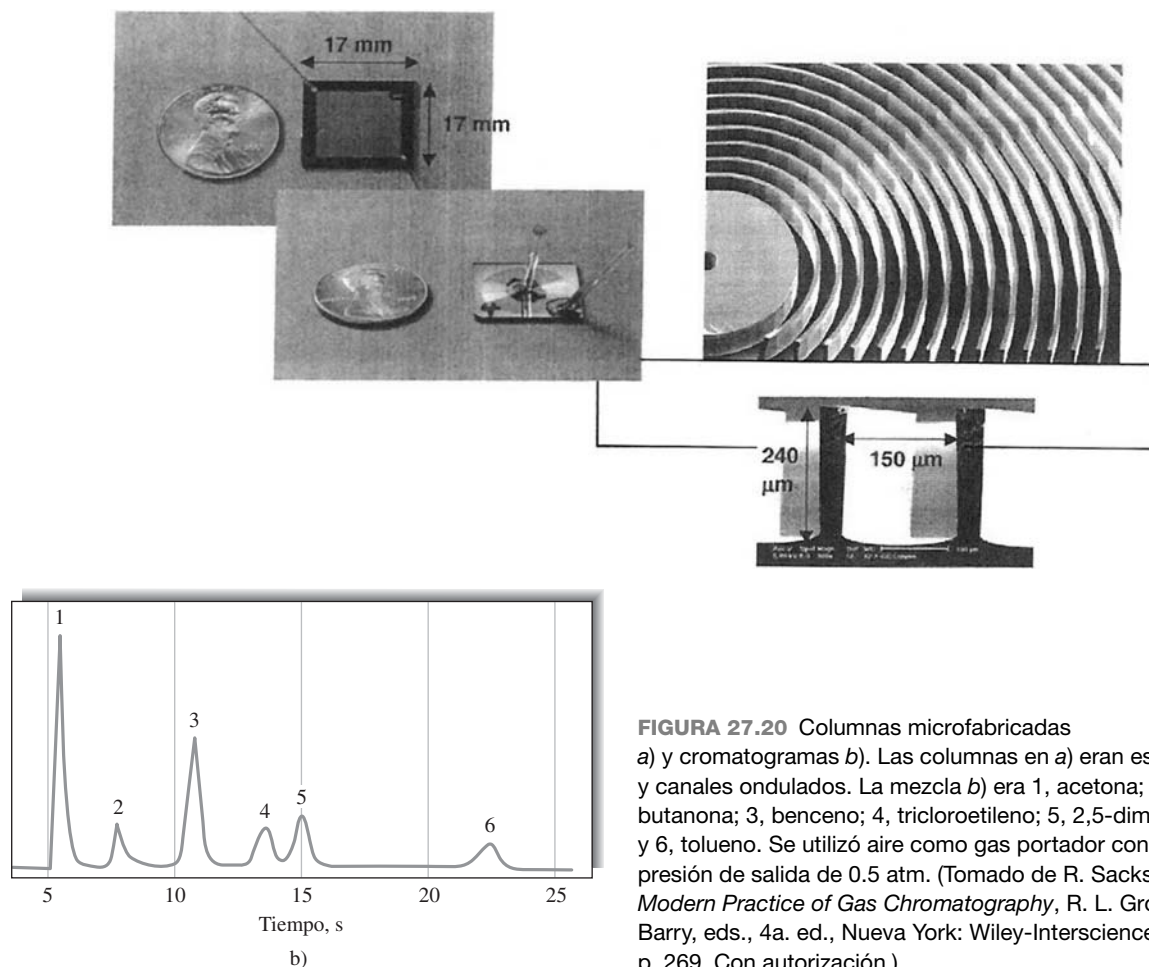


FIGURA 27.20 Columnas microfabricadas a) y cromatogramas b). Las columnas en a) eran espirales y canales ondulados. La mezcla b) era 1, acetona; 2, 2-butanona; 3, benceno; 4, tricloroetileno; 5, 2,5-dimetilfurano y 6, tolueno. Se utilizó aire como gas portador con una presión de salida de 0.5 atm. (Tomado de R. Sacks, en *Modern Practice of Gas Chromatography*, R. L. Grob y E. F. Barry, eds., 4a. ed., Nueva York: Wiley-Interscience, 2004, p. 269. Con autorización.)

gadores también han aplicado a la cromatografía de gases de alta velocidad la detección de espectrometría de masas sin olvidar la detección de tiempo de vuelo.¹⁸

27E.2 Sistemas de cromatografía de gases miniaturizados

Durante muchos años ha habido el deseo de reducir las dimensiones de los sistemas de cromatografía de gases y alcanzar la escala de un microcircuito. Los sistemas de cromatografía de gases en miniatura son útiles en la exploración del espacio, en los instrumentos portátiles para uso en el campo y para la supervisión del ambiente. Las primeras investigaciones dieron a conocer columnas para cromatografía de gases producidas con ácido sobre un microcircuito.¹⁹ Sin embargo, el rendimiento

cromatográfico relativamente deficiente de dichos dispositivos originó que se eliminara la columna del *chip* en los sistemas comerciales que se produjeron.

En años recientes las columnas microfabricadas se diseñaron con sustratos de silicio, varios metales y polímeros.²⁰ En el sustrato se marcan canales angostos, relativamente profundos, con la ayuda de ácido. Dichos canales tienen bajo volumen muerto para reducir el ensanchamiento de banda y un área superficial alta con el fin de aumentar el volumen de la fase estacionaria. En la figura 27.20 se ilustran microfotografías de columnas hechas mediante ataque de ácido sobre obleas de silicio y un cromatograma registrado mediante una columna de 0.9 m. Se utilizó un detector de fotoionización. Se ha descrito un sistema microfabricado completo de cromatografía de gases.²¹

¹⁸ C. Leonard y R. Sacks, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 5177.

¹⁹ S. C. Terry, J. H. Jerman y J. B. Angell, *IEEE Trans. Electron Devices*, **1979**, 26, p. 1880; J. B. Angell, S. C. Terry y P. W. Barth, *Sci. Am.*, **1983**, 248 (4), p. 44.

²⁰ G. Lambertus, A. Elstro, K. Sensenig, J. Potkay, M. Agah, S. Scheuering, K. Wise, F. Dorman y R. Sacks, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 2629.

²¹ Véanse notas 16 y 20.

27F CROMATOGRAFÍA GAS-SÓLIDO

Esta técnica se basa en la adsorción de sustancias gaseosas sobre superficies sólidas. Las constantes de distribución son por lo general mucho mayores que en el caso de la cromatografía gas-líquido. Por consiguiente, la cromatografía gas-sólido es útil para la separación de especies que no se retienen en columnas de gas-líquido, como los componentes del aire, sulfuro de hidrógeno, disulfuro de carbono, óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono y gases nobles.

La cromatografía gas-sólido se lleva a cabo tanto en columnas de relleno como en columnas tubulares abiertas. En estas últimas se fija una capa delgada del adsorbente en las paredes del capilar. A veces estas columnas reciben el nombre de *columnas tubulares abiertas de capa porosa* (TACP).

27F.1 Tamices moleculares

Los tamices moleculares son intercambiadores de iones de silicato de aluminio cuyo tamaño de poro depende del tipo de catión presente. Las preparaciones comerciales de estos materiales están disponibles en tamaños de partícula desde malla 40 a 60 hasta malla 100 a 120. Los tamices se clasifican de acuerdo con el diámetro máximo de las moléculas que pueden pasar por los poros. Los tamices moleculares comerciales poseen tamaños de poro de 4, 5, 10 y 13 Å. Las moléculas menores a las dimensiones anteriores entran en las partículas donde tiene lugar la adsorción. En el caso de estas moléculas, el área superficial disponible es enorme si se le compara con el área disponible para las moléculas más grandes. Por tanto, los tamices moleculares se

utilizan para separar las moléculas pequeñas de las grandes. Por ejemplo, un relleno de 5 Å y 183 cm de largo, a temperatura ambiente, separará con facilidad una mezcla de helio, oxígeno, nitrógeno, metano y monóxido de carbono en este orden.

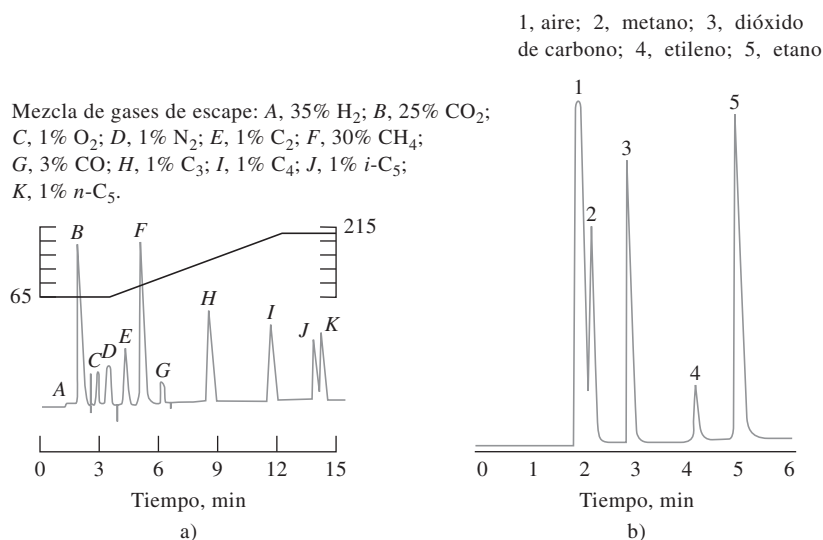
En la figura 27.21a se muestra un cromatograma característico obtenido con tamices moleculares. En este caso se utilizan dos columnas empacadas: una de gas-líquido ordinaria y otra de tamices moleculares. La primera retiene sólo el dióxido de carbono y deja pasar los gases restantes a una tasa que corresponde a la velocidad del portador. Cuando el dióxido de carbono se eluye de la primera columna, un conmutador desvía el flujo de la segunda columna por un periodo breve para evitar la adsorción permanente del dióxido de carbono en el tamiz molecular. Una vez que la señal del dióxido de carbono regresa a cero, el flujo se reconduce por la segunda columna y de este modo se produce la separación y elución del resto de los componentes de la muestra.

27F.2 Polímeros porosos

Las bolitas de polímeros porosos de tamaño uniforme se fabrican con estireno entrelazado o polimerizado con divinilbenceno (sección 28F.2). El tamaño de poro en estas bolitas es uniforme y se controla por el grado de entrelazamiento. Los polímeros porosos se utilizan en la separación de especies polares gaseosas como sulfuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno, agua, dióxido de carbono, metanol y cloruro de vinilo. En la figura 27.21b se muestra una aplicación característica de una columna tubular abierta revestida con un polímero poroso (columna TACP).

FIGURA 27.21 Separaciones típicas por cromatografía gas-sólido:

a) columna de tamiz molecular de 5 pies $\times$ 1/8 pulgadas; b) columna TACP de 30 m $\times$ 0.53 mm.
 C_n = hidrocarburo con n carbonos.



PREGUNTAS Y PROBLEMAS

* Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 27.1** ¿En qué se diferencian la cromatografía gas-líquido y la gas-sólido?
- 27.2** ¿Cómo funciona un medidor de flujo de pompas de jabón?
- 27.3** ¿Qué es la programación de temperatura en cromatografía de gases? ¿Por qué se usa con tanta frecuencia?
- 27.4** Defina *a*) volumen de retención, *b*) volumen de retención corregido, *c*) volumen de retención específico.
- 27.5** ¿Cuál es la diferencia entre un detector sensible a la concentración y un detector sensible a la masa? ¿Los siguientes detectores son sensibles a la masa o a la concentración? *a*) de conductividad térmica, *b*) de emisión atómica, *c*) termiónico, *d*) de captación de electrones, *e*) de fotometría por flama, *f*) de fotoionización.
- 27.6** Explique los principios de funcionamiento de los detectores que se encuentran en el problema 27.5.
- 27.7** ¿Cuáles son las principales ventajas y limitaciones de cada uno de los detectores que se mencionan en el problema 27.5?
- 27.8** ¿Cuál es la diferencia entre un cromatograma de iones totales y un cromatograma de masas?
- 27.9** Analice por qué la combinación de cromatografía de gases y espectrometría de masas es tan potente.
- 27.10** ¿Qué son los métodos *acoplados* de cromatografía de gases? Describa brevemente dos de ellos.
- 27.11** ¿Cuál es el material de relleno que se utiliza en la mayoría de las columnas empacadas para cromatografía de gases?
- 27.12** ¿En qué se diferencian las siguientes columnas tubulares abiertas?
a) Columnas PLOT; *b*) Columnas WCOT; *c*) Columnas SCOT
- 27.13** ¿Cuáles son las columnas megacapilares? ¿Para qué se utilizan?
- 27.14** ¿Cuáles son las ventajas de las columnas capilares de sílice fundida en comparación con las columnas de vidrio o las metálicas?
- 27.15** ¿Qué propiedades debe tener una fase estacionaria líquida en cromatografía de gases?
- 27.16** ¿Qué efecto tiene el espesor de la película de la fase estacionaria sobre los cromatogramas de gases?
- 27.17** ¿Por qué las fases estacionarias en cromatografía de gases están con frecuencia enlazadas o polimerizadas? ¿Qué significado tienen estos términos?
- 27.18** Enumere las variables que originan *a*) el ensanchamiento de la banda y *b*) la separación de la banda en cromatografía de gas-líquido.
- 27.19** ¿Qué son los índices de retención? Explique cómo se determinan.
- 27.20** El mismo compuesto polar se analiza por cromatografía de gases con una columna SE-30 (muy poco polar) y luego con una columna Carbowax 20M (muy polar). ¿Cómo variará $K = c_s/c_M$ entre las dos columnas?

- *27.21** Utilice los datos de retención que se dan a continuación para calcular el índice de retención del 1-hexeno.

Muestra	Tiempo de retención, min
Aire	0.571
<i>n</i> -pentano	2.16
<i>n</i> -hexano	4.23
1-hexeno	3.15



- *27.22** Se utilizó una columna GC en las siguientes condiciones de trabajo:

columna: 1.10 m $\times$ 2.0 mm rellena con Chromosorb P; peso de fase estacionaria líquida añadida, 1.40 g; densidad del líquido, 1.02 g/mL
 presiones: entrada, 26.1 psi por encima de la atmosférica; atmosférica, 748 torr
 tasa de flujo de salida medido: 25.3 mL/min
 temperatura: ambiente, 21.2°C; columna, 102.0°C
 tiempos de retención: aire, 18.0 s; acetato de metilo, 1.98 min; propionato de metilo, 4.16 min; *n*-butirato de metilo, 7.93 min
 anchura de picos de los ésteres en su base: 0.19; 0.39 y 0.79, respectivamente

Calcule

- tasa de flujo promedio en la columna.
- volúmenes de retención corregidos para el aire y para los tres ésteres.
- volúmenes de retención específicos para los tres componentes.
- constantes de distribución de cada uno de los ésteres.
- un volumen de retención corregido y tiempo de retención para el *n*-hexanoato de metilo.



- *27.23** Con los datos del problema 27.22, calcule

- factor de retención k para cada componente.
- factor de selectividad α para cada pareja de compuestos adyacentes.
- número promedio de platos teóricos y la altura de plato de la columna.
- resolución para cada par de compuestos adyacentes.

- 27.24** La fase estacionaria líquida de la columna descrita en el problema 27.23 era didecilftalato, un solvente de polaridad intermedia. Si en lugar de éste se hubiera utilizado un solvente no polar como aceite de silicona, ¿los tiempos de retención de los tres compuestos serían mayores o menores? ¿Por qué?



- 27.25** Un método de determinación cuantitativa de la concentración de constituyentes en una muestra analizada mediante cromatografía de gases es el de normalización de área. En este método se requiere la elución completa de todos los constituyentes de la muestra. El área de cada pico se mide después y se correlaciona con las diferencias en la respuesta del detector para los diferentes eluidos. Esta corrección requiere la división del área mediante un factor de corrección determinado de manera empírica. La concentración del analito se determina a partir del cociente de su área corregida respecto al área total corregida de todos los picos. En el caso de un cromatograma que contiene tres picos, las áreas relativas determinadas fueron 16.4, 45.2 y 30.2 en el orden en que se incrementa el tiempo de retención. Calcule el porcentaje de cada compuesto si las respuestas relativas del detector son 0.60, 0.78 y 0.88, respectivamente.



- 27.26** Determine la concentración de especies en una muestra a partir de las áreas de los picos y las respuestas relativas del detector para los cinco picos de cromatografía de gases de la tabla siguiente. Aplique el método de la normalización

del área que se explica en el problema 27.5. Se indican también las respuestas relativas del detector. Calcule el porcentaje de cada componente en la mezcla.

Compuesto	Área relativa del pico	Respuesta relativa del detector
A	32.5	0.70
B	20.7	0.72
C	60.1	0.75
D	30.2	0.73
E	18.3	0.78

27.27 ¿Cuál sería el efecto de los siguientes casos sobre la altura de plato de una columna? Explique su respuesta.

- Aumentar el peso de la fase estacionaria respecto al peso del relleno.
- Disminuir la velocidad de inyección de la muestra.
- Aumentar la temperatura de la portezuela de inyección.
- Incrementar la tasa de flujo.
- Reducir el tamaño de la partícula del relleno.
- Disminuir la temperatura de la columna.

27.28 ¿Qué tipo de mezclas se separan por cromatografía gas-sólido?

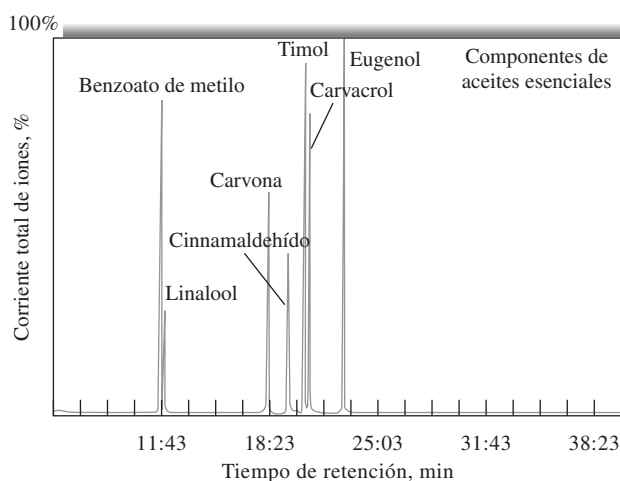
27.29 ¿Por qué la cromatografía gas-sólido no se utiliza tanto como la cromatografía gas-líquido?



Problema de reto

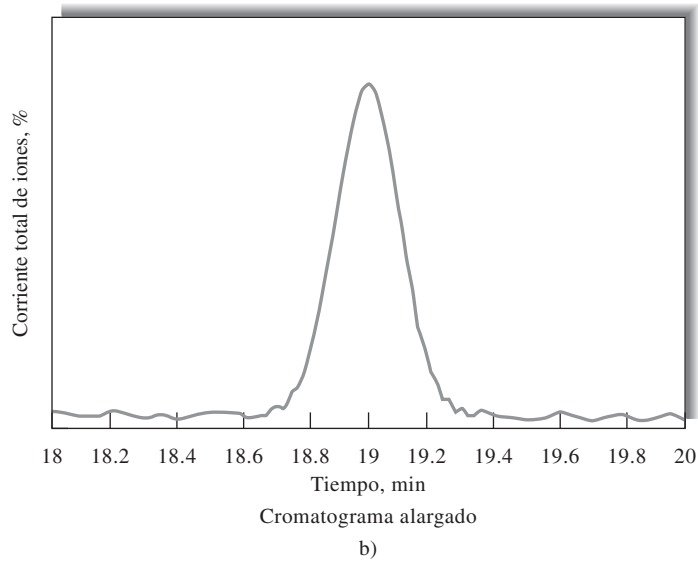
27.30 El cinnamaldehído es el componente al que se debe el sabor de la canela.

Además, es un poderoso antimicrobiano presente en los aceites esenciales (véase M. Friedman, N. Kozukue y L. A. Harden, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, p. 5702). La respuesta de acuerdo con la cromatografía de gases de una mezcla artificial que contiene seis componentes de aceites esenciales y benzoato de metilo como patrón interno se muestra en la parte a) de la figura.



a)

- En la parte b) de la figura se ilustra un alargamiento idealizado de la región cercana al pico del cinnamalaldehído. Determine el tiempo de retención del cinnamalaldehído.



- b) A partir de la parte *b*) de la figura, determine la cantidad de platos teóricos de la columna.
- c) La columna de sílice fundida era de 0.25 mm × 30 cm con una película de 0.25 μm. Determine la altura equivalente a un plato teórico con los datos de los incisos *a*) y *b*).
- d) Se obtuvieron datos cuantitativos con benzoato de metilo como patrón interno. Los resultados que se proporcionan enseguida se obtuvieron a partir de curvas de calibración de cinnamaldehído, eugenol y timol. Los valores abajo de cada componente representan el área del pico del componente dividido entre el área del pico del patrón interno.

Concentración, mg de muestra/ 200 μL	Cinnamaldehído	Eugenol	Timol
0.50	—	0.4	—
0.65	—	—	1.8
0.75	1.0	0.8	—
1.10	—	1.2	—
1.25	2.0	—	—
1.30	—	—	3.0
1.50	—	1.5	—
1.90	3.1	2.0	4.6
2.50	4.0	—	5.8

Determine las ecuaciones de la curva de calibración para cada uno de los componentes. Incluya los valores R^2 .

- e) A partir de los datos del inciso *d*) calcule cuál de los componentes tiene la curva de calibración con sensibilidad más alta. ¿Cuál tiene la más baja?
- f) Una muestra que contiene los tres aceites esenciales del inciso *d*) dio las áreas de los picos respecto al área del patrón interno: cinnamaldehído, 2.6; eugenol, 0.9; timol, 3.8. Determine las concentraciones de cada uno de los aceites en la muestra y las desviaciones estándar en la concentración.

- g) Se realizó un estudio sobre la descomposición del cinnamaldehído en aceite de canela. El aceite se calentó varias veces a diferentes temperaturas y se obtuvo la siguiente información:

Temp, °C	Tiempo, min	Cinnamaldehído, %
25, inicial		90.9
40	20	87.7
—	40	88.2
—	60	87.9
60	20	72.2
—	40	63.1
—	60	69.1
100	20	66.1
—	40	57.6
—	60	63.1
140	20	64.4
—	40	53.7
—	60	57.1
180	20	62.3
—	40	63.1
—	60	52.2
200	20	63.1
—	40	64.5
—	60	63.3
210	20	74.9
—	40	73.4
—	60	77.4

- Determine si la temperatura afecta estadísticamente la descomposición del cinnamaldehído mediante el análisis de la varianza (ANOVA es su acrónimo en inglés). (Para saber cómo trabajar el ANOVA, véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, cap. 3, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.) De la misma manera determine si el tiempo de calentamiento tiene algún efecto.
- h) Con los datos del inciso g), suponga que la descomposición inicia a 60°C y pruebe la hipótesis de que no hay un efecto de la temperatura o el tiempo.

Cromatografía de líquidos

En varios tipos básicos de cromatografía la fase móvil es un líquido. A menudo, estos tipos se clasifican de acuerdo con el mecanismo de separación o el tipo de fase estacionaria. Entre estos tipos están 1) cromatografía de reparto; 2) cromatografía de adsorción o cromatografía líquido-sólido; 3) cromatografía de intercambio de iones o cromatografía iónica; 4) cromatografía de exclusión por tamaño; 5) cromatografía por afinidad y 6) cromatografía quiral. La mayor parte de este capítulo trata sobre las aplicaciones de estos importantes tipos de cromatografía en columna. La última sección presenta una breve descripción de la cromatografía de líquidos en plano, dado que esta técnica representa una forma simple y barata de determinar condiciones óptimas más probables para efectuar separaciones en columna.

En el inicio de la cromatografía de líquidos (LC), ésta se llevaba a cabo en columnas de vidrio con diámetros de 10 a 50 mm. Las longitudes rellenas de la columna eran de 50 a 500 cm de partículas sólidas cubiertas con un líquido adsorbido que formaba la fase estacionaria. Para asegurar tasas de flujo razonables a través de este tipo de fase estacionaria, las dimensiones de las partículas sólidas se mantenían en más de 150 a 200 μm . Incluso así, las tasas de flujo eran bajas, de un máximo de unas pocas décimas de mililitro por minuto. Por consiguiente, los tiempos de separación eran largos, a menudo de varias horas. Los intentos para acelerar el procedimiento clásico mediante la aplicación de vacío o por bombeo no resultaron efectivos, puesto que el aumento en la tasa de flujo originaba un aumento de la altura de plato por encima del mínimo característico que se observa en las gráficas de altura de plato contra tasa de flujo (véase figura 26.8a) y el resultado era una menor eficiencia.

En las primeras etapas de desarrollo de la cromatografía de líquidos, los científicos se dieron cuenta de que podían conseguir aumentar en forma notable la eficiencia de la columna al disminuir el tamaño de las partículas del empaque. Sin embargo, fue apenas a finales de los años sesenta cuando se perfeccionó la técnica adecuada para producir y utilizar empaques de tamaño de partícula tan pequeños como del orden de 3 a 10 μm . Esta técnica requería instrumentos complejos para poder trabajar a altas presiones, lo que contrasta de manera notable con las sencillas columnas de vidrio de la cromatografía de líquidos clásica cuyo flujo se debía a la gravedad. Para diferenciar estos procedimientos más nuevos de los métodos originales de flujo por gravedad se empleó en un principio la denominación de *cromatografía de líquidos de alta resolución* (HPLC, por sus siglas en inglés). En la actualidad, toda la cromatografía de líquidos se efectúa con flujo presurizado y se utilizan las siglas LC o HPLC sin distinción.¹

28A CAMPO DE APLICACIÓN DE LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

La cromatografía de líquidos es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones de su popularidad son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla, su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, pero sobre todo, su amplia aplicabilidad a sustancias que son impor-

¹ Consulte las siguientes obras si desea un análisis detallado sobre la cromatografía de líquidos de alta resolución L. R. Snyder y J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1979; R. P. W. Scott, *Liquid Chromatography for the Analyst*, Nueva York: Dekker, 1995; S. Lindsay, *High Performance Liquid Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1992.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

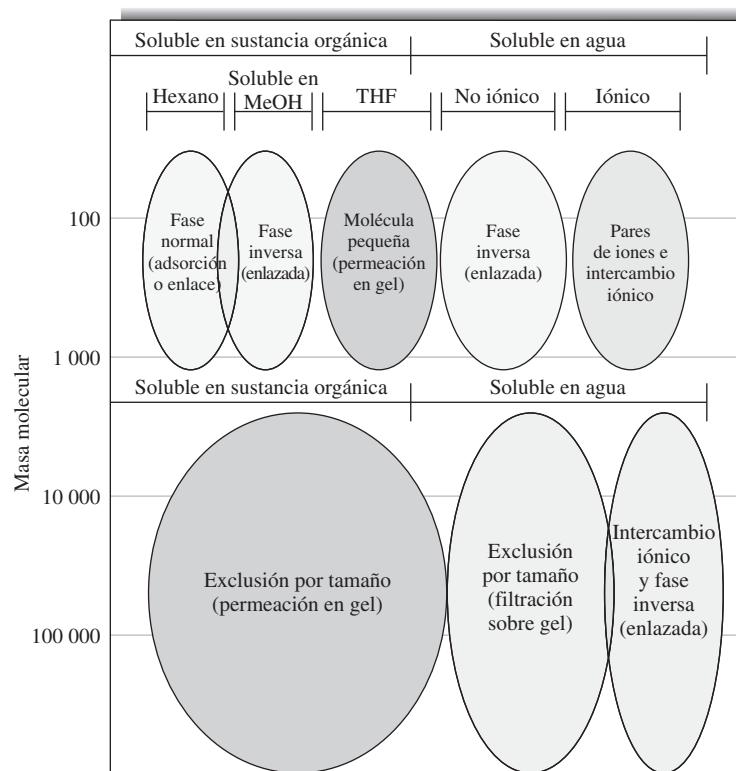


FIGURA 28.1 Selección de tipos de cromatografía de líquidos. Los métodos se escogen con base en la solubilidad y la masa molecular. En la mayoría de los casos de moléculas pequeñas no iónicas ($M < 2000$), son apropiados los métodos de fase inversa. Las técnicas que están en la parte inferior del diagrama son mejores para las especies de alta masa molecular ($M > 2000$). (Adaptación de *High Performance Liquid Chromatography*, 2a. ed., S. Lindsay y J. Barnes, eds., Nueva York: Wiley, 1992. Con autorización.)

tantes en la industria, muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales son aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una variedad de sustancias inorgánicas.

En la figura 28.1 se pone de manifiesto que los distintos procedimientos que utilizan la cromatografía de líquidos tienden a ser complementarios en lo que se refiere a sus campos de aplicación. Por consiguiente, en lo que toca a solutos con masas moleculares superiores a 10 000 se utiliza a menudo la cromatografía de exclusión por tamaño, aunque ahora también es posible tratar estos compuestos mediante cromatografía de fase inversa. En el caso de especies iónicas de masa molecular más pequeña, se suele utilizar la cromatografía de intercambio iónico. Los métodos de fase inversa se aplican a las especies poco polares pero no iónicas. Además, estos procedimientos se utilizan muchas veces para separar los integrantes de una serie homóloga. La cromatografía de adsorción se usó en algún momento para separar especies no polares, isómeros estructurales y grupos de compuestos, como los hidrocarburos alifáticos de los alcoholes alifáticos. Debido a problemas con la reproductibilidad de la retención y a la adsorción irreversible, la cromatografía de adsorción con fases estacionarias sólidas ha sido reemplazada por la cromatografía de fase normal (fase enlazada). Entre

las formas especializadas de LC, la cromatografía por afinidad se utiliza mucho para aislar y preparar biomoléculas, y la cromatografía quiral se emplea para separar enantiómeros.

28B EFICIENCIA DE LA COLUMNA EN LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

El análisis del ensanchamiento de banda de la sección 26C.3 se aplica en general a la cromatografía de líquidos. En esta sección se ilustra el importante efecto del tamaño de las partículas del relleno que forma la fase estacionaria y se describen otras dos causas de la dispersión de zona, que a veces son de importancia notable en la cromatografía de líquidos.

28B.1 Efectos del tamaño de las partículas del relleno

Un examen del coeficiente de transferencia de masa de la fase móvil (véase tabla 26.3) revela que C_M en la ecuación 26.23 está relacionada directamente con el cuadrado del diámetro d_p de las partículas que constituyen el relleno. Como consecuencia de ello, la efectividad de una columna de LC debería mejorar de manera espectacular a medida que disminuye el tamaño de partícula. La figura 28.2 es una demostración experimental de este efecto y en ella se observa que una reducción del tamaño de partícula de 45 a 6 μm origina una disminución de 10 o más veces en la altura de

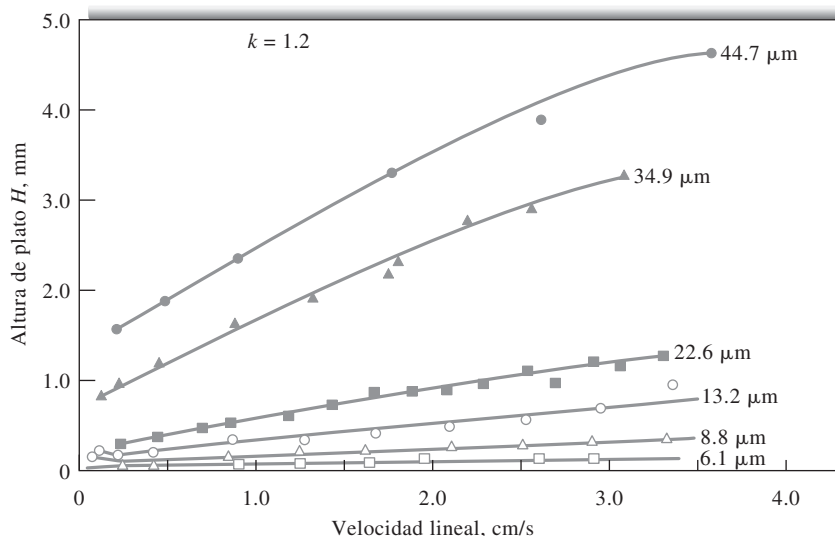


FIGURA 28.2 Efecto del tamaño de las partículas del relleno y de la tasa de flujo sobre la altura de plato H en cromatografía de líquidos. Dimensiones de la columna: 30 cm $\times$ 2.4 mm. Soluta: N,N' -dietil- p -aminoazobenceno. Fase móvil: mezcla de hexano, cloruro de metileno y alcohol isopropílico. (Según R. E. Majors, *J. Chromatogr. Sci.*, **1973**, 11, p. 88. Con autorización.)

plato. Observe que ninguna de las gráficas de esta figura presenta el mínimo que predice la ecuación 26.23. De hecho, dichos mínimos se observan en la cromatografía de líquidos (véase figura 26.8a) a tasas de flujo que son demasiado bajas para la mayoría de las aplicaciones prácticas.

28B.2 Ensanchamiento de banda extracolumna en cromatografía de líquidos

En la cromatografía de líquidos a veces tiene lugar un ensanchamiento de banda significativo fuera del relleno de la columna propiamente dicho. Este *ensanchamiento de banda extracolumna* se presenta cuando el soluto se transporta a través de tubos abiertos como los que se utilizan en los sistemas de inyección, en la región de los detectores y en los tubos que conectan los distintos componentes del sistema. El ensanchamiento proviene de diferencias en las tasas de flujo de las capas de líquido adyacentes a las paredes del tubo y de las capas del centro. Como consecuencia, la parte central de una banda de soluto se mueve con más rapidez que la periférica. En cromatografía de gases la difusión compensa con creces la dispersión extracolumna. Sin embargo, en los líquidos la difusión es significativamente menor y, con frecuencia, este tipo de ensanchamiento de banda es evidente.

Se ha demostrado que la contribución de los efectos extracolumna a la altura total de plato H_{ex} está dada por²

$$H_{\text{ex}} = \frac{\pi r^2 u}{24 D_M} \quad (28.1)$$

donde u es la velocidad del flujo lineal en (cm/s), r es el radio del tubo en cm y D_M es el coeficiente de difusión del soluto en la fase móvil en (cm²/s).

Cuando se utilizan columnas de diámetro pequeño, el ensanchamiento extracolumna puede ser muy importante. En este caso, el radio de los tubos del sistema externo a la columna se debe reducir a valores inferiores a 0.010 pulgada o menos y la longitud del tubo fuera de la columna se hace tan pequeña como sea posible para reducir al mínimo esta causa de ensanchamiento.

28C INSTRUMENTOS PARA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Con el objetivo de alcanzar flujos razonables con rellenos de tamaño de partícula de entre 3 y 10 μm , que por otra parte son comunes en la cromatografía de líquidos moderna, se requieren presiones de bombeo de varios cientos de atmósferas. Debido a estas presiones elevadas, el equipo necesario para la cromatografía de líquidos de alta resolución tiende a ser más complejo y caro que el que se utiliza en otros tipos de cromatografía. En la figura 28.3 se muestra un esquema de los componentes fundamentales de un cromatógrafo de líquidos característico.

28C.1 Recipientes para la fase móvil y sistemas para el tratamiento del solvente

Un aparato moderno para cromatografía de líquidos está equipado con uno o más recipientes de vidrio, cada uno de los cuales contiene 500 mL o más de un solvente. A menudo están equipados con un sistema para eliminar los gases disueltos y el polvo de los líquidos. Los gases disueltos ocasionan flujos inestables

²R. P. W. Scott y P. Kucera, *J. Chromatogr. Sci.*, **1971**, 9, p. 641.

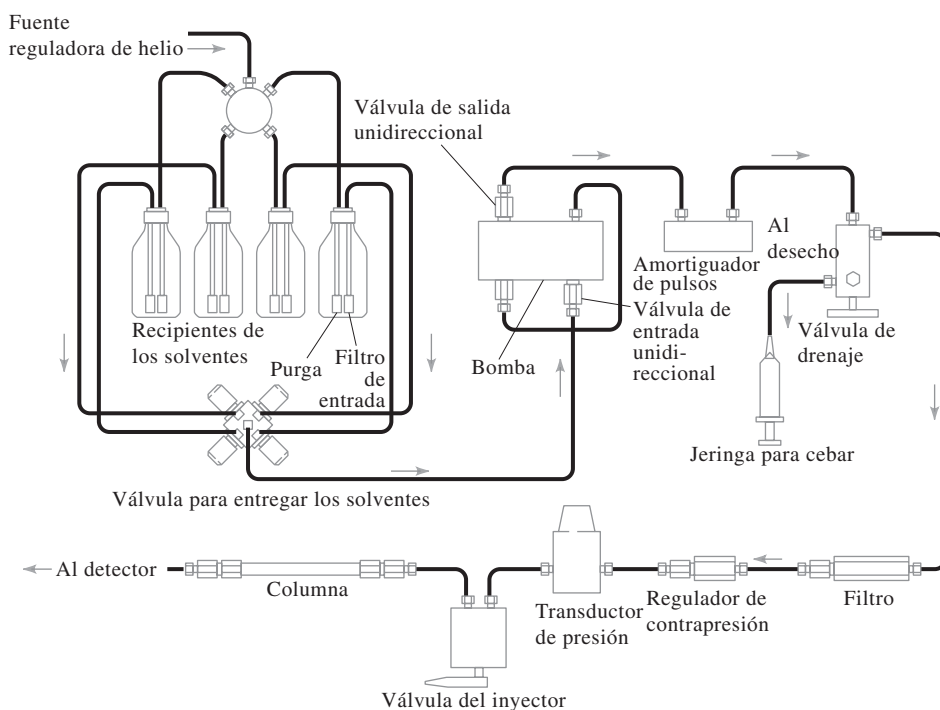


FIGURA 28.3 Diagrama de bloques que muestra los componentes de un aparato característico de CLAR. (Cortesía de Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT).

y ensanchamiento de bandas; además, las burbujas y el polvo interfieren con el funcionamiento de la mayoría de los detectores. Los degasificadores pueden consistir en un sistema de bombeo por vacío, un sistema de destilación, un dispositivo para calentar y agitar los solventes o bien, como se muestra en la figura 28.3, sistemas de *purga* que permiten arrastrar los gases disueltos fuera de la solución mediante finas burbujas de un gas inerte insoluble en la fase móvil. Con frecuencia, los sistemas también contienen un dispositivo para filtrar los solventes y eliminar el polvo y las partículas sólidas que estén en suspensión para evitar que dañen la bomba o los sistemas de inyección u obturen la columna. No es necesario que los degasificadores y los filtros sean partes integrantes de los sistemas de HPLC como se muestra en la figura 28.3. Por ejemplo, una forma conveniente de tratar los solventes antes de introducirlos en el recipiente, consiste en hacerlos pasar al vacío a través de un filtro millipore. Este tratamiento elimina los gases y la materia en suspensión.

Una elución que utiliza un solo solvente o una mezcla de solventes de composición constante se denomina *elución isocrática*. En la *elución con gradiente* se usan dos sistemas de solventes y algunas veces más, que difieren de manera notable en cuanto a polaridad y varían en composición durante la separación. La relación entre los dos solventes se hace variar de manera programada, algunas veces en forma continua y otras en

una serie de etapas. Los instrumentos modernos para la cromatografía de líquidos de alta resolución están equipados a menudo con válvulas de alimentación que introducen los solventes desde dos o más recipientes a una velocidad que varía en forma continua (figura 28.3). La relación de volumen de los solventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo.

En la figura 28.4 se ilustra la ventaja de una elución con gradiente en la separación de una mezcla de clorobencenos. La elución isocrática con una mezcla metanol-agua 50:50 (v/v) origina la curva de la figura 28.4b. La figura 28.4a muestra la elución con gradiente, que se inicia con una mezcla 40:60 de los dos solventes y aumenta luego la concentración de metanol a una razón de 8%/min. Observe que la elución con gradiente acorta de manera notable el tiempo de separación sin sacrificar la resolución de los primeros picos. Note también que la elución con gradiente produce efectos similares a los producidos por la programación de temperatura en cromatografía de gases (véase figura 27.7).

28C.2 Sistemas de bombeo

Entre los requisitos para las bombas en cromatografía de líquidos está 1) la generación de presiones de hasta 6000 psi (lb/in.²) o 414 bares, 2) salida libre de pulsos, 3) tasas de flujo de 0.1 a 10 mL/min, 4) reproducibilidad del flujo de 0.5% relativo o mejor y 5) componentes re-



Simulación: aprenda más acerca de la **cromatografía de líquidos**.

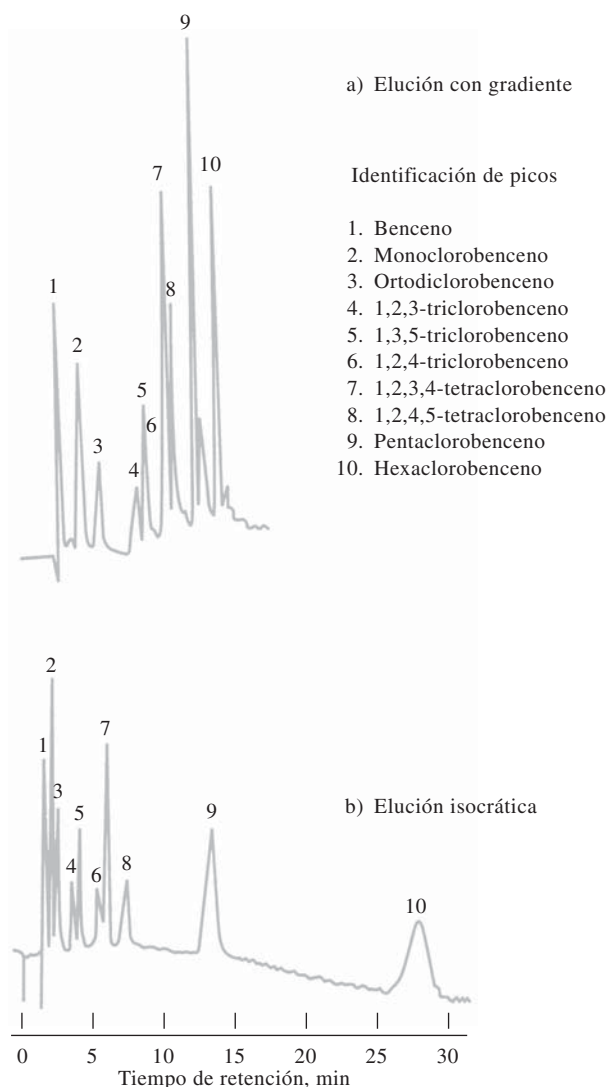


FIGURA 28.4 Mejora de la eficacia de la separación mediante la elución con gradiente. Columna: 1 m $\times$ 2.1 mm de diámetro interior, de acero inoxidable con calibre de precisión; relleno: 1% Permaphase[®] ODS (C₁₈). Muestra: 5 μ L de bencenos clorados en isopropanol. Detector: fotómetro UV (254 nm). Condiciones: temperatura, 60°C, presión, 1200 psi. (Tomado de J. J. Kirkland, *Modern Practice of Liquid Chromatography*, p. 88, Nueva York: Interscience, 1971. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

sistentes a la corrosión a causa de la diversidad de solventes. Debe subrayarse que las presiones elevadas que generan las bombas de cromatografía de líquidos no constituyen un riesgo de explosión, porque los líquidos no son muy compresibles. Por tanto, la rotura de un componente del sistema sólo supone una pérdida de solvente. Lo que sí es evidente es que ésta puede representar un riesgo de incendio o de contaminación del ambiente.

En cromatografía de líquidos se utilizan dos tipos de bombas, a saber, la del tipo jeringa accionada por tornillo y la del tipo recíprocante. Este último tipo de bombas se usa en casi todos los cromatógrafos comerciales modernos.

Bombas recíprocantes

Por lo regular, este tipo de bombas consiste en una pequeña cámara en la que el solvente es impulsado por el movimiento de vaivén de un pistón accionado mediante un motor (véase figura 28.5). Dos válvulas de globo unidireccionales, que se abren y cierran de manera alternada, controlan el flujo del solvente hacia dentro y hacia afuera de un cilindro. El solvente está en contacto directo con el pistón. También se puede comunicar la presión al solvente mediante un diafragma flexible, el cual a su vez es bombeado hidráulicamente por un émbolo de vaivén. Las bombas recíprocantes tienen la desventaja de producir un flujo pulsado que se tiene que amortiguar porque los pulsos se manifiestan como ruido en la línea base del cromatograma. Los instrumentos modernos de LC están equipados con cabezas dobles para las bombas o levas elípticas para reducir al mínimo dichos pulsos. Entre las ventajas de las bombas recíprocantes se pueden citar su pequeño volumen interno (35 a 400 μ L), sus altas presiones de salida (hasta 10 000 psi), su fácil adaptación a la elución con gradiente, su gran capacidad de solvente y sus flujos constantes, que son prácticamente independientes de la contrapresión de la columna y de la viscosidad del solvente.

Bombas de desplazamiento

Por lo general, las bombas de desplazamiento consisten en unas grandes cámaras similares a las de una jeringa, equipadas con un émbolo que se activa por medio de un mecanismo de tornillo accionado mediante un motor de etapas. Estas bombas también producen un flujo que tiende a ser independiente de la viscosidad y de la

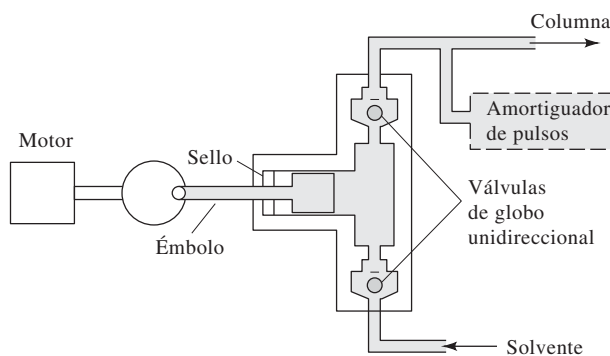


FIGURA 28.5 Bomba recíprocante para cromatografía de líquidos de alta resolución.

contrapresión. Además, el flujo que resulta está libre de pulsos. Entre las desventajas están una capacidad de solvente limitada (~ 250 mL) y muchas dificultades cuando éste se tiene que cambiar.

Control de flujo y sistemas de programación

Como una parte de sus sistemas de bombeo, muchos instrumentos comerciales están equipados con dispositivos controlados por computadora que permiten medir la tasa de flujo mediante la determinación de la caída de presión a través de un constrictor colocado en la salida de la bomba. Cualquier diferencia entre la señal y un valor preestablecido se utiliza para aumentar o disminuir la velocidad del motor de la bomba. Asimismo, la mayor parte de los instrumentos puede variar la composición del solvente sea de manera continua o en forma escalonada. Por ejemplo, el instrumento que se ilustra en la figura 28.3 contiene una válvula de alimentación que permite mezclar hasta cuatro solventes en una forma previamente programada y que varíe continuamente.

28C.3 Sistemas de inyección de muestra

A menudo, el factor limitante en la precisión de las mediciones en cromatografía de líquidos es la reproducibilidad con que se pueden introducir las muestras en el relleno de la columna. El problema se acentúa por el ensanchamiento de banda que acompaña al tapón o sobrecarga de inyección. Por consiguiente, los volúmenes de muestra que se emplean tienen que ser muy pequeños, de unas pocas décimas de microlitro hasta quizá unos 500 μL . Además, lo apropiado es introducir la muestra sin despresurizar el sistema.

El medio que más se usa para la introducción de las muestras en la cromatografía de líquidos se basa en los rizos de muestreo, como el que se ilustra en las figuras 28.6 y 27.5. Con frecuencia, estos dispositivos forman parte del equipo cromatográfico y hay rizos intercambiables que permiten la elección de tamaños de muestra desde 1 hasta 100 μL o más. Con rizos de este tipo se puede introducir la muestra a presiones de hasta 7000 psi con una desviación estándar relativa de unas décimas porcentuales.

La mayor parte de los cromatógrafos actuales se venden con autoinyectores. Dichas unidades tienen la capacidad de inyectar muestras en el cromatógrafo de líquidos a partir de frascos que están en un carrusel o desde placas microtituladoras. Por lo regular, contienen rizos de muestreo y una bomba de jeringa para inyectar volúmenes desde menos de 1 μL hasta más de 1 mL. Algunos poseen medios controlados por temperatura que facilitan el almacenamiento de la muestra y efectúan reacciones de derivación antes inyectarla. La mayor

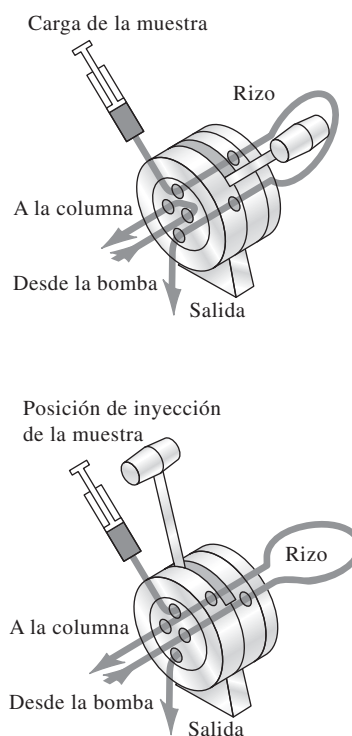


FIGURA 28.6 Rizo de muestreo para cromatografía de líquidos. Con la válvula en la posición que se muestra a la izquierda, la jeringa llena el rizo y la fase móvil pasa de la bomba a la columna. Cuando la válvula se coloca en la posición que se muestra a la derecha, el rizo queda insertado entre la bomba y la columna, de tal modo que la fase móvil arrastra la muestra hacia la columna. (Cortesía de Beckman-Coulter, Inc.)

parte de los equipos se puede programar para facilitar las inyecciones automáticas en el sistema de cromatografía de líquidos.

28C.4 Columnas para cromatografía de líquidos de alta resolución

Las columnas³ para esta técnica se construyen de ordinario con tubo de acero inoxidable de diámetro interno uniforme. Algunas ocasiones las columnas para cromatografía de líquidos de alta resolución se fabrican con tubos de vidrio de paredes resistentes o con polímeros como el polieterecetonato. Además, también hay columnas de acero inoxidable cuyo interior está revestido con vidrio o polieterecetonato. Están disponibles cientos de columnas de diversos precios y rellenos; el costo de las que no son para un uso especial y cuyas dimensiones son estándares varía entre 200 y más de 500 dólares. Las columnas para un uso especial, como las quirales, pueden llegar a costar más de 1000 dólares.

³Para mayor información consulte U. D. Neue, *HPLC Columns: Theory, Technology, and Practice*, Nueva York: Wiley-VCH, 1997.

Columnas analíticas

La mayoría de las columnas para cromatografía de líquidos miden de 5 a 25 cm de largo. Invariablemente se usan columnas rectas. A veces se pueden alargar acoplando dos o más de ellas. El diámetro interior de las columnas analíticas es a menudo de 3 a 5 mm; los tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son 3 o 5 μm . Las columnas que más se utilizan miden de 10 a 15 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interior y están rellenas con partículas de 5 μm . Este tipo de columnas generan de 40 000 a 70 000 platos/metro (por lo regular, alrededor de 10 000 platos/columna).

En los años ochenta se fabricaron microcolumnas cuyos diámetros interiores oscilaban entre 1 y 4.6 mm y sus longitudes iban de 3 a 7.5 cm. Estas columnas, que se rellenan con partículas de tamaño de 3 a 5 μm alcanzan hasta 100 000 platos/metro y presentan la ventaja de la rapidez y del mínimo consumo de solvente. La última propiedad es de considerable importancia, puesto que los solventes de alta pureza que se requieren en cromatografía de líquidos son muy caros y se desechan después del uso. En la figura 28.7 se ilustra la rapidez con la que se puede realizar una separación con una columna de microdiámetro. En este ejemplo se separan ocho componentes distintos en unos 15 s. La columna mide 4 cm de largo y su diámetro interior es de 4 mm; está rellena con partículas de 3 μm .

Precolumnas

Por lo regular, para aumentar la vida de la columna analítica, se coloca una *precolumna* que elimina no sólo la materia en suspensión y los contaminantes de los solventes, sino también los componentes de la muestra que se unen de manera irreversible a la fase estacionaria. La composición del relleno de la precolumna debería ser semejante al de la columna analítica, pero el tamaño de partícula es mayor para minimizar la caída de presión. Cuando la precolumna ya se contaminó, se vacía y se rellena de nuevo o se reemplaza por una nueva del mismo tipo. Por tanto, se le sacrifica para proteger a la columna analítica que es más cara.

Control de la temperatura de la columna

En muchas aplicaciones no se necesita un control riguroso de la temperatura, por esa razón las columnas trabajan a temperatura ambiente. Sin embargo, muchas veces se obtienen mejores cromatogramas, más reproducibles, cuando la temperatura de la columna se mantiene constante. La mayoría de los instrumentos comerciales modernos están equipados con calentadores que controlan la temperatura de la columna con décimas de grado, desde la ambiental hasta 150°C. Para poder controlar con precisión la temperatura, las columnas también se pueden colocar en camisas con agua que provenga de un baño a temperatura constante.

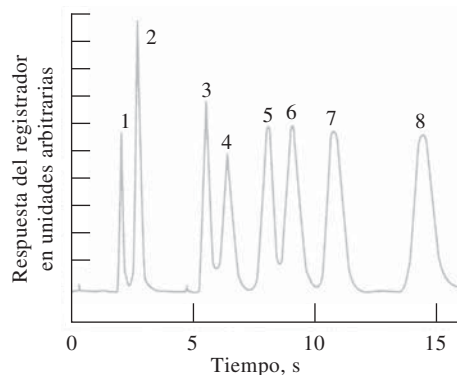


FIGURA 28.7 Separación isocrática de alta velocidad. Dimensiones de la columna: 4 cm de longitud; 0.4 cm de diámetro interno; relleno: spherisorb de 3 μm fase móvil: 4.1% de acetato de etilo en *n*-hexano. Compuestos: 1) *p*-xileno, 2) anisol, 3) acetato de bencilo, 4) ftalato de dioctilo, 5) ftalato de dipentilo, 6) ftalato de dibutilo, 7) ftalato de dipropilo, 8) ftalato de dietilo. (Tomado de R. P. W. Scott, *Small Bore Liquid Chromatography Columns: Their Properties and Uses*, Nueva York: Wiley, 1984, p. 156. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

Muchos operadores de cromatógrafos consideran que el control de la temperatura es esencial para lograr separaciones reproducibles.

28C.5 Tipos de rellenos de la columna

En cromatografía de líquidos se utilizan dos tipos básicos de rellenos, *pelicular* y de *partícula porosa*. Las partículas peliculares originales eran cuentas esféricas de vidrio o de polímero no porosas cuyos diámetros característicos eran de 30 a 40 μm . En la superficie de éstas se depositaba una fina capa porosa de sílice, de alúmina o de una resina sintética de poliestireno-divinilbenceno, o bien, una resina de intercambio iónico. Las micropartículas porosas reemplazaron por completo a las partículas peliculares. En los años recientes se han reintroducido rellenos peliculares de ($\sim 5 \mu\text{m}$) para separar proteínas y biomoléculas grandes.

Los rellenos de partículas porosas característicos para cromatografía de líquidos están formados por micropartículas porosas cuyos diámetros varían entre 3 y 10 μm ; para un tamaño de partícula dado es deseable tener una distribución muy estrecha de dimensiones de partícula. Las partículas son de sílice, alúmina, de una resina sintética de poliestireno-divinilbenceno o resinas de intercambio iónico. La sílice es el material de relleno más común en cromatografía de líquidos; las partículas se preparan aglutinando partículas de sílice de dimensiones inferiores al micrómetro en condiciones tales que se forman partículas mayores con diámetros muy uniformes. Las partículas que resultan se recubren muchas veces con películas orgánicas que se unen química o físicamente a la superficie. El relleno

TABLA 28.1 Características de los detectores en cromatografía de líquidos de alta resolución.

Detector HPLC	Disponible comercialmente	Límites de detección de masa* característicos	Intervalo lineal† (décadas)
Absorbancia	Sí	10 pg	3-4
Fluorescencia	Sí	10 fg	5
Electroquímica	Sí	100 pg	4-5
Índice de refracción	Sí	1 ng	3
Conductividad	Sí	100 pg–1 ng	5
Espectrometría de masas	Sí	<1 pg	5
IR de transformada de Fourier	Sí	1 µg	3
Dispersión de la luz	Sí	1 µg	5
Actividad óptica	No	1 ng	4
Selectivo a elementos	No	1 ng	4-5
Fotoionización	No	<1 pg	4

Fuentes: publicaciones de los fabricantes; *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997; E. S. Yeung y R. E. Synovec, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, p. 1237A.

*Los límites de detección de masa dependen del compuesto, el instrumento y las condiciones de HPLC, pero los proporcionados son valores representativos en sistemas comerciales cuando los hay disponibles.

†Valores representativos a partir de las fuentes mencionadas.

no de las columnas para modos cromatográficos específicos se estudia más adelante en este capítulo.

28C.6 Detectores

No hay detectores para cromatografía de líquidos tan universalmente aplicables como los detectores de ionización por llama y de conductividad térmica para cromatografía de gases que se describieron en la sección 27B.4. Los detectores de cromatografía de gases fueron específicamente perfeccionados para medir pequeñas concentraciones de analitos en flujos de gas. Por otro lado, los detectores de cromatografía de líquidos han sido instrumentos analíticos tradicionales adaptados con celdas de flujo para medir concentraciones bajas de solutos en flujos de líquidos. El problema principal en el mejoramiento de la cromatografía de líquidos es la adaptación y perfeccionamiento de dichos dispositivos.⁴

Características del detector ideal

El detector ideal para cromatografía de líquidos debería poseer todas las características que se mencionan en la sección 27B.4 respecto a los detectores de cromatografía de gases, con excepción de que un detector de cromatografía de líquidos no requiere ser sensible en un intervalo tan grande de temperaturas. Además, un detector de HPLC debe tener un volumen interno mínimo con el fin de reducir el ensanchamiento de banda (sección 28B.2) y ser compatible con el flujo de líquidos.

⁴Para un análisis más detallado véase R. P. W. Scott, *Chromatographic Detectors*, Nueva York: Dekker, 1996; R. P. W. Scott, *Liquid Chromatography Detectors*, 2a. ed., Amsterdam: Elsevier, 1986.

Tipos de detectores

Los detectores para cromatografía de líquidos son de dos tipos básicos. Los *detectores basados en una propiedad de la solución* son sensibles a una propiedad de la fase móvil, como el índice de refracción, la constante dieléctrica o la densidad, la cual es modulada por la presencia de solutos. En cambio, los *detectores basados en una propiedad del soluto* responden a alguna de las propiedades de este último, como la absorbancia en el UV, fluorescencia o corriente de difusión, que no son inherentes a la fase móvil.

En la tabla 28.1 se mencionan los detectores de uso más común en cromatografía de líquidos de alta resolución y algunas de sus propiedades más importantes. Los detectores más ampliamente usados se apoyan en la absorción de radiación UV o visible (véase la figura 28.8). Los detectores de fluorescencia, índice de refracción y electroquímicos también son muy utilizados. Los detectores de espectrometría de masas tienen gran aceptación en la actualidad. Sistemas como los de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas representan una gran ayuda para identificar los analitos que salen de una columna HPLC como se estudia más adelante en esta sección.

Detectores de absorción UV-visible

La figura 28.8 muestra el esquema de una celda de flujo en forma de Z para las mediciones de absorción de los efluentes de una columna cromatográfica. A fin de minimizar el ensanchamiento de banda extracolumna, el volumen de dichas celdas tiene que ser el menor posible. Los volúmenes de la celda representativa son de 1 a 10 µL y las longitudes de trayectoria de la celda son de 2 a 10 mm.

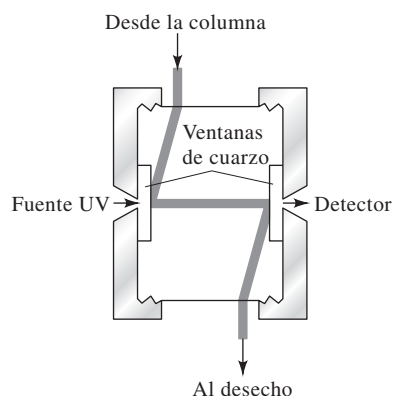


FIGURA 28.8 Celda de absorción de radiación UV-visible para cromatografía de líquidos de alta resolución.

Muchos detectores de absorción son dispositivos de doble haz, en los que uno de ellos atraviesa la celda del eluyente y el otro es de referencia. Para comparar las intensidades de los dos haces se utilizan detectores fotoeléctricos contrastados. También se puede usar un sistema de corte de haz semejante al que se muestra en la figura 9.13b (véase también la figura 13.13b) en combinación con un solo fototransductor. En cualquier caso, el cromatograma consiste en una gráfica de la absorbancia (logaritmo del cociente de las dos señales transducidas) en función del tiempo. También se utilizan instrumentos de un solo haz. En este caso las mediciones de intensidad del solvente se almacenan en la memoria de una computadora y al final se recuperan para calcular la absorbancia.

Detectores de absorción ultravioleta con filtros. Los primeros detectores de absorción fueron los fotómetros de filtro con una lámpara de mercurio como fuente. Lo más común era aislar la línea intensa a 254 nm por medio de filtros; en algunos equipos también se podían utilizar las líneas a 250, 313, 334 y 365 nm con otros filtros. Resulta obvio que este tipo de detector se utiliza sólo para aquellos solutos que absorben alguna de estas longitudes de onda. Como se señala en la sección 14B, varios grupos funcionales orgánicos y diversas especies inorgánicas exhiben bandas de absorción anchas a una o más de esas longitudes de onda del ultravioleta.

Las fuentes de deuterio o de filamento de tungsteno con filtros de interferencia también proporcionan una forma sencilla de detectar las especies absorbentes que salen de una columna. Algunos instrumentos estaban equipados con dispositivos duales de longitud de onda o con discos que contenían varios filtros que se podían intercambiar con rapidez a fin de detectar distintas especies a medida que salían. En la actualidad, los instrumentos con filtros han sido reemplazados por completo por espectrómetros de barrido y de arreglos de diodos.

Detectores de absorción con capacidad de barrido. La mayoría de los fabricantes de instrumentos para cromatografía de líquidos de alta resolución ofrecen detectores que consisten en un espectrofotómetro de barrido con una red entre sus componentes ópticos. Algunos se limitan a la radiación ultravioleta y otros abarcan la radiación ultravioleta y la visible. Se pueden elegir varios modos de operación. Por ejemplo, se puede obtener el cromatograma completo a una sola longitud de onda o también, cuando los picos del eluyente están suficientemente separados en el tiempo, se puede elegir distinta longitud de onda para cada pico. En este caso debe emplearse el control por computadora para seleccionar la mejor longitud de onda para cada eluyente. Cuando se desean los espectros completos con fines de identificación, se puede detener el flujo del eluyente durante un tiempo suficiente que permita el barrido de longitudes de onda de la región de interés.

Los detectores espectrofotométricos de ultravioleta más potentes son los instrumentos de arreglos de diodos, como se señala en la sección 7E.3 y en la figura 13.25.⁵ Varios fabricantes ofrecen este tipo de instrumentos, los cuales permiten recoger los datos de un espectro completo en aproximadamente un segundo. Por consiguiente, los datos espectrales de cada pico cromatográfico se pueden recoger y almacenar a medida que aparecen al final de la columna. Una de las formas de presentación de los datos espectrales, que resulta útil para la identificación de las especies y para elegir las condiciones de la determinación cuantitativa, consiste en un gráfico tridimensional tal como el que se muestra en la figura 28.9. En este caso los espectros se obtuvieron a intervalos sucesivos de cinco segundos. Es evidente la aparición y desaparición de cada uno de los tres esteroides en el eluyente.

Detectores de absorción en el infrarrojo. Se ofrecen comercialmente dos tipos de detectores en el infrarrojo. El primero es un instrumento con filtro similar en cuanto a diseño al que se muestra en la figura 16.13. El segundo, mucho más complejo, es un tipo que se basa en los instrumentos de transformada de Fourier y es similar a los descritos en la sección 16B.1. Varios fabricantes de instrumentos IR con transformada de Fourier ofrecen accesorios que permiten usarlos como detectores en HPLC. Las celdas de los detectores del infrarrojo son semejantes a las de radiación ultravioleta, excepto que las ventanas se construyen con cloruro de sodio o fluoruro de calcio. Las longitudes de la trayectoria de la celda oscilan de 0.2 a 1.0 mm y los volúmenes de 1.5 a 10 μL .

⁵ Véase R. P. W. Scott, *Chromatographic Detectors*, Nueva York: Dekker, 1996; *Diode Array Detection in HPLC*, L. Huber y S. A. George, eds., Nueva York: Dekker, 1993.

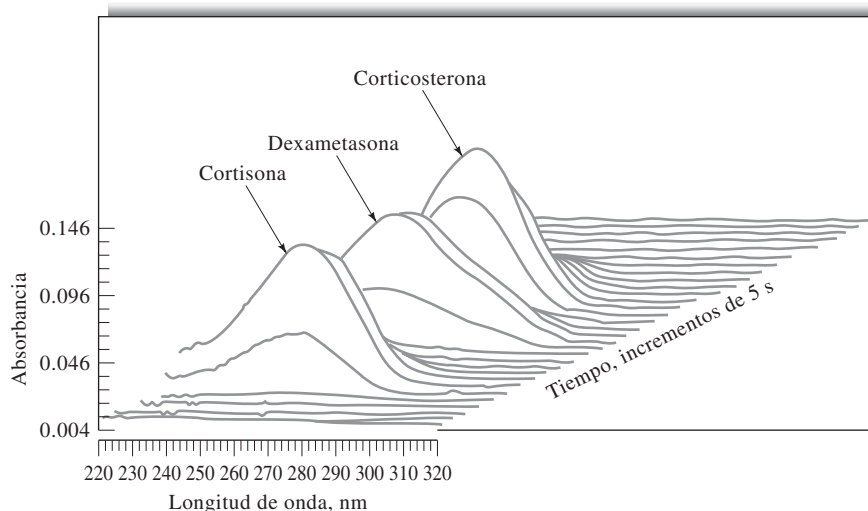


FIGURA 28.9 Espectros de absorción del eluyente de una mezcla de tres esteroides tomados a intervalos de cinco segundos. (Cortesía de Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA.)

La principal limitación del uso de los detectores de infrarrojo radica en la baja transparencia de muchos de los solventes que se utilizan. Por ejemplo, las anchas bandas de absorción del infrarrojo del agua y de los alcoholes impiden prácticamente el uso de este detector en muchas aplicaciones. Asimismo, el uso de fases móviles acuosas ocasiona un deterioro rápido de los materiales de la celda a menos que se utilicen ventanas especiales. Los deficientes límites de detección de muchos solutos han limitado el uso de los detectores IR. La introducción de los detectores espectrométricos de masas para cromatografía de líquidos, que se tratan más adelante, ha ocasionado una declinación espectacular en las aplicaciones de la detección IR.

Detectores de fluorescencia

Los detectores de fluorescencia para HPLC son semejantes en diseño a los fluorómetros y espectrofluorómetros descritos en la sección 15B.2. En la mayoría de ellos, la fluorescencia se detecta por medio de un transductor fotoeléctrico colocado a 90° respecto al haz de excitación. Los detectores más sencillos utilizan una fuente de excitación de mercurio y uno o más filtros para aislar una banda de la radiación emitida. Los instrumentos más complejos consisten en una fuente de xenón y emplean un monocromador de red para aislar la radiación fluorescente. La fluorescencia inducida por rayo láser también se utiliza debido a su sensibilidad y selectividad.

Como se subrayó en el capítulo 15, una ventaja inherente de los métodos de fluorescencia es su alta sensibilidad, que resulta ser mayor por más de un orden de magnitud que la de la mayoría de los procedimientos de absorción. En cromatografía de líquidos se ha apro-

vechado esta ventaja para la separación y determinación de los componentes fluorescentes de las muestras. Tal como se analiza en la sección 15C.2, los compuestos fluorescentes suelen estar relacionados con el análisis de materiales de interés farmacéutico, productos naturales, muestras clínicas y productos del petróleo. Muchas veces, la cantidad de especies fluorescentes aumenta si se tratan antes las muestras con reactivos que originan derivados fluorescentes. Por ejemplo, el cloruro de dansilo (cloruro de 5-dimetilaminonaftaleno-1-sulfonilo), que reacciona con las aminas primarias y secundarias, aminoácidos y fenoles para dar compuestos fluorescentes, se utiliza ampliamente para detectar aminoácidos en hidrolizados de proteínas.

Detectores de índice de refracción

En la figura 28.10 se muestra el esquema de un detector diferencial de índice de refracción, en el que el solvente, en su camino hacia la columna, pasa a través de una mitad de la celda y el eluyente de la columna pasa por la otra mitad. Los dos compartimentos están separados por una placa de vidrio montada a un ángulo tal que se produce una desviación del haz incidente si las dos soluciones tienen distintos índices de refracción. El desplazamiento resultante del haz respecto a la superficie fotosensible de un detector causa una variación en la señal de salida, la cual, una vez amplificada y registrada, proporciona el cromatograma.

La ventaja de los detectores de índice de refracción es que responden a casi todos los solutos. Es decir, son detectores universales análogos a los detectores de llama o de conductividad térmica en cromatografía de gases. Además, son confiables y no dependen de la tasa de flujo. Sin embargo, son muy sensibles a los

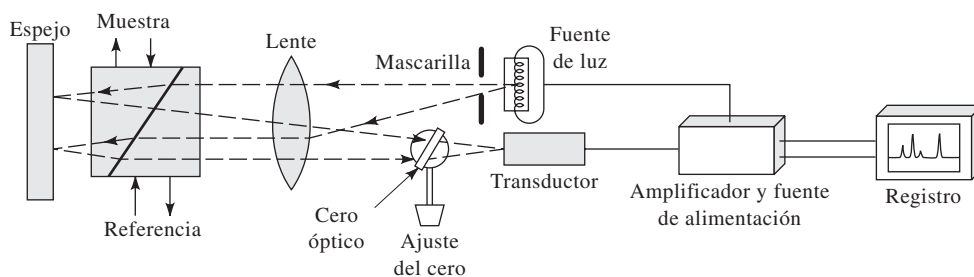


FIGURA 28.10 Esquema de un detector diferencial de índice de refracción. (Cortesía de Waters Associates, Inc., Milford, MA.)

cambios de temperatura y tienen que estar a temperatura constante hasta unas pocas milésimas de grado centígrado. Por otra parte, no son tan sensibles como la mayoría de los otros detectores y son incompatibles con los métodos de elución con gradiente. Este tipo de detector se usa para determinar algunos analitos como los azúcares.

Detector de la dispersión de la luz tras evaporación

Se trata de uno de los tipos más recientes de detectores para HPLC. En este detector, el efluente de la columna pasa a un nebulizador donde se transforma en una fina niebla mediante un flujo de nitrógeno o aire. Las finas gotitas se conducen por un tubo a temperatura controlada donde tiene lugar la evaporación de la fase móvil, lo que origina unas finas partículas de analito. La nube de partículas de analito pasa a través de un haz láser. La radiación dispersada se detecta en dirección perpendicular al flujo mediante un fotodiodo de silicio.

Una de las principales ventajas de este tipo de detector es que su respuesta es casi igual para todos los solutos no volátiles. Además, es notablemente más sensible que el detector de índice de refracción, ya que se han establecido límites de detección de 0.2 ng/ μ L. La desventaja es que las composiciones de la fase móvil están limitadas sólo a componentes volátiles.

Detectores electroquímicos

En la actualidad los fabricantes de instrumentos ofrecen detectores electroquímicos de varios tipos.⁶ Estos dispositivos se basan en la amperometría, la voltametría, la coulombimetría y la conductimetría. Los tres primeros métodos se estudian en los capítulos 24 y 25.

Aunque los procedimientos electroanalíticos no se han explotado todavía tanto como los detectores ópticos, en muchos casos parecen ofrecer las ventajas de una elevada sensibilidad, sencillez, conveniencia y una

extensa aplicabilidad. Esta última propiedad se ilustra en la figura 28.11, en la que se muestran los intervalos de potencial en los que puede tener lugar la oxidación o reducción de 16 grupos funcionales orgánicos. En principio, las especies que contienen alguno de esos grupos podrían detectarse mediante procedimientos amperométricos, voltamétricos o coulombimétricos. Sin embargo, la principal limitación de los detectores electroquímicos es que no son compatibles con la elución con gradiente.

En las publicaciones especializadas se ha descrito una gran variedad de celdas para la detección electroquímica en HPLC y varias ya están comercializadas. En la figura 28.12 se ilustra un ejemplo de una celda de flujo del tipo de capa fina para la detección amperométrica (véase también la figura 25.17). En este caso, la superficie del electrodo forma parte de la pared de un canal formado al insertar una junta de Teflón de 50 μ m entre dos bloques moldeados de plástico de Kel-F. El electrodo indicador es de platino, oro, carbón vítreo o pasta de carbono. El electrodo de referencia y, a menudo, el contraelectrodo se colocan corriente abajo del bloque en el que se encuentra el electrodo indicador. El volumen de la celda es de 1 a 5 μ L. Una modificación útil de esta celda, disponible ya comercialmente, contiene dos electrodos de trabajo que pueden operar en serie o en paralelo.⁷ La primera configuración, en la que el eluyente fluye primero por un electrodo y luego por el segundo, requiere que el analito experimente una oxidación (o una reducción) reversible en el electrodo que está corriente arriba. A continuación, el segundo electrodo actúa como cátodo (o como ánodo) para determinar el producto de la oxidación (o de la reducción). Esta configuración aumenta la selectividad del sistema de detección. Una aplicación interesante de este sistema es la detección y determinación de los componentes en mezclas que contienen tanto tioles como disulfuros. En este caso, el electrodo de mercurio co-

⁶Descripciones breves de detectores que se consiguen en el comercio se encuentran en B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 353A; M. Warner, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 601A.

⁷D. A. Roston, R. E. Shoup y P. T. Kissinger, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, p. 1417A.

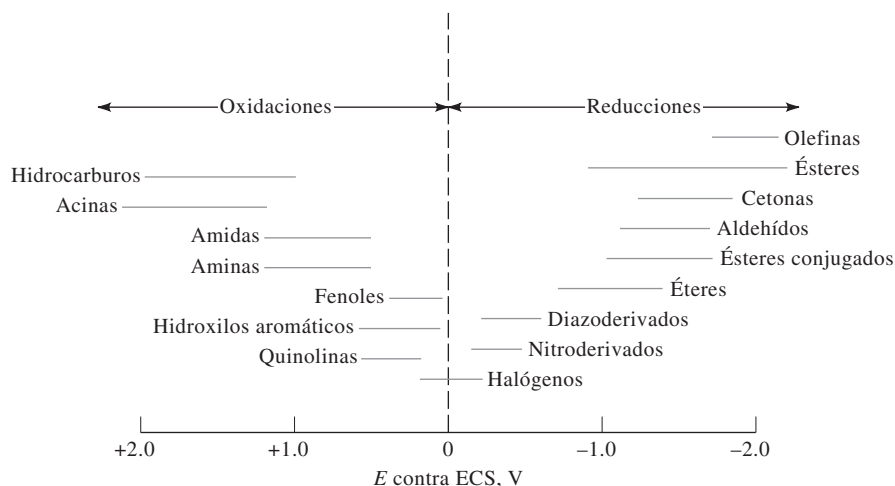
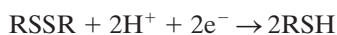


FIGURA 28.11 Detección amperométrica potencial de grupos funcionales orgánicos. Las líneas horizontales indican el intervalo de los potenciales de oxidación o de reducción para el caso de compuestos electroactivos que contienen los grupos funcionales señalados.

corriente arriba reduce los disulfuros a aproximadamente -1.0 V. Es decir,



Entonces, un electrodo de mercurio corriente abajo es oxidado en presencia de los tioles que proceden de la muestra original y también por aquellos que se han formado en el electrodo corriente arriba. Es decir,



En la configuración en paralelo, los dos electrodos están situados de tal modo que el eje entre ellos es de 90 grados respecto al flujo. Por consiguiente, los dos pueden funcionar a potenciales distintos (en relación con el electrodo de referencia corriente abajo), lo que muchas veces da un indicio de la pureza del pico. También, un electrodo puede actuar como cátodo y el otro como ánodo, lo que hace posible la detección simultánea tanto de oxidantes como de reductores.

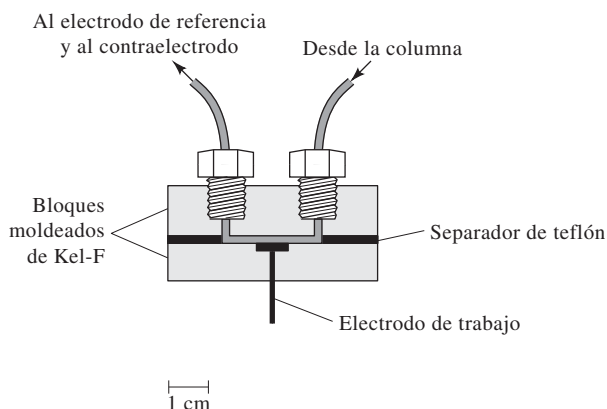


FIGURA 28.12 Celda del detector amperométrico de capa fina en HPLC.

Los detectores voltamétricos, conductimétricos y coulombimétricos ya se comercializan. Los detectores conductimétricos se tratan en la sección 28F.3.

Detectores espectrométricos de masas

La combinación de la cromatografía de líquidos con la espectrometría de masas parecería ser una fusión ideal de separación y detección.⁸ Como en la cromatografía de gases, un espectrómetro de masas puede ser de gran ayuda en la identificación de especies a medida que salen de la columna cromatográfica. Sin embargo, existen problemas mayores en el acoplamiento de las dos técnicas. En el caso de la espectrometría de masas se requiere una muestra en fase gaseosa, y la salida de la columna de cromatografía de líquidos es un soluto disuelto en un solvente. Como primer paso, el solvente se tiene que convertir en vapor. Cuando está vaporizado, el solvente de cromatografía de líquidos produce un volumen de gas que es de 10 a 1000 veces mayor que el gas portador en cromatografía de gases. Por consiguiente, la mayor parte del solvente se tiene que eliminar.

Se han desarrollado varios dispositivos para resolver los problemas del retiro del solvente y de la interferencia de la columna de cromatografía de líquidos. En la actualidad, los procedimientos más comunes se apoyan en la técnica de ionización a presión atmosférica. En la figura 28.13 se ilustra un diagrama de bloques de un sistema típico de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas. El sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución es a menudo un sistema capilar a nanoescala con tasas de flujo del orden de $\mu\text{L}/\text{min}$. Por otro lado, algunas interfases permiten tasas de flu-

⁸M. C. McMaster, *LC/MS: A Practical User's Guide*, Hoboken, NJ: Wiley, 2005; W. M. A. Niessen, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, 2a. ed., Nueva York: Dekker, 1999.

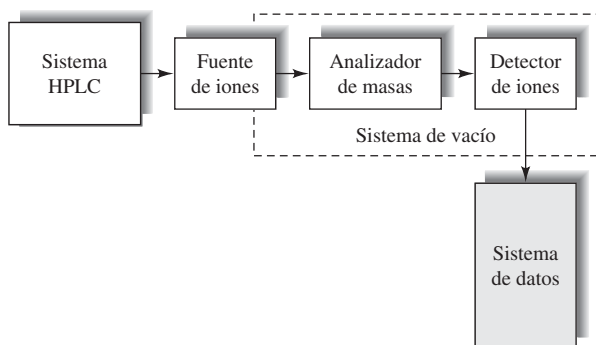


FIGURA 28.13 Diagrama de bloques de un sistema LC-MS. El efuyente de la columna de cromatografía de líquidos se introduce en una fuente de ionización a presión atmosférica, como un electroaspersor o una fuente de ionización química. Los iones producidos se clasifican mediante el analizador de masas y son detectados por el detector de iones.

jo de hasta 1 a 2 mL/min, lo cual es característico de las condiciones ordinarias de la cromatografía de líquidos de alta resolución. Las fuentes de ionización más comunes son la ionización por electroaspersión y la ionización química a presión atmosférica (véase sección 20B). La combinación de cromatografía de líquidos de alta resolución y la espectrometría de masas ocasiona una alta selectividad porque los picos no resueltos se pueden aislar al supervisar sólo una masa seleccionada. La técnica de LC-MS tiene la capacidad de proporcionar huellas dactilares de un producto particular sometido a elución en lugar de confiar en el tiempo de retención como sucede en la HPLC ordinaria. La combinación también proporciona masa molecular, información estructural y análisis cuantitativo exacto.⁹

En el caso de algunas mezclas complejas, la combinación de cromatografía de líquidos y espectrometría de masas no proporciona resolución suficiente. En años recientes se volvió posible acoplar dos o más analizadores de masas para formar espectrómetros de masas en tándem (véase sección 20C.5). Cuando se combinan con cromatografía de líquidos, los sistemas de espectrometría de masas en tándem reciben el nombre de instrumento de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas-espectrometría de masas. Por lo general, los espectrómetros de masas en tándem son sistemas cuadrupolares triples o espectrómetros cuadrupolares de trampa de iones. Con el fin de lograr una resolución superior a la que se consigue con un cuadrupolo, el analizador de masas final, en un sistema de espectrometría de masas en tándem, puede ser un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo. Los espectrómetros de masas de sectores también se pueden combinar para obtener sistemas en tándem. Los espectrómetros de masas

de resonancia iónica de ciclotrón y de trampa de iones pueden trabajar de tal manera que proporcionen no sólo dos etapas de análisis de masa, sino n etapas. Dichos sistemas de MS^n (véase sección 20C.5) proporcionan de manera sucesiva las etapas de análisis dentro de un analizador de masas sencillo. Éstos se han combinado con sistemas de cromatografía de líquidos en instrumentos de LC- MS^n .

Los sistemas de LC-MS ya son invariablemente computarizados. Mediante estos instrumentos se pueden obtener tanto cromatogramas de tiempo real como los reconstruidos mediante computadora y los espectros de los picos eluidos.

28D CROMATOGRAFÍA DE REPARTO

El tipo de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) más ampliamente utilizado es la cromatografía de reparto, en la cual la fase estacionaria es un segundo líquido que es inmisible con la fase líquida móvil. En el pasado, la mayoría de las aplicaciones se refería a compuestos polares, no iónicos, de baja a moderada masa molecular (por lo regular <3000). Sin embargo, recientemente se han desarrollado algunos métodos (derivación y formación de pares iónicos) que han ampliado las separaciones de reparto a los compuestos iónicos.

Al principio, en la cromatografía de reparto se utilizaban columnas del tipo líquido-líquido. En la actualidad éstas han sido reemplazadas por *columnas de fase líquida unida* en los sistemas de cromatografía de líquidos modernos. En la cromatografía líquido-líquido, éstos se mantienen en su lugar mediante adsorción física. Por otro lado, en la cromatografía de fase unida, están ligados por medio de un enlace iónico, lo que da por resultado rellenos muy estables e insolubles en la fase móvil. Asimismo, las columnas de fase unida son compatibles con las técnicas de elución con gradiente. Por tanto, el enfoque se centrará exclusivamente en la cromatografía de reparto con fases unidas por medios químicos.¹⁰

28D.1 Columnas para cromatografía de fase unida químicamente

En cromatografía de reparto, los soportes para casi todos los rellenos de fases unidas químicamente se preparan con sílice rígida o composiciones constituidas básicamente por sílice. Estos sólidos están formados por partículas mecánicamente resistentes, porosas y uniformes, con diámetros de 1.5 a 10 μm , pero las partículas de 3 a 5 μm son las más comunes. La superficie de la sílice totalmente hidrolizada (hidrolizada por calentamiento con HCl 0.1 M durante uno o dos días)

⁹Para una revisión de los sistemas comerciales de LC-MS consulte B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 711A.

¹⁰Para informarse sobre los mecanismos de retención en cromatografía de fase unida químicamente, véase J. G. Dorsey y W. T. Cooper, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 857A.

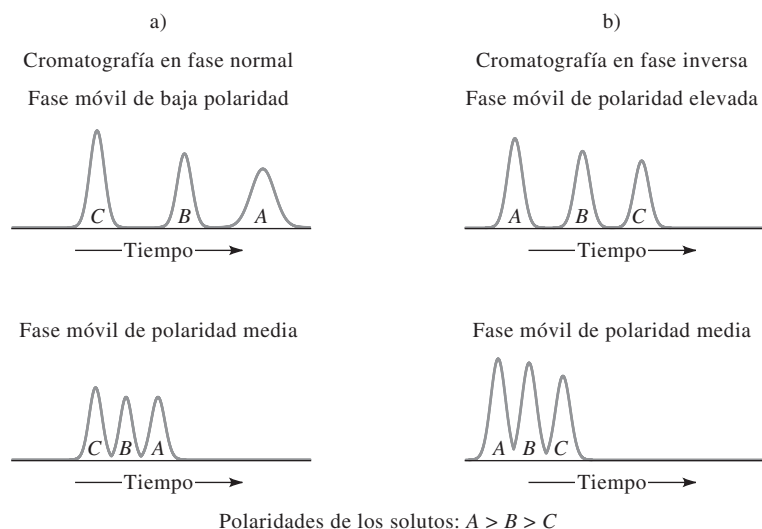
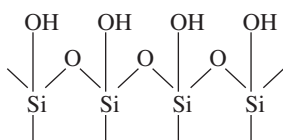


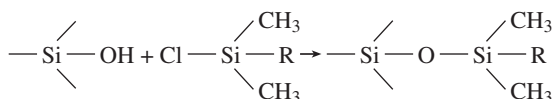
FIGURA 28.14 Relación entre la polaridad y los tiempos de elución en cromatografía en fase normal y en fase inversa.

está constituida por grupos silanol químicamente reactivos. Es decir,



Las superficies características de sílice contienen cerca de $8 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ de grupos OH y sus áreas superficiales son de 100 a $300 \text{ m}^2/\text{g}$.

Los revestimientos de fase unida químicamente más utilizados son los siloxanos que se forman por reacción de la superficie hidrolizada con un organoclorosilano. Por ejemplo,



donde R es un grupo alquilo o un grupo alquilo sustituido.

El revestimiento de la superficie por silanización se limita a $4 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ o menos a causa de los efectos estéricos. Por desgracia, los grupos SiOH que no han reaccionado proporcionan una polaridad indeseable a la superficie, lo que origina picos cromatográficos con cola en especial con solutos básicos. Para reducir este efecto, los rellenos de siloxano muchas veces se *desactivan por un proceso de bloqueo* mediante reacción con clorotrimetilsilano, el cual, debido a su pequeño tamaño, puede unirse químicamente a muchos de los grupos silanol que no habían reaccionado.

Rellenos de fase normal y de fase inversa

Con base en las polaridades relativas de las fases móvil y estacionaria, se distinguen dos tipos de cromatografía de reparto. En un principio, la cromatografía de líquidos utilizaba fases estacionarias de elevada polaridad, como el agua o el trietilenglicol; como fase móvil se empleaba un solvente relativamente no polar, como el hexano o el isopropiléter. Ahora a este tipo de cromatografía se le conoce como *cromatografía en fase normal*. En la *cromatografía en fase inversa*, la fase estacionaria es no polar, con frecuencia un hidrocarburo, y la fase móvil es un solvente relativamente polar, como agua, metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano.¹¹

En la cromatografía en fase normal, el componente *menos* polar se eluye primero; al *aumentar* la polaridad de la fase móvil ocasiona una *disminución* del tiempo de elución. En cambio, con la cromatografía de fase inversa, los componentes *más* polares aparecen primero y un *aumento* de la polaridad de la fase móvil *incrementa* el tiempo de elución. Estas correlaciones se ilustran en la figura 28.14. Como se puede ver en la figura 28.1, la cromatografía de reparto de fase normal y la cromatografía de adsorción se traslapan en forma considerable. En efecto, la retención en la mayoría de los tipos de cromatografía en fase normal parece estar regida por procesos de desplazamiento de la adsorción.¹²

Los rellenos de fase unida químicamente se llaman de fase inversa cuando el revestimiento enlazado tiene un carácter no polar, y de fase normal cuando el revestimiento contiene grupos funcionales polares. Se calcula que tal vez más de las tres cuartas partes de todas las separaciones mediante cromatografía de líquidos de



Clase interactiva: aprenda más acerca de **cromatografía de reparto.**

¹¹ Más análisis de la CLAR en fase inversa en L. R. Snyder, J. J. Kirkland, y J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1997; A. M. Krstulovic y P. R. Brown, *Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography*, Nueva York: Wiley, 1982.

¹² J. G. Dorsey et al., *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 500R.

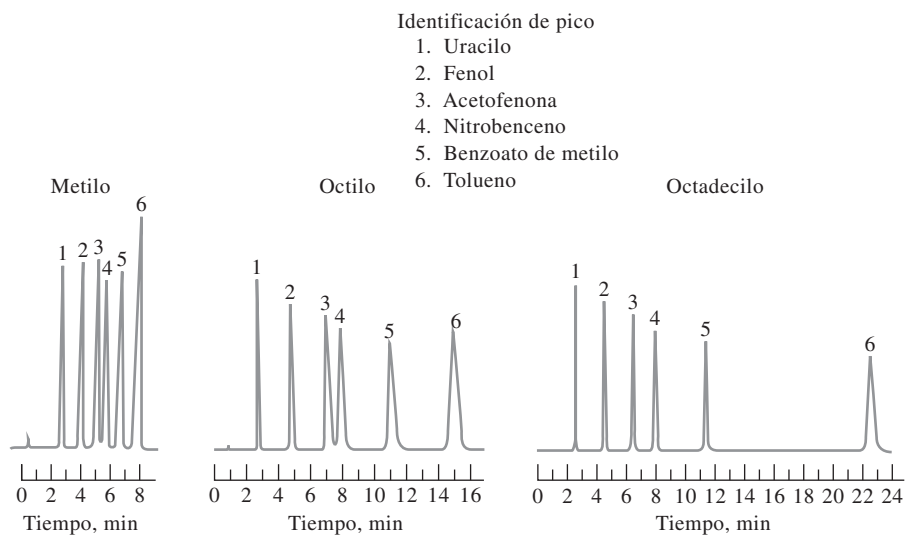


FIGURA 28.15 Efecto de la longitud de la cadena en el desempeño de las columnas de siloxano en fase inversa rellenas con partículas de 5 μm . Fase móvil: 50:50 metanol-agua. Tasa de flujo: 1.0 mL/min.

alta resolución se llevan a cabo en la actualidad en columnas con rellenos de fase inversa. La principal ventaja de las separaciones en fase inversa es que el agua se puede utilizar como fase móvil. El agua es barata, no tóxica, es un solvente transparente a la radiación UV y compatible con los solutos biológicos. Asimismo, la transferencia de masas es rápida con fases estacionarias no polares, como el equilibrio de solvente después de la elución con gradiente. Lo más común es que el grupo R del siloxano en estos revestimientos sea una cadena C_8 (*n*-octilo) o una cadena C_{18} (*n*-octildecilo).

Hasta el momento no se conoce por completo el mecanismo por el cual estas superficies retienen moléculas de soluto. Al parecer, el mecanismo de retención es bastante complejo y muy diferente del reparto de la mayor parte de la fase porque la fase estacionaria no polar está anclada a un extremo.¹³ Sin considerar con detalle el mecanismo de retención, un revestimiento enlazado se puede tratar como si fuera un líquido ordinario retenido físicamente.

En la figura 28.15 se ilustra el efecto de la longitud de la cadena del grupo alquilo sobre la eficacia. Como era de esperar, las cadenas más largas originan rellenos que muestran una mayor retención. Además, una mayor longitud de la cadena permite una mayor cantidad de muestra. Por ejemplo, el tamaño máximo de muestra para un relleno de C_{18} es casi el doble que para uno de C_4 en condiciones similares.

En la mayoría de las aplicaciones de la cromatografía en fase inversa la elución se lleva a cabo con una fase móvil de elevada polaridad, por ejemplo, una solución

acuosa que contiene concentraciones diversas de solventes como metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano. De este modo, se debe poner especial cuidado en evitar valores de pH mayores de, aproximadamente, 7.5 porque la sílice tiene la capacidad de formar especies de silicato solubles, lo que ocasiona disolución de la fase estacionaria. Asimismo, en soluciones alcalinas se podría presentar la hidrólisis del siloxano, lo cual ocasionaría la degradación o destrucción del relleno. La hidrólisis ácida del siloxano puede limitar el pH a casi 2.5 en las soluciones ácidas.

En el caso de rellenos comerciales de fase normal unida químicamente, R en la estructura del siloxano es un grupo funcional polar, como es el caso de los grupos ciano: $-\text{C}_2\text{H}_4\text{CN}$; diol, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$; amino, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{NH}_2$; y los dimetilamino, $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}(\text{CH}_3)_2$. Las polaridades de estos materiales de relleno varían en un gran intervalo, siendo el tipo ciano el menos polar y el tipo amino el más polar. Los rellenos de diol son de una polaridad intermedia. Con los rellenos de fase normal, la elución se realiza con solventes relativamente no polares, como el etiléter, el cloroformo y el *n*-hexano.

28D.2 Establecimiento del método en cromatografía de reparto

En la cromatografía de líquidos el establecimiento del método tiende a ser más complejo que en cromatografía de gases, debido a que cuando la fase móvil es líquida, los componentes de la muestra interaccionan con la fase estacionaria y la móvil.¹⁴ Por el contrario, en la

¹³L. A. Cole y J. G. Dorsey, *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, p. 1317; L. A. Cole, J. G. Dorsey y K. A. Dill, *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, p. 1324.

¹⁴Para mayor información consulte L. R. Snyder, J. J. Kirkland y J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1997.

cromatografía de gases la fase móvil simplemente lleva los componentes de la muestra a través de la fase estacionaria y no contribuye al proceso de separación. Es decir, en cromatografía de gases que la fase móvil sea helio, nitrógeno o hidrógeno no afecta de manera importante la separación. En cambio, los resultados satisfactorios de una separación en cromatografía de reparto dependen en forma determinante de que la fase móvil sea acetonitrilo, hexano o dioxano, por ejemplo.

Selección de la columna en las separaciones por cromatografía de reparto

Una cromatografía exitosa con fases móviles interactivas requiere un equilibrio adecuado entre las fuerzas intermoleculares existentes entre los tres participantes activos en el proceso de separación, a saber, el soluto, la fase móvil y la fase estacionaria. Estas fuerzas intermoleculares se describen cualitativamente en términos de polaridad relativa de cada uno de los tres reactivos. Las polaridades de varios grupos funcionales del analito se incrementan en el orden siguiente: hidrocarburos < éteres < ésteres < cetonas < aldehídos < amidas < aminas < alcoholes. El agua es más polar que cualquier compuesto que contenga alguno de los anteriores grupos funcionales.

Con frecuencia, al elegir una columna para una separación por cromatografía de reparto, la polaridad de la fase estacionaria apenas si se parece a la de los analitos y para la elución se utiliza entonces una fase móvil con una polaridad considerablemente distinta. Por lo general, este procedimiento proporciona resultados más satisfactorios que uno en el que las polaridades del soluto y de la fase móvil se corresponden, pero difieren mucho respecto a la fase estacionaria. En este caso, a menudo la fase estacionaria no puede competir de forma efectiva por los componentes de la muestra y los tiempos de retención se vuelven demasiado cortos para las aplicaciones prácticas. En el otro extremo, por supuesto, se encuentra el caso en que las polaridades del soluto y de la fase estacionaria sean demasiado parecidas y totalmente distintas de las de la fase móvil. En estas circunstancias, los tiempos de retención se hacen excesivamente largos.

En resumen, si se desea obtener buenas separaciones con cromatografía de reparto en un tiempo razonable, entonces las polaridades del soluto, la fase móvil y la fase estacionaria se deben combinar con todo cuidado. Por desgracia, las teorías que relacionan las interacciones de la fase móvil y la fase estacionaria con una serie determinada de componentes de una muestra son todavía imperfectas y, en el mejor de los casos, el usuario sólo puede elegir la fase estacionaria de una manera general. Una vez que se hace la elección, es necesari-

rio realizar una serie de experimentos de ensayo y error, en los cuales se obtienen cromatogramas con varias fases móviles hasta que se consigue una separación satisfactoria. No obstante, el alto grado de correlación entre la composición de la fase móvil y los factores de retención facilitan predecir los tiempos de retención aproximados a partir de sólo unos experimentos de ensayo y error. Si la resolución de todos los componentes de la mezcla resulta imposible, se tiene que elegir otro tipo de columna.

Selección de la fase móvil en la cromatografía de reparto

En la sección 26D.4 se describen tres métodos para mejorar la resolución de una columna cromatográfica; cada uno de ellos se basa en la variación de uno de tres parámetros (N , k y α) que relaciona la ecuación 26.26.¹⁵ En cromatografía de líquidos, el factor de retención k es el que se puede manipular experimentalmente con más facilidad debido a que depende en gran medida de la composición de la fase móvil. Tal como se subrayó antes, para un funcionamiento óptimo, k debería estar en el intervalo ideal comprendido entre 2 y 10; sin embargo, para mezclas complejas este intervalo se tiene que ampliar tal vez de 0.5 a 20 para que todos los picos de los componentes tengan tiempo de aparecer.

En algunas ocasiones, el ajuste sólo de k es insuficiente para obtener picos individuales sin superposición. En este caso, hay que recurrir a la variación del factor de selectividad α . Una vez más, la forma más simple de producir variaciones en α es modificando la composición de la fase móvil, pero procurando mantener k dentro de un intervalo razonable. Asimismo, α se puede cambiar eligiendo un relleno de columna distinto.

Influencia de la fuerza del solvente en los factores de retención. A menudo a los solventes que interaccionan fuertemente con los solutos se les denomina “fuertes”. Los solventes fuertes son con frecuencia, pero no siempre, polares. La fuerza del solvente depende de la naturaleza del analito y de la fase estacionaria. Se han creado varios índices para describir de manera cuantitativa la polaridad de los solventes. El más útil para la cromatografía de reparto es el *índice de polaridad* P' , desarrollado por Snyder.¹⁶ Este parámetro se basa en mediciones de la solubilidad para la sustancia en cues-

¹⁵ Si desea mayor información acerca de las fases móvil y estacionaria consulte L. R. Snyder, J. J. Kirkland y J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1997.

¹⁶ L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.*, **1978**, 16, p. 223.

TABLA 28.2 Propiedades de las fases móviles cromatográficas más comunes.

Solvente	Índice de refracción ^a	Viscosidad, cP ^b	Punto de ebullición, °C	Índice de polaridad, P'	Fuerza eluyente, ^c ε ⁰
Fluoroalcanos ^d	1.27–1.29	0.4–2.6	50–174	<–2	–0.25
Ciclohexano	1.423	0.90	81	0.04	–0.2
<i>n</i> -Hexano	1.372	0.30	69	0.1	0.01
1-Clorobutano	1.400	0.42	78	1.0	0.26
Tetracloruro de carbono	1.457	0.90	77	1.6	0.18
<i>i</i> -Isopropiléter	1.365	0.38	68	2.4	0.28
Tolueno	1.494	0.55	110	2.4	0.29
Dietiléter	1.350	0.24	35	2.8	0.38
Tetrahidrofurano	1.405	0.46	66	4.0	0.57
Cloroformo	1.443	0.53	61	4.1	0.40
Etanol	1.359	1.08	78	4.3	0.88
Acetato de etilo	1.370	0.43	77	4.4	0.58
Dioxano	1.420	1.2	101	4.8	0.56
Metanol	1.326	0.54	65	5.1	0.95
Acetonitrilo	1.341	0.34	82	5.8	0.65
Nitrometano	1.380	0.61	101	6.0	0.64
Etilenglicol	1.431	16.5	182	6.9	1.11
Agua	1.333	0.89	100	10.2	Grande

^aA 25°C.
^bEl centipoise es una unidad típica de viscosidad; en unidades del SI, 1 cP = 1 mN · s · m^{–2}.
^cEn Al₂O₃. Al multiplicar por 0.8 se obtiene el ε⁰ para la SiO₂.
^dLas propiedades dependen del intervalo de masa molecular de los datos que se proporcionan.

tión en tres solventes: dioxano (un receptor de protones de dipolo débil), nitrometano (un aceptor de protones de dipolo intenso) y etanol (un donador de protones de dipolo intenso). El índice de polaridad es una medida numérica de la polaridad relativa de varios solventes. En la tabla 28.2 se da una relación de los índices de polaridad, así como otras propiedades, para varios solventes que se utilizan en cromatografía de reparto. Observe que el índice de polaridad varía desde 10.2 para el agua, altamente polar, hasta –2 para los fluoroalcanos, que son muy poco polares. Cualquier índice de polaridad que se desee entre esos límites se puede conseguir por mezcla de dos solventes apropiados. Entonces, el índice de polaridad P'_{AB} de una mezcla de solventes A y B es

$$P'_{AB} = \phi_A P'_A + \phi_B P'_B \tag{28.2}$$

donde P'_A y P'_B son los índices de polaridad de los dos solventes y ϕ_A y ϕ_B son las fracciones en volumen de cada uno de los solventes A y B.

En la sección 26D.4 se subraya que la forma más fácil de mejorar la resolución cromatográfica de dos especies es manipulando el factor de retención k , el cual

puede modificarse a su vez cambiando el índice de polaridad del solvente. En este caso, el ajuste de P' se consigue con facilidad utilizando fases móviles que consisten de una mezcla de dos solventes. Por lo común, un cambio de dos unidades en P' origina (más o menos) una variación de 10 veces en k . Es decir, para una separación en fase normal

$$\frac{k_2}{k_1} = 10^{(P'_1 - P'_2)/2} \tag{28.3}$$

donde k_1 y k_2 son los valores inicial y final de k para un soluto y P'_1 y P'_2 son los valores correspondientes de polaridad. En el caso de una columna en fase inversa

$$\frac{k_2}{k_1} = 10^{(P'_2 - P'_1)/2} \tag{28.4}$$

Hay que destacar que estas ecuaciones son válidas sólo de forma aproximada. No obstante, pueden ser útiles, como se demuestra en el ejemplo 28.1.

EJEMPLO 28.1

En una columna de fase inversa, un soluto tenía un tiempo de retención de 31.3 minutos y una especie no retenida requería de 0.48 minutos para la elución cuando la fase móvil contenía un 30% en volumen de metanol y 70% de agua. Calcule a) k y b) una composición de agua-metanol que produzca un k de aproximadamente 5.

Solución

- a) Al aplicar la ecuación 26.12 se obtiene

$$k = (31.3 - 0.48)/0.48 = 64$$

- b) Para obtener P' para la fase móvil se sustituyen los índices de polaridad del metanol y del agua de la tabla 28.2 en la ecuación 28.2 y se obtiene

$$P' = (0.30 \times 5.1) + (0.70 \times 10.2) = 8.7$$

Al sustituir este resultado en la ecuación 28.4 se llega a

$$\frac{5}{64} = 10^{(P'_2 - 8.7)/2}$$

Si se calculan los logaritmos de ambos miembros de la ecuación se tiene que P'_2 es

$$-1.11 = \frac{P'_2 - 8.7}{2} = 0.5P'_2 - 4.35$$

$$P'_2 = 6.5$$

Sea x la fracción de volumen de metanol en la nueva mezcla de solventes y si se sustituye de nuevo en la ecuación 28.2, entonces

$$6.5 = (x \times 5.1) + (1 - x) \times 10.2$$

$$x = 0.73 \text{ o } 73\%$$

Con frecuencia, en las separaciones en fase inversa se emplea una mezcla de solventes formada por agua y un solvente orgánico polar. El factor de retención se manipula entonces con facilidad al variar la concentración de agua, como se muestra en el ejemplo 28.1. El efecto de estas manipulaciones se muestra en los cromatogramas de las figuras 28.16a y 28.16b, donde la muestra es una mezcla de seis esteroides. Con una mezcla de 41% de acetonitrilo y 59% de agua, k tiene un valor de 5 y todos los analitos se eluyeron en un tiempo tan corto (~ 2 minutos) que la separación resultó bastante incompleta. Al aumentar el porcentaje de agua a 70%, la elución tiene lugar en siete minutos, lo que dobla el valor de k . En estas circunstancias el tiempo total de elución es suficiente para permitir la separación, aunque el valor de α para los compuestos 1 y 3 no sea lo suficientemente grande para una buena resolución.

Influencia de la fase móvil en las selectividades. En muchos casos, ajustar k a un nivel adecuado es todo lo que se necesita para una separación satisfactoria. Sin embargo, cuando todavía se superponen dos bandas, como en las figuras 28.16a y b, se tiene que procurar aumentar el factor de selectividad α para las dos especies. Esta variación se puede llevar a cabo de manera conveniente al cambiar la naturaleza química de la fase móvil mientras k mantiene *más o menos el mismo valor*. El enfoque más aceptado para este tipo de mejoramiento se llama *triángulo de selectividad del solvente*.¹⁷ En este caso se considera que los efectos de la fase móvil que contribuyen a la selectividad son resultado del donador de protones, del que los acepta y de las interacciones dipolares. Los solventes que incorporan estas interacciones son luego elegidos para experimentos diseñados estadísticamente con el fin de determinar la mezcla óptima de solventes.¹⁸

En el caso de la cromatografía en fase inversa, los tres modificadores de los solventes son metanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano. El agua se emplea entonces para ajustar la fuerza de la mezcla y de este modo conseguir un valor adecuado de k . Composiciones binarias de tres solventes (agua más un modificador) definen los tres vértices del triángulo de solventes, como se muestra en la figura 28.17. Por lo regular, son suficientes de siete a 10 experimentos para definir una composición de solventes que produzca la mejor selectividad para un intervalo satisfactorio de k . Se usan varios esquemas de diseños estadísticos, como los factoriales completos, pero el enfoque del triángulo de solventes requiere pocos experimentos. También existen ya programas de computación para ayudar a automatizar los esquemas para el mejoramiento de los solventes. Además se usan ampliamente programas para simulación, como el muy conocido DryLab,¹⁹ para perfeccionar y superar los métodos.

En la figura 28.16 se ilustra el enfoque sistemático del triángulo de solventes en la separación de seis esteroides por cromatografía en fase inversa. Los dos primeros cromatogramas muestran los resultados de los experimentos iniciales para determinar el valor mínimo de k que se requería. En este caso, el último componente de elución se utiliza para determinar k . Con un k del componente 6 igual a 10 existe espacio suficiente en la escala de tiempo para los distintos picos; sin embargo, en estas condiciones el valor de α para los componentes 1 y 3 (y en menor grado para los 5 y 6) no

¹⁷ Para mayor información, véase J. C. Berridge, *Techniques for the Automated Optimization of HPLC Separations*, Chichester, UK: Wiley, 1985.

¹⁸ Véase J. L. Glajch, J. J. Kirkland, K. M. Squire y J. M. Minor, *J. Chromatogr.*, **1980**, 199, p. 57; L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.*, **1978**, 16, pp. 223-234.

¹⁹ DryLab forma parte ahora de Rheodyne, LLC, Rohnert Park, CA. Fue perfeccionado por LC Resources, Inc., Walnut Creek, CA.

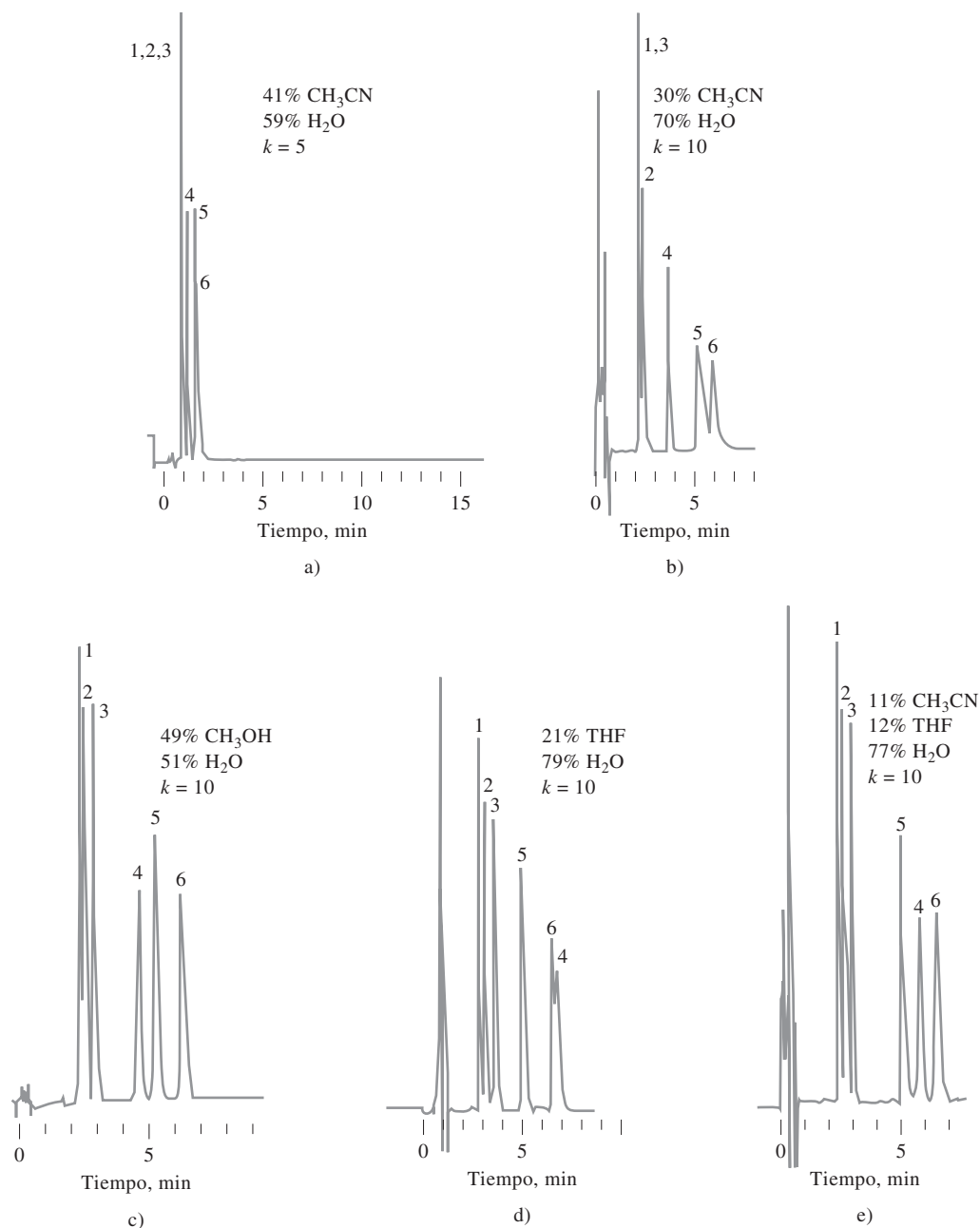


FIGURA 28.16 Metodología sistemática para la separación de seis esteroides. En a) y en b) se muestra el uso de agua para ajustar k . Los efectos de la variación de α a k constante se muestran en b), c), d) y e). Columna: 0.4×150 mm rellena con una fase inversa unida químicamente de C₈ con partículas de 5 μ m. Temperatura: 50°C. Tasa de flujo: 3.0 cm³/min. Detector: UV 254 nm. THF = tetrahidrofurano. CH₃CN = acetonitrilo. Compuestos: 1) prednisona; 2) cortisona; 3) hidrocortisona; 4) dexametasona; 5) corticosterona; 6) corticoxolona.

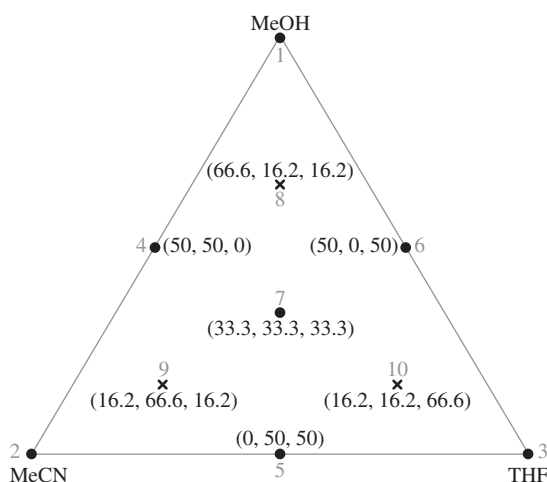


FIGURA 28.17 Triángulo de selectividad de solventes para mejorar las separaciones en fase inversa. Diez mezclas de los tres solventes orgánicos, metanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano, se muestran con las proporciones relativas entre paréntesis (MeOH, MeCN y THF). El agua se usa para mantener la potencia del solvente y el valor de k dentro del intervalo de valores apropiados.

son suficientemente grandes como para obtener una resolución satisfactoria. Con el objetivo de encontrar mejores valores de α se realizaron más experimentos; en todos los casos se ajustó la proporción de agua para obtener un $k = 10$ para el último componente en eluir. En las figuras 28.16c y 28.16d se muestran los resultados que se obtuvieron en los experimentos con las mezclas metanol-agua y tetrahidrofurano-agua. Se ejecutaron más experimentos variando en forma sistemática los pares de tres solventes orgánicos (en cada caso k se ajustaba a 10 mediante el agua). Para finalizar, se eligió la mezcla que se muestra en la figura 28.16e como la mejor fase móvil para la separación del grupo particular de compuestos.

En separaciones en fase normal se utiliza un triángulo de solventes similar, en el cual los solventes para el control de la selectividad son etiléter, cloruro de metileno y cloroformo;²⁰ para el ajuste de la fuerza del solvente se utiliza n -hexano. Con estos sistemas de solventes es posible conseguir una mejora con un número mínimo de ensayos.

28D.3 Aplicaciones de la cromatografía de reparto

Cuando se usan rellenos unidos químicamente en fase inversa junto con solventes muy polares (a menudo acuosos) se aproximan al sistema ideal y universal para la cromatografía de líquidos. Debido a su amplia aplicabilidad, su conveniencia y la facilidad con que pueden

²⁰Tome en cuenta que los solventes clorados están sujetos a regulaciones ambientales rigurosas.

modificarse k y α al variar las fases móviles acuosas, estos rellenos se aplican con frecuencia antes que todos los otros en el caso de separaciones de exploración con nuevos tipos de muestras.

En la tabla 28.3 se enumeran algunos ejemplos característicos de la gran variedad de aplicaciones de la cromatografía de reparto en diversos campos. Se tiene una idea más completa de la diversidad de aplicaciones de esta técnica si se consultan los últimos artículos y libros.²¹ En la figura 28.18 se ilustran dos de las miles de aplicaciones de la cromatografía de reparto con fase unida químicamente al análisis de materiales para el consumo y la industria.

Formación de derivados

A veces, es útil convertir los componentes de una muestra a un derivado antes o a veces después de la separación cromatográfica. Tal tratamiento puede ser deseable 1) para reducir la polaridad de la especie y poder utilizar la división de columnas más que de la adsorción o intercambio de iones; 2) aumentar la respuesta del detector y así la sensibilidad, para todos los componentes de la muestra; y 3) realzar selectivamente el detector a ciertos componentes de la muestra.

En la figura 28.19 se ilustra el uso de derivados para reducir la polaridad y aumentar la sensibilidad. La muestra está constituida por 30 aminoácidos de interés fisiológico. Con frecuencia, dicha separación se realiza

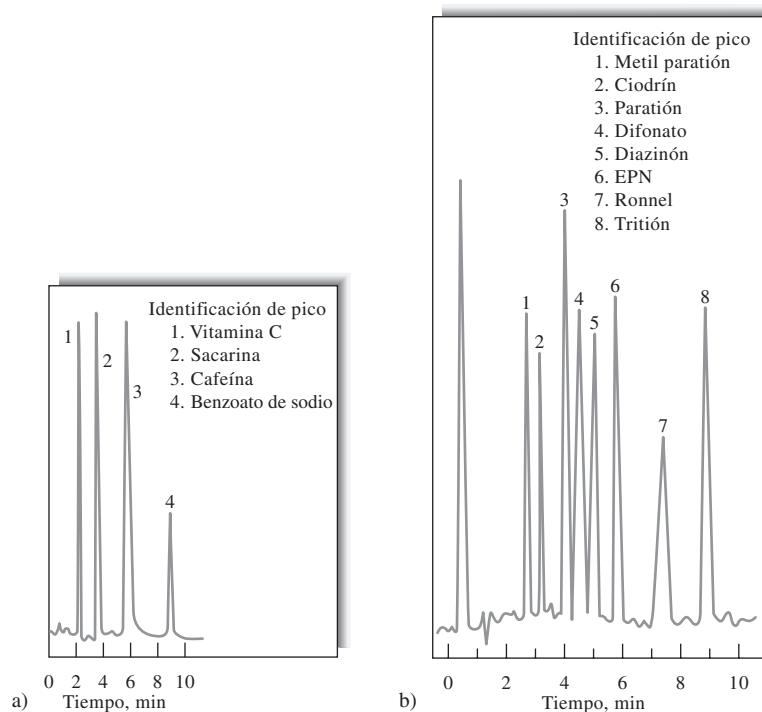
²¹Por ejemplo, véase L. R. Snyder, *Anal. Chem.*, **2000**, p. 72, 412A; J. G. Dorsey *et al.*, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 591R; *HPLC: Practical and Industrial Applications*, J. K. Swadesh, ed., 2a. ed., Boca Ratón, FL: CRC Press, 2001; *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, S. Ahuja y M. W. Dong, eds., San Diego, CA: Elsevier, 2005.

TABLA 28.3 Aplicaciones características de la cromatografía de reparto.

Campo	Mezclas características
Fármacos	Antibióticos, sedantes, esteroides, analgésicos
Bioquímica	Aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos
Productos alimenticios	Edulcorantes artificiales, antioxidantes, aflatoxinas, aditivos
Productos de la industria química	Aromáticos condensados, tensoactivos, propulsores, colorantes
Contaminantes	Plaguicidas, herbicidas, fenoles, bifenilos policlorados
Ciencias forenses	Fármacos, venenos, alcohol en sangre, narcóticos
Química clínica	Ácidos biliares, metabolitos de fármacos, extractos de orina, estrógenos

FIGURA 28.18 Aplicaciones características

de la cromatografía de fase unida químicamente. a) Aditivos en bebidas refrescantes. Columna: 4.6×250 mm rellena con fase unida químicamente polar (nitrilo). Elución isocrática con HOAC 6%-H₂O 94%. Tasa de flujo: 1.0 mL/min. (Cortesía de BTR Separations, un afiliado de DuPont ConAgra.) b) Insectidas organofosforados. Columna: 4.5×250 mm rellena con fase unida químicamente de C₈ con partículas de 5 μ m. Elución con gradiente: de CH₃OH 67%-H₂O 33% a CH₃OH 80%-H₂O 20%. Tasa de flujo: 2 mL/min. En ambos casos se utilizaron detectores UV a 254 nm.



ba con una columna de intercambio iónico y con detección fotométrica basada en una reacción poscolumna de los aminoácidos con un reactivo colorimétrico como la ninhidrina. El cromatograma que se muestra en la figura 28.19 se obtuvo mediante un procedimiento automático de formación de derivados precolumna con ortoftalaldehído. Los isoindoles²² sustituidos que se forman en la reacción manifiestan una intensa fluorescencia a 425 nm, lo que permite la detección al nivel de unos pocos picomoles (10^{-12} moles). Por otra parte, la polaridad de los derivados es tal que es posible la separación con rellenos de C₁₈ en fase inversa. Las ventajas de este procedimiento reciente son la rapidez y el menor consumo de muestra. Los derivados se usan con frecuencia con detectores selectivos como los de fluorescencia, electroquímicos y espectrométricos de masa.

Cromatografía de par iónico

Esta técnica,²³ a veces llamada también *cromatografía de formación de parejas de iones*, es un subconjunto de la cromatografía en fase inversa en la cual especies que se ionizan con facilidad se separan en columnas de fase inversa. En este tipo de cromatografía, una sal orgánica que contiene un contraión orgánico grande, como un ion amonio cuaternario o sulfonato de alquilo se añade a la fase móvil como un reactivo para formar parejas

de iones. Se proponen dos mecanismos de separación. En el primero, el contraión forma un par iónico sin carga con un ion del soluto de carga opuesta en la fase móvil. Después, este par iónico se divide en la fase estacionaria no polar, lo que da una retención diferencial de los solutos con base en la afinidad del par de iones de las dos fases. Otra posibilidad es que el contraión sea retenido fuertemente por la fase estacionaria normalmente neutral y le imparta una carga. La separación de los iones de soluto orgánico de carga opuesta ocurre luego por la formación de complejos reversibles de pares iónicos con los solutos retenidos con más firmeza que forman los complejos más fuertes con la fase estacionaria. Algunas separaciones únicas de compuestos tanto iónicos como no iónicos en la misma muestra pueden lograrse mediante esta forma de cromatografía de reparto.

En la figura 28.20 se ilustra la separación de compuestos iónicos y no iónicos mediante sulfonatos de alquilo de varias longitudes de cadena como agentes que forman parejas de iones. Tome en cuenta que una mezcla de sulfonatos de alquilo C₅- y C₇- proporciona los mejores resultados en la separación.

A menudo, las aplicaciones de la cromatografía de pares iónicos se superponen con las de la cromatografía de intercambio iónico, que se trata en la sección 28F. Por lo que toca a la separación de iones inorgánicos y orgánicos pequeños, se prefiere la cromatografía de intercambio de iones a menos que haya un problema de selectividad.

²²En cuanto a la estructura de estos compuestos véase S. S. Simons Jr. y D. E. Johnson, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1976**, 98, p. 7098.

²³Véase *Ion Pair Chromatography*, M. T. W. Hearn, ed., Nueva York: Dekker, 1985.

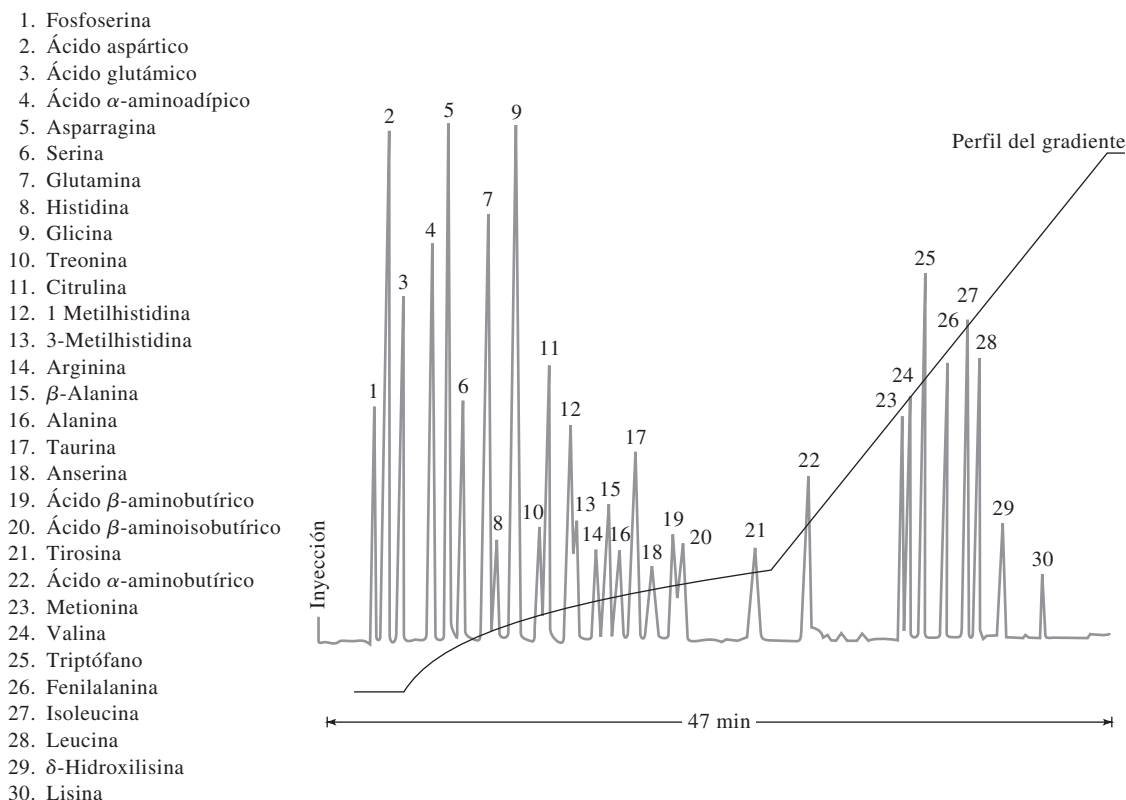


FIGURA 28.19 Cromatograma de los derivados con ortoftaldehído de 30 aminoácidos de interés fisiológico. Columna: de fase inversa, C_{18} , 5 μm . Solvente A: 0.05 M Na_2HPO_4 , pH 7.4, 96:2:2 CH_3OH , THF, H_2O . Detector de fluorescencia: excitación a 334 nm; emisión a 425 nm. (Reimpreso con autorización de R. Pfeifer *et al.*, *Amer. Lab.*, **1983**, 15 (3), p. 86. Copyright 1983 por International Scientific Communications, Inc.)

Cromatografía quiral

En los años recientes se ha logrado un enorme adelanto en la separación de compuestos que son entre sí imágenes especulares que no se pueden superponer. Estas sustancias son los llamados *compuestos quirales*.²⁴ Estas imágenes especulares se llaman *enantiómeros*. En el caso de tales separaciones se requieren aditivos quirales para la fase móvil o fases estacionarias quirales. La formación preferencial de complejos entre el agente de resolución quiral (aditivo o fase estacionaria) y uno de los isómeros da como resultado la separación de los enantiómeros. El agente de resolución quiral debe tener carácter quiral en sí mismo para identificar la naturaleza quiral del soluto.

Las fases estacionarias quirales han recibido la mayor atención.²⁵ En este caso, un agente quiral es inmovilizado en la superficie de un soporte sólido. Las fases estacionarias quirales se consiguen con una gran varie-

dad de fabricantes. Puede ocurrir una gran diversidad de interacciones entre el agente quiral de resolución y el soluto.²⁶ En un tipo, las interacciones son causadas por fuerzas de atracción como las que se dan entre los enlaces π enlaces de hidrógeno o dipolos. En otro tipo, el soluto se puede unir en una cavidad quiral en la fase estacionaria para formar complejos por inclusión. No importa cuál sea el modo, pero la aptitud para separar estos compuestos tan estrechamente relacionados es de gran importancia en muchos campos. En la figura 28.21 se ilustra la separación de una mezcla racémica de un éster sobre una fase estacionaria quiral. Observe la excelente resolución de los enantiómeros *R* y *S*.

28E CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN

La cromatografía de adsorción, o líquido-sólido, es la forma clásica de cromatografía de líquidos que introdujo Tswett por vez primera a principios del siglo xx. Debido a que hay muchos aspectos iguales entre la cromatografía de reparto en fase normal y la cromatografía de adsorción, muchos de los principios y las técnicas

²⁴Para mayor información, véase S. Ahuja, *Chiral Separations by Chromatography*, Nueva York: Oxford University Press, 2000; *Chiral Separations: Applications and Technology*, S. Ahuja, ed., Washington, DC: American Chemical Society, 1996.

²⁵Para una revisión reciente sobre fases estacionarias quirales refiérase a D. W. Armstrong y B. Zhang, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 557A.

²⁶Un repaso sobre interacciones quirales está en M. C. Ringo y C. E. Evans, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 315A.

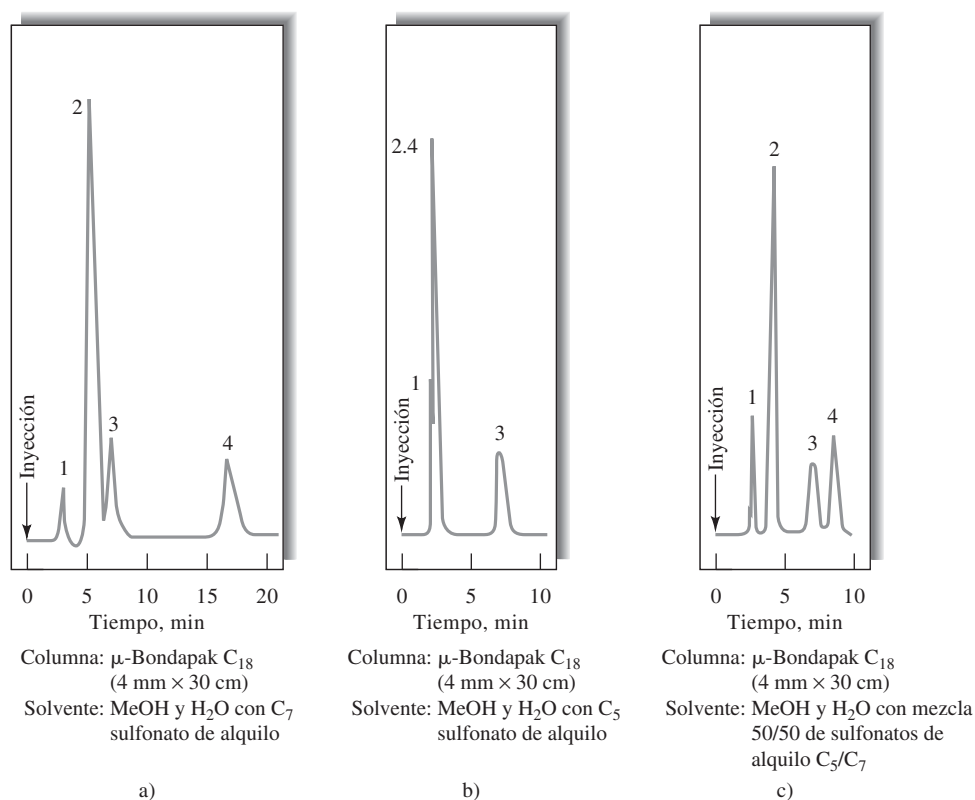


FIGURA 28.20 Cromatogramas que ilustran la separación de mezclas de compuestos iónicos y no iónicos mediante cromatografía de pares iónicos. Compuestos: 1) niacinamida, 2) piridoxina, 3) riboflavina, 4) tiamina. A un pH de 3.5, la niacinamida está fuertemente ionizada, y la riboflavina es no iónica. La piridoxina y la tiamina están débilmente ionizadas. Columna: μ -Bondapak C_{18} , 4 mm $\times$ 30 cm. Fase móvil: a) MeOH y H_2O con sulfonato de alquilo C_7 ; b) MeOH y H_2O con sulfonato de alquilo C_5 ; c) MeOH y H_2O con una mezcla 1:1 de sulfonatos de alquilo C_5 y C_7 . (Cortesía de Waters Associates, Inc.)

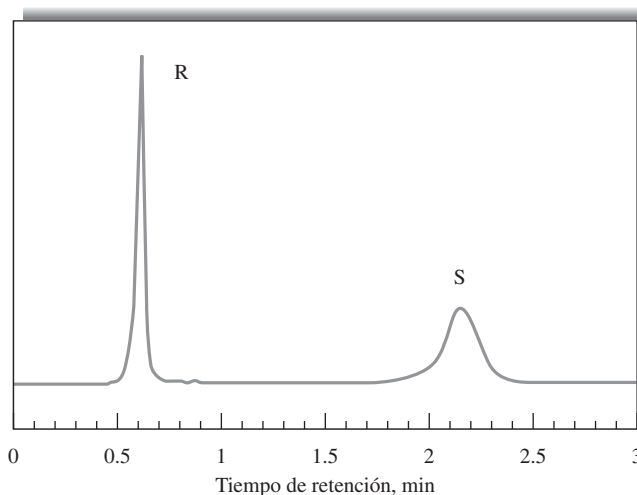


FIGURA 28.21 Cromatograma de una mezcla racémica del éster *N*-(1-naftil)leucina en una fase estacionaria quiral de dinitrobenzeno-leucina. Los enantiómeros *R* y *S* se ven muy bien separados. Columna: 4.6 $\times$ 50 mm; fase móvil, 2-propanol 20% en hexano; tasa de flujo 1.2 mL/min; detector de UV a 254 nm. (Tomado de L. H. Bluhm, Y. Wang y T. Li, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 5201. Con autorización de la American Chemical Society.)

que se utilizan en la primera se aplican también en la cromatografía de adsorción. De hecho, en muchas separaciones en fase normal, los procesos de adsorción-desplazamiento rigen la retención.

Las únicas fases estacionarias que se utilizan en la cromatografía de adsorción son la sílice y la alúmina finamente dividida. Se prefiere la sílice para la mayoría de las aplicaciones debido a su mayor capacidad de muestra. Las características de adsorción de las dos sustancias son similares. Con ambas, los tiempos de retención se vuelven más largos a medida que la polaridad del analito aumenta.

Se ha comprobado que el índice de polaridad P' , que se explica en la sección 28D.2, puede servir también como una guía aproximada de la potencia de los solventes en cromatografía de adsorción. Sin embargo, un índice mucho mejor es la *fuerza eluyente* ϵ^0 , que es la energía de adsorción por unidad de área del solvente.²⁷ Este parámetro depende del adsorbente y los valores de ϵ^0 para la sílice son de casi 0.8 veces los de la alúmina. En la tabla 28.2, los valores de ϵ^0 de la última columna corresponden a la alúmina. Observe que las diferencias de ϵ^0 entre los solventes son parecidas a las que se dan entre los valores de P' .

Debido a la versatilidad y disponibilidad de las fases estacionarias unidas químicamente, en los años recientes ha disminuido el uso de la cromatografía de adsorción tradicional con fases estacionarias sólidas y se ha favorecido la cromatografía en fase normal.

28F CROMATOGRAFÍA IÓNICA

La *cromatografía iónica* (IC) se refiere a los métodos modernos y eficientes para separar y determinar iones en columnas con relativamente baja capacidad de intercambio iónico o aniónico. Las separaciones con intercambio iónico se han utilizado desde que se inventaron las re-sinas de intercambio iónico a mediados de los años treinta del siglo XX, la cromatografía iónica tal como se practica en la actualidad se formuló a mediados de los años setenta cuando se demostró que las mezclas de aniones o de cationes se podían separar en columnas para HPLC rellenas con resinas de intercambio aniónico o de intercambio iónico. Por entonces, la detección se realizaba por lo general con mediciones de conductividad, las cuales no son las ideales debido a sus altas concentraciones de electrolito en la fase móvil. La investigación sobre las columnas de baja capacidad de intercambio facilitó el uso de fases móviles de baja potencia iónica que podrían ser además desionizadas (ionización inhibida) para permitir la detección por conductividad de alta sensibilidad. En la actualidad se dispone también de otros detectores para la

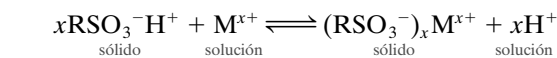
cromatografía iónica, como los espectrofotométricos y los electroquímicos.²⁸

La cromatografía iónica evolucionó al margen de la cromatografía de intercambio iónico y durante el proyecto Manhattan²⁹ se perfeccionó para separar los cationes de las tierras raras estrechamente relacionados mediante resinas de intercambio catiónico. Este espectacular trabajo, en el cual se basa la teoría de las separaciones por intercambio iónico, se extendió tras la Segunda Guerra Mundial a muchos otros tipos de materiales y al final llevó a los métodos automáticos para la separación y detección de aminoácidos y otras especies iónicas en mezclas complejas. El desarrollo de la HPLC moderna empezó a finales de los años sesenta, pero su aplicación a la separación de especies iónicas se retrasó debido a la falta de un método general y sensible para detectar las especies iónicas eluidas, como los cationes alcalinos y alcalinotérreos, y aniones como los haluros, acetato y nitrato. Esta situación se remedió en 1975, cuando técnicos de la Dow Chemical Company idearon una técnica de supresión del eluyente que hace posible la detección conductimétrica de los iones eluidos.³⁰ Esta técnica se describe en la sección 28F.3.

28F.1 Equilibrios de intercambio iónico

Los procesos de intercambio iónico se basan en los equilibrios de intercambio entre los iones de una solución y los iones del mismo signo que están en la superficie de un sólido de elevada masa molecular y esencialmente insoluble. Durante varias décadas se han utilizado intercambiadores iónicos naturales como las arcillas y las zeolitas. A mediados de los años treinta se fabricaron por primera vez resinas de intercambio iónico sintéticas para disminuir la dureza del agua, para la desionización de la misma y para la purificación de las soluciones. Los sitios activos más comunes en las resinas de intercambio catiónico son los grupos de ácido sulfónico $-\text{SO}_3^-\text{H}^+$, un ácido fuerte, y los grupos del ácido carboxílico $-\text{COO}^-\text{H}^+$, un ácido débil. Los intercambiadores aniónicos contienen grupos amino terciarios fuertemente básicos $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$ o grupos amino primarios débilmente básicos $-\text{NH}_3^+\text{OH}^-$.

Cuando un intercambiador iónico de ácido sulfónico se pone en contacto con un solvente acuoso que contiene un catión M^{x+} , se establece un equilibrio de intercambio que puede expresarse mediante



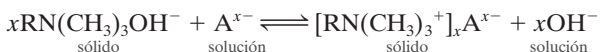
²⁸Para una breve revisión de la cromatografía iónica véase J. S. Fritz, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 335A; P. R. Haddad, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 266A. Si desea monografías sobre el tema consulte J. S. Fritz y D. T. Gjerde, *Ion Chromatography*, 3a. ed., Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2000; H. Small, *Ion Chromatography*, Nueva York: Plenum Press, 1989.

²⁹El Proyecto Manhattan fue un esfuerzo de Estados Unidos con la ayuda de Canadá y del Reino Unido, durante la Segunda Guerra Mundial, para crear armas nucleares.

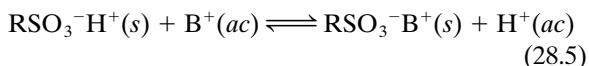
³⁰H. Small, T. S. Stevens y W. C. Bauman, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, p. 1801.

²⁷Véase L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, cap. 8, Nueva York: Dekker, 1968.

donde $\text{RSO}_3^- \text{H}^+$ representa uno de muchos grupos de ácido sulfónico unidos a una gran molécula polimérica. De forma semejante, un intercambiador de base fuerte interacciona con el anión A^{x-} de acuerdo con la siguiente reacción



Como un ejemplo de la aplicación de la ley de acción de masas a los equilibrios de intercambio iónico, considere la reacción entre un ion de una sola carga, B^+ , con una resina de ácido sulfónico en una columna cromatográfica. A partir de una solución neutra, tiene lugar la retención inicial de los iones B^+ en la cabeza de la columna debido a la reacción



La elución con una solución diluida de ácido clorhídrico desplaza el equilibrio de la ecuación 28.5 hacia la izquierda, lo que ocasiona que parte de los iones B^+ de la fase estacionaria se transfieran a la fase móvil. Estos iones descienden luego por la columna en una serie de transferencias entre las fases estacionaria y móvil.

La constante de equilibrio K_{ex} para la reacción de intercambio que se muestra en la ecuación 28.5 adopta la forma

$$K_{\text{ex}} = \frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s [\text{H}^+]_{ac}}{[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_s [\text{B}^+]_{ac}} \quad (28.6)$$

En este caso, $[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s$ y $[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_s$ son las concentraciones (actividades en sentido riguroso) de B^+ y H^+ en la fase sólida. Al reacomodar los términos se tiene

$$\frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s}{[\text{B}^+]_{ac}} = K_{\text{ex}} = \frac{[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_s}{[\text{H}^+]_{ac}} \quad (28.7)$$

Durante la elución, la concentración de iones hidrógeno en la solución acuosa es mucho mayor que la concentración de los iones B^+ en la fase móvil. Asimismo, el intercambiador tiene una gran cantidad de puntos de intercambio en relación con el número de iones B^+ que están siendo retenidos. Por consiguiente, las concentraciones totales de $[\text{H}^+]_{ac}$ y de $[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_s$ no se ven afectadas de manera importante por los desplazamientos del equilibrio 28.5. Por tanto, cuando $[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_s \gg [\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s$ y $[\text{H}^+]_{ac} \gg [\text{B}^+]_{ac}$ el segundo miembro de la ecuación 28.7 es prácticamente constante y es posible escribir

$$\frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s}{[\text{B}^+]_{ac}} = K = \frac{c_s}{c_M} \quad (28.8)$$

donde K es una constante que corresponde a la constante de distribución tal como se define con las ecuaciones 26.1 y 26.2. Todas las ecuaciones de la tabla 26.5

(sección 26E) se pueden aplicar a la cromatografía de intercambio iónico de la misma forma que a los otros tipos que ya se trataron.

Observe que K_{ex} en la ecuación 28.6 representa la afinidad de la resina por los iones B^+ en relación con otro ion (en este caso, H^+). Cuando K_{ex} tiene un valor alto, la fase sólida tiene una gran tendencia a retener los iones B^+ y cuando K_{ex} es pequeña sucede lo contrario. Al seleccionar un ion de referencia común como el H^+ , se pueden comparar de manera experimental los coeficientes de distribución de distintos iones para una resina. Estos experimentos ponen de manifiesto que los iones polivalentes están retenidos con mucho más fuerza que las especies con una sola carga. Sin embargo, dentro de un grupo con la misma carga, aparecen diferencias relacionadas con el tamaño del ion hidratado y con otras propiedades. Por consiguiente, para una resina sulfonada de intercambio catiónico característica, los valores de K_{ex} disminuyen en el orden siguiente: $\text{Ti}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{H}^+ > \text{Li}^+$. En el caso de los cationes divalentes, el orden es $\text{Ba}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{UO}_2^{2+}$.

En lo que se refiere a los aniones, en las resinas de base fuerte $\text{SO}_4^{2-} > \text{C}_2\text{O}_4^{2-} > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_2^- > \text{CH}_3\text{CO}_2^- > \text{OH}^- > \text{F}^-$. Esta sucesión debería considerarse sólo como una aproximación, pues depende en parte de la resina y de las condiciones de reacción.

28F.2 Rellenos de intercambio iónico

La cromatografía de intercambio iónico siempre ha empleado pequeñas cuentas esféricas y porosas que se forman en la copolimerización del estireno y del divinilbenceno en emulsión. La presencia de divinilbenceno (por lo regular ~8%) origina un entrelazamiento o polimerización entrecruzada que confiere estabilidad mecánica a las cuentas. Con el objetivo de activar el polímero frente a los iones, a la estructura se le unen químicamente grupos funcionales ácidos o básicos. Los grupos más comunes son el ácido sulfónico y las aminas cuaternarias.

La figura 28.22 muestra la estructura de una resina de ácido fuerte. Observe que el entrelazamiento mantiene juntas las moléculas lineales de poliestireno. Los otros tipos de resinas tienen estructuras similares, excepto en el grupo funcional activo.

Las partículas poliméricas porosas no resultan por completo satisfactorias como rellenos cromatográficos debido a la baja velocidad de difusión de las moléculas de analito a través de los microporos de la matriz polimérica y también debido a la compresibilidad de la matriz. Para superar este problema, se han elaborado dos nuevos tipos de rellenos que se utilizan más que el polímero poroso. Uno es el relleno de cuenta polimé-

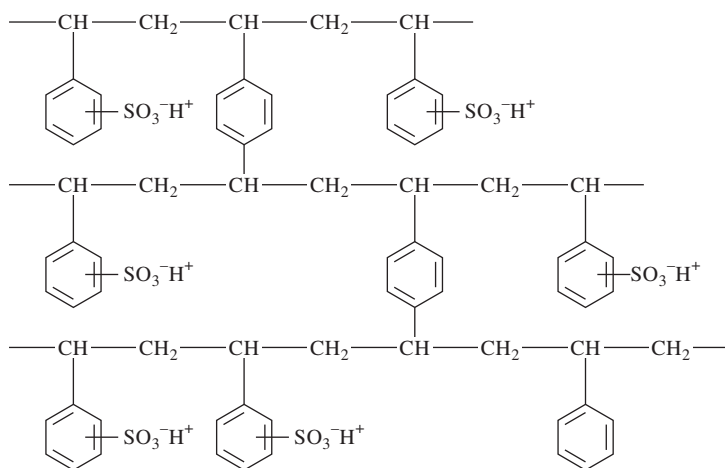


FIGURA 28.22 Estructura de una resina de poliestireno de intercambio iónico con entrelazamiento. Se utilizan resinas parecidas en las que los grupos $\text{—SO}_3^-\text{H}^+$ se sustituyen por grupos $\text{—COO}^-\text{H}^+$, $\text{—NH}_3^+\text{OH}^-$, y $\text{—N(CH}_3)_3^+\text{OH}^-$.

rica en el que su superficie está cubierta con resina sintética de intercambio de iones. Un segundo tipo de relleno se prepara cubriendo micropartículas porosas de sílice, tal como las que se utilizan en la cromatografía de adsorción, con una delgada película del intercambiador. Los diámetros de las partículas varían entre 3 y 10 μm . Con cualquier tipo, la difusión más rápida en la película de polímero aumenta la efectividad. Los rellenos de polímero tienen mayor capacidad que los rellenos de sílice y se pueden usar en un amplio intervalo de valores de pH. Los intercambiadores iónicos de sílice son más eficaces, pero son estables en un intervalo de pH limitado e incompatibles cuando la detección se basa en inhibidores (véase sección siguiente).

28F.3 Cromatografía de iones inorgánicos

La fase móvil en cromatografía de intercambio iónico debe tener las mismas propiedades generales que se requieren para los otros tipos de cromatografía. Es decir, debe poder disolver la muestra, tener una fuerza disolvente que proporcione tiempos de retención razonables (valores de k adecuados) y debe interactuar con los solutos de tal forma que favorezca la selectividad (valores de α adecuados). En cromatografía de intercambio de iones las fases móviles suelen ser soluciones acuosas que pueden contener cantidades moderadas de metanol u otros solventes orgánicos miscibles con el agua; estas fases móviles a menudo contienen especies iónicas en la forma de una solución amortiguadora. La fuerza del solvente y la selectividad se determinan por el tipo y la concentración de estos compuestos añadidos. En general, los iones de la fase móvil compiten con los iones del analito por los puntos activos del relleno del intercambiador iónico.

En la actualidad se usan dos tipos de cromatografía de iones, a saber, la *basada en inhibidores* y la de *una sola columna*. Se diferencian en el método que se usa para evitar que la conductividad del electrolito elu-

yente interfiera con la medición de las conductividades del analito.

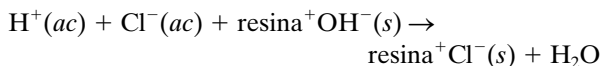
Cromatografía iónica con inhibidores

Como ya se señaló antes, la amplia aplicación de la cromatografía iónica para la determinación de especies inorgánicas se detuvo por la falta de un buen detector general que permitiera la determinación cuantitativa de iones con base en las áreas de los picos cromatográficos. Los detectores de conductividad son una elección obvia para este objetivo. Son muy sensibles, son universales para las especies cargadas y, como norma general, responden de una manera predecible a los cambios de concentración. Además, dichos detectores son sencillos, de fabricación y mantenimiento baratos, fáciles de miniaturizar y, por lo común, proporcionan un servicio duradero y sin problemas. La única limitación de los detectores de conductividad resultó ser un grave problema que retrasó su uso generalizado. Esta limitación proviene de la elevada concentración de electrolito que se requiere para eluir la mayoría de los iones del analito en un tiempo razonable. Por consiguiente, la conductividad de los componentes de la fase móvil tiende a enmascarar la de los analitos, y por ello se reduce de manera considerable la sensibilidad del detector.

En 1975, el problema de la elevada conductancia de los eluyentes se resolvió mediante la introducción de la denominada *columna inhibidora del eluyente* inmediatamente después de la columna de intercambio iónico.³¹ La columna inhibidora está rellena con una segunda resina de intercambio iónico que convierte con eficacia los iones del solvente en especies moleculares de ionización limitada, sin afectar la conductividad causada por los iones del analito. Por ejemplo, cuando se separan y determinan cationes, se elige en muchas ocasio-

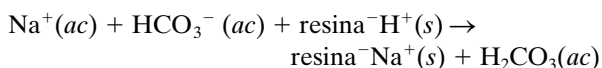
³¹ H. Small, T. S. Stevens y W. C. Bauman, *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, p. 1801.

nes el ácido clorhídrico como reactivo eluyente, y la columna inhibidora es una resina de intercambio aniónico en la forma de hidróxido. El producto de la reacción en la columna inhibidora es agua. Es decir



Los cationes del analito no son retenidos por esta segunda columna.

Para la separación de aniones, el relleno inhibidor es la forma ácida de una resina de intercambio catiónico y bicarbonato de sodio o carbonato como agente eluyente. La reacción en la columna inhibidora es entonces



En este caso, el ácido carbónico muy poco dissociado que se forma no contribuye de manera importante a la conductividad.

Un inconveniente de las primeras columnas inhibidoras era la necesidad de regenerarlas en forma periódica, casi siempre, cada ocho o 10 horas a fin de convertir los rellenos otra vez en la forma ácida o básica original. Pero en los años ochenta ya se pudo

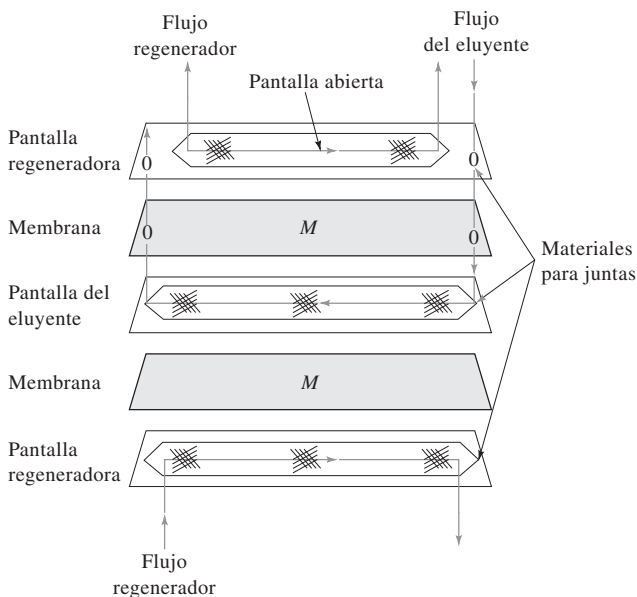


FIGURA 28.23 Inhibidor de micromembrana. El eluyente fluye a través de un canal estrecho que contiene una pantalla de plástico que reduce el volumen vacío y, al parecer, aumenta la velocidad de transferencia de masa. El eluyente se separa de la solución inhibidora mediante unas membranas de intercambio de 50 μm . El flujo del regenerador va en la dirección opuesta al flujo del eluyente. (Cortesía de Dionex Corporation, Sunnyvale, CA.)

Concentraciones, ppm	
F^-	3
Formiato	8
BrO_3^-	10
Cl^-	4
NO_2^-	10
HPO_4^{2-}	30
Br^-	30
NO_3^-	30
SO_4^{2-}	25

Concentraciones, ppm	
Ca^{2+}	3
Mg^{2+}	3
Sr^{2+}	10
Ba^{2+}	25

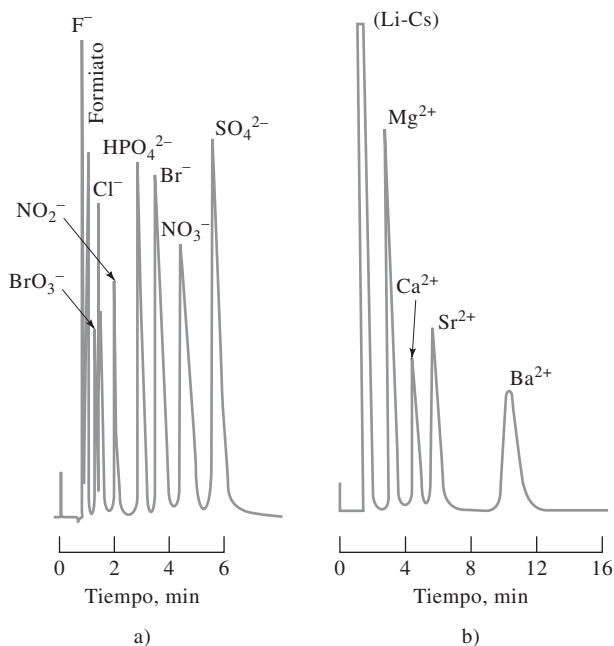


FIGURA 28.24 Aplicaciones características de la cromatografía iónica. a) Separación de aniones en una columna de intercambio aniónico. Eluyente: NaHCO_3 0.0028 M- Na_2CO_3 0.0023 M. Tamaño de la muestra: 50 μL . b) Separación de iones alcalinotérreos en una columna de intercambio catiónico. Eluyente: diclorhidrato de fenilendiamina 0.025 M- HCl 0.0025 M. Tamaño de la muestra: 100 μL . (Cortesía de Dionex Corp., Sunnyvale, CA.)

contar con los inhibidores de micromembrana que operan en forma continua.³² En la figura 28.23 se ilustra un inhibidor de micromembrana típico. En este caso, el eluyente y la solución inhibidora fluyen en direcciones opuestas en ambos lados de las membranas permeables de intercambio iónico señaladas con una M. Para el análisis de aniones, las membranas son resinas intercambiadoras de cationes, y para cationes, son intercambiadoras de aniones. Por ejemplo, cuando se trata de eliminar los iones sodio del eluyente, fluye de manera continua ácido en la corriente inhibidora para la regeneración. Los iones sodio procedentes del eluyente se intercambian con los iones hidrógeno de la

³² Para una descripción de estos dispositivos véase G. O. Franklin, *Amer. Lab.*, **1985** (3), p. 71.

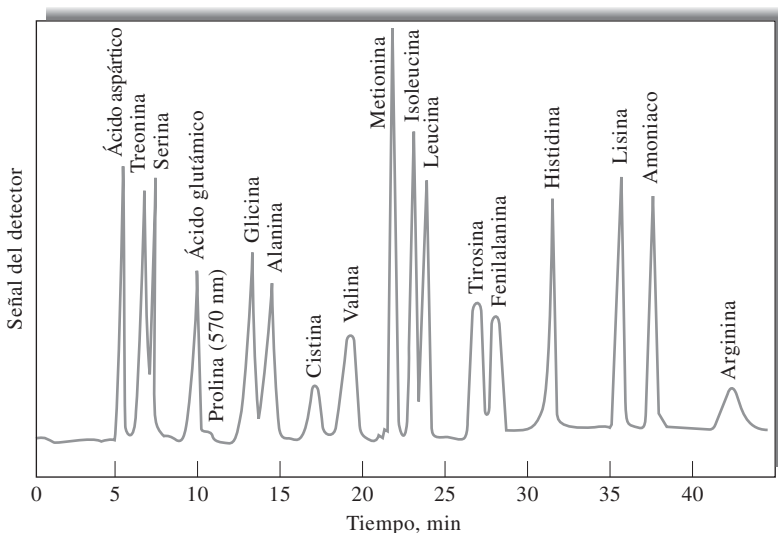


FIGURA 28.25 Separación de aminoácidos mediante una columna de intercambio iónico. Relleno: intercambiador catiónico con un tamaño de partícula de 8 μm . Presión: 2700 psi. (Reimpreso con autorización de J. R. Benson, *Amer. Lab.*, **1972**, 4 (10), p. 60. Copyright 1972 por International Scientific Communications, Inc.)

membrana y migran entonces a través de ésta donde se intercambian con los iones hidrógeno del reactivo regenerador. El dispositivo tiene una velocidad de intercambio notablemente alta; por ejemplo, es capaz de eliminar en esencia todos los iones sodio de una solución 0.1 M de hidróxido de sodio cuando la tasa de flujo del eluyente es de 2 mL/min.

En los instrumentos comerciales de diseño reciente, la regeneración de las soluciones inhibidoras se realiza en forma automática con iones hidrógeno o hidroxilo que se generan por medios eléctricos, de tal manera que no se requiere interrumpir el uso de los instrumentos para la regeneración. La figura 28.24 muestra dos aplicaciones de la cromatografía iónica en la que se utilizan una columna supresora y la detección conductimétrica. En cada caso, los iones están presentes en un nivel de partes por millón y el tamaño de las muestras es de 50 μL en un caso y de 100 μL en el otro. El método es de gran importancia para el análisis de aniones debido a que en la actualidad no existe otro método tan rápido y satisfactorio para el tratamiento de mezclas de este tipo.

Cromatografía iónica con una sola columna

También están disponibles en el comercio equipos para cromatografía iónica en los que no se utiliza una columna inhibidora. Estos sistemas se basan en las pequeñas diferencias de conductividad entre los iones de la muestra y los iones del eluyente dominantes. Para aumentar estas diferencias, se utilizan intercambiadores de baja capacidad que hacen posible la elución con soluciones que contienen bajas concentraciones de electrolito. Además, se escogen eluyentes de baja conductividad.³³

³³ Véase R. M. Becker, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, p. 1510; J. R. Benson, *Amer. Lab.*, **1985** (6), p. 30; T. Jupille, *Amer. Lab.*, **1986** (5), p. 114.

La cromatografía iónica de una sola columna tiene la ventaja de que no requiere equipo especial para la inhibición, pero es un método menos sensible para determinar aniones que los métodos de columna inhibidora.

28F.4 Aplicaciones orgánicas y bioquímicas de la cromatografía de intercambio de iones

Esta técnica se ha aplicado a una gran variedad de sistemas orgánicos y bioquímicos, como fármacos y sus metabolitos, sueros, conservadores, mezclas de vitaminas, azúcares y preparaciones farmacéuticas. Un ejemplo de estas aplicaciones se muestra en la figura 28.25, en la que se separan en una columna de intercambio catiónico 1×10^{-8} moles de cada uno de los 17 aminoácidos.

28F.5 Cromatografía de exclusión de iones

La cromatografía de exclusión de iones no es una forma de cromatografía iónica debido a que son especies neutras y no iones los que se separan. De todos modos, es conveniente estudiarla aquí porque al igual que en la cromatografía iónica, se utilizan columnas de intercambio de iones para realizar las separaciones.

La teoría y las aplicaciones de la cromatografía de exclusión de iones se ilustran adecuadamente con la separación de ácidos carboxílicos sencillos en el cromatograma que se muestra en la figura 28.26. En este caso, la fase estacionaria es una resina de intercambio catiónico en su forma ácida y la elución se lleva a cabo mediante una solución diluida de ácido clorhídrico. La columna analítica va seguida de la columna inhibidora que está rellena con una resina de intercambio catiónico.

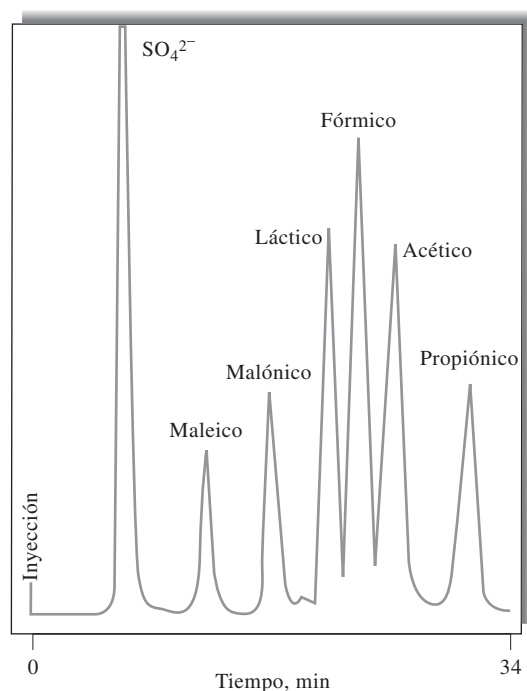


FIGURA 28.26 Cromatograma de exclusión de iones de una mezcla de seis ácidos débiles.

nico en la forma de plata. Los iones hidrógeno del eluyente se intercambiaron por los iones plata, que hacen precipitar a los iones cloruro, eliminando así la contribución iónica del eluyente. La forma no disociada de los ácidos del analito se distribuye entre la fase móvil en la columna y el líquido inmovilizado retenido en los poros del relleno. Las constantes de distribución de los diferentes ácidos se relacionan principalmente con el inverso de sus constantes de disociación, aunque otros factores intervienen también en el grado al cual diversas especies están distribuidas entre las dos fases.

La cromatografía de exclusión de iones tiene distintas aplicaciones en la identificación y determinación de especies ácidas en distintas muestras, como leche, café, vino y otros productos manufacturados. Las sales de los ácidos débiles también pueden ser analizadas dado que se convierten en sus ácidos correspondientes en presencia de los iones hidrógeno del intercambiador. También se pueden determinar por cromatografía de exclusión de iones las bases débiles y sus sales. En este caso, la columna que se emplea es un intercambiador aniónico en la forma hidróxido.

28G CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO

La *cromatografía de exclusión por tamaño*, o de gel, es una técnica muy valiosa que se aplica en particular a

especies de elevada masa molecular.³⁴ Los rellenos para la cromatografía de exclusión por tamaño son pequeñas partículas ($\sim 10\ \mu\text{m}$) de sílice o de polímeros que contienen una red de poros uniforme en los que se pueden difundir las moléculas del soluto y el solvente. Las moléculas quedan atrapadas en los poros y son eliminadas del flujo de la fase móvil. El tiempo de residencia medio en los poros depende del tamaño efectivo de las moléculas del analito. Las que son más grandes que el tamaño medio de los poros del relleno son excluidas y, por consiguiente, no son retenidas, tales especies son las primeras en ser eluidas. Las moléculas cuyos diámetros son significativamente menores que los poros pueden penetrar a través de ellos y así pasan mucho tiempo atrapadas; éstas son las últimas en ser eluidas. Entre estos dos extremos están las moléculas de tamaño intermedio cuya penetración media en los poros depende de su diámetro. Dentro de este grupo tiene lugar la división, que está directamente relacionada con las dimensiones de la molécula y, en cierto modo, con la forma molecular. Observe que las separaciones por exclusión por tamaño difieren de los otros procedimientos que se han considerado en que no hay una interacción química o física entre los analitos y la fase estacionaria. De hecho, se procura evitar este tipo de interacciones dado que originan una baja efectividad de la columna. Tenga en cuenta también que, a diferencia de otros tipos de cromatografía, hay un límite superior para el tiempo de retención, ya que ningún analito es retenido más que aquel que atraviesa por completo la fase estacionaria.

28G.1 Rellenos de columna

En cromatografía de exclusión por tamaño hay dos tipos de relleno: cuentas poliméricas y partículas de sílice; en ambos casos los diámetros oscilan entre 5 y 10 μm . Las partículas de sílice tienen la ventaja de ser de gran rigidez, lo que facilita el relleno y permite la aplicación de presiones más elevadas, mayor estabilidad, lo cual favorece el uso de una gran variedad de solventes, sin olvidar el agua; un equilibrio más rápido al cambiar el solvente y una buena estabilidad a elevadas temperaturas. Los inconvenientes de las partículas de sílice son su tendencia a retener solutos por adsorción y su capacidad para catalizar la degradación de las moléculas de soluto.

³⁴Para monografías sobre este tema, véase *Handbook of Size Exclusion Chromatography*, 2a. ed., C. S. Wu, ed., Nueva York: Dekker, 2004; *Column Handbook for Size Exclusion Chromatography*, C. S. Wu, ed., San Diego: Academic Press, 1999; S. Mori y H. G. Barth, *Size Exclusion Chromatography*, Nueva York: Springer, 1999.

En un principio, la mayor parte de la cromatografía de exclusión por tamaño se llevó a cabo utilizando fundamentalmente copolímeros estireno-divinilbenceno enlazados en forma entrecruzada semejantes en estructura (excepto que carecen de los grupos de ácido sulfónico) a los que se muestran en la figura 28.22. El tamaño del poro en estos polímeros se controla por el grado de entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas y, por tanto, por la cantidad relativa de divinilbenceno presente durante su manufactura. Entonces, se han comercializado los rellenos poliméricos con distintos tamaños promedio de poro. Originalmente los geles de estireno-divinilbenceno eran hidrófobos y, de este modo, sólo podían utilizarse con fases móviles no acuosas. Pero en la actualidad se dispone de geles hidrófilos, que permiten usar solventes acuosos para la separación de moléculas grandes y solubles en agua como los azúcares. Por lo general, estos geles hidrófilos son divinilbencenos sulfonados o poliacrilamidas. La cromatografía que se basa en los rellenos hidrófilos se llamaba antes *filtración en gel* y las técnicas basadas en los rellenos hidrófobos se denominaban *penetración sobre gel*. En la actualidad ambas técnicas están comprendidas en los métodos de exclusión por tamaño. En ambos tipos de rellenos se dispone de muchos diámetros de poro. Por lo regular, un relleno aloja de 2 a 2.5 intervalos de década de masa molecular. La masa molecular promedio adecuado para un relleno en particular puede ser desde unos pocos cientos hasta varios millones.

En la tabla 28.4 se proporcionan las propiedades de algunos rellenos comerciales característicos de la exclusión por tamaño.

28G.2 Teoría de la cromatografía de exclusión por tamaño

El volumen total V_t de una columna rellena con gel de sílice o con un polímero poroso es

$$V_t = V_g + V_i + V_o \quad (28.9)$$

donde V_g es el volumen que ocupa la matriz sólida del polímero o del gel, V_i es el volumen del solvente retenido en sus poros y V_o es el volumen libre exterior a las partículas. Si se supone que no hay mezcla ni difusión, V_o también representa el volumen teórico de solvente que se necesita para transportar a través de la columna los componentes que son demasiado grandes para entrar en los poros. Sin embargo, tiene lugar de hecho cierta difusión y mezcla, y como consecuencia de ello los componentes que no son retenidos aparecen en una banda de forma gaussiana con una concentración máxima en V_o . En el caso de componentes muy pequeños que entran sin problema en los poros del polímero o del gel, los máximos de la banda aparecen al final de la columna con un volumen de eluyente que corresponde a $(V_i + V_o)$. Por lo general, V_i , V_o y V_g son del mismo orden de magnitud y, por tanto, una columna de exclusión por tamaño permite separar las moléculas grandes de las pequeñas en una muestra con un volumen mínimo de eluyente.

Las moléculas de tamaño intermedio tienen la capacidad de transferirse a una fracción K del solvente que ocupa los poros; el volumen de elución V_e para estas moléculas retenidas es

$$V_e = V_o + KV_i \quad (28.10)$$

La ecuación 28.10 se aplica a todos los solutos presentes en la columna. Para las moléculas que son demasiado grandes para entrar en los poros, $K = 0$ y $V_e = V_o$; para las moléculas que pueden entrar en los poros libremente, $K = 1$ y $V_e = (V_o + V_i)$. Al deducir la ecuación 28.10, se plantea la hipótesis de que no existe interacción alguna, como la adsorción, entre las moléculas del soluto y la superficie del polímero o del gel. Si hubiera adsorción, aumentaría la cantidad de soluto retenido intersticialmente; con las moléculas pequeñas, K tendrá entonces un valor mayor que la unidad.

TABLA 28.4 Propiedades de los rellenos comerciales característicos para la cromatografía de exclusión por tamaño.

Tipo	Tamaño de partícula, μm	Tamaño promedio de poro, $\text{\AA}$	Límite de exclusión de masa molecular*
Poliestireno-divinilbenceno	10	100	700
		1000	$(0.1 \text{ a } 20) \times 10^4$
		10^4	$(1 \text{ a } 20) \times 10^4$
		10^5	$(1 \text{ a } 20) \times 10^5$
Sílice	10	10^6	$(5 \text{ a } >10) \times 10^6$
		125	$(0.2 \text{ a } 5) \times 10^4$
		300	$(0.03 \text{ a } 1) \times 10^5$
		500	$(0.05 \text{ a } 5) \times 10^5$
		1000	$(5 \text{ a } 20) \times 10^5$

*Masa molecular por encima de la cual no se produce la retención.

La ecuación 28.10 puede reordenarse como

$$K = (V_e - V_o)/V_i = c_s/c_M \quad (28.11)$$

donde K es la constante de distribución del soluto (véanse las ecuaciones 26.1 y 26.2). Los valores de K oscilan desde cero, para las moléculas grandes totalmente excluidas, hasta la unidad, en el caso de las moléculas pequeñas. La constante de distribución es un parámetro valioso para comparar la información de distintos rellenos. Además, hace posible la aplicación de todas las ecuaciones de la tabla 26.5 a la cromatografía de exclusión.

El intervalo útil de masa molecular para un determinado relleno de exclusión por tamaño se ilustra en forma satisfactoria por medio de una curva de calibración como la que se muestra en la figura 28.27a. En este caso, la masa molecular, que está directamente relacionada con el tamaño de las moléculas de soluto, se grafica frente al volumen de retención V_R , que es el producto del tiempo de retención por la tasa de flujo volumétrico. Observe que la escala en las ordenadas es logarítmica.



Simulación: aprenda más acerca de la **cromatografía de exclusión por tamaño.**

El *límite de exclusión* es la masa molecular máxima de una especie que podrá penetrar en los poros. Todas las especies cuya masa molecular es mayor que el límite de exclusión son tan grandes que no quedan retenidas, por lo que son arrastradas juntas para dar el pico *A* en el cromatograma que se muestra en la figura 28.27b. Por debajo del *límite de penetración*, las moléculas de soluto pueden penetrar por completo en los poros. Por debajo de esta masa molecular todas las moléculas del soluto son tan pequeñas que son arrastradas y dan una sola banda, la marcada con *D*. A medida que las masas moleculares disminuyen respecto al límite de exclusión, las moléculas del soluto pasan cada vez más y más tiempo, en promedio, en los poros que forman las partículas y, por consiguiente, se mueven progresivamente con mayor lentitud. Es en la región de penetración selectiva donde tiene lugar el fraccionamiento o división, lo que da lugar a picos de soluto individuales como los *B* y *C* del cromatograma.

Las curvas de calibración experimentales, semejantes en aspecto a la teórica de la figura 28.27a, se obtienen por lo regular mediante patrones. En muchas ocasiones los propios fabricantes de las columnas de

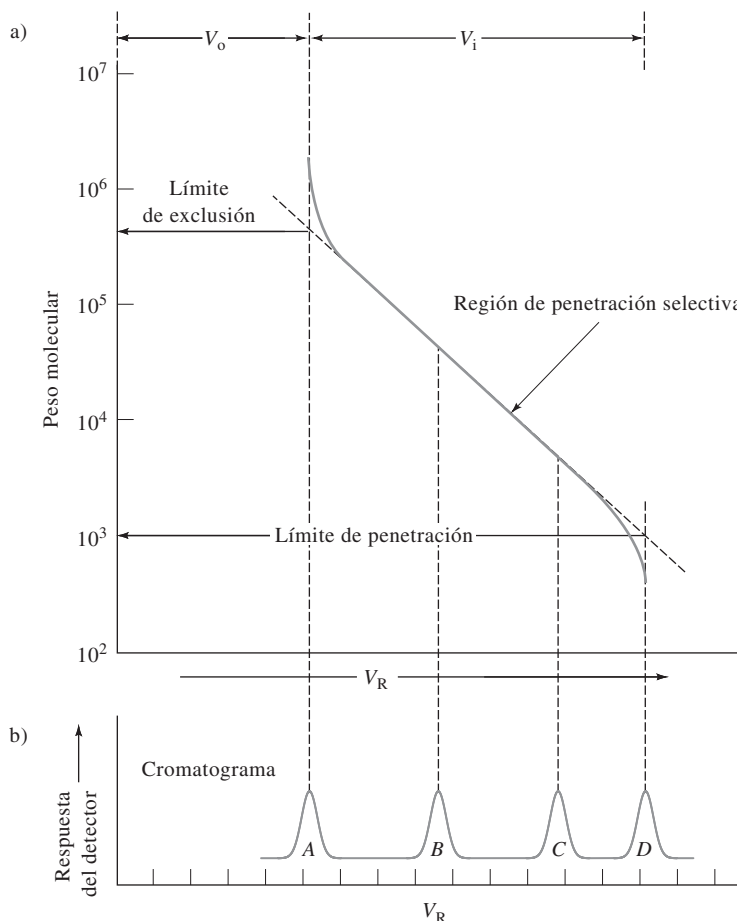


FIGURA 28.27 a) Curva de calibración para una columna de exclusión por tamaño. b) Cromatograma en el que se muestra el pico *A* que contiene todos los compuestos con masas moleculares mayores que el límite de exclusión, los picos *B* y *C* que consisten en los compuestos dentro de la región de penetración selectiva y el pico *D* que contiene todos los compuestos menores que el límite de penetración.

exclusión por tamaño suministran dichas curvas. Los patrones de calibración de masa molecular deben ser tan parecidos como sea posible a los componentes de la muestra en cuanto a funcionalidad química.

28G.3 Aplicaciones de la cromatografía de exclusión por tamaño

Los métodos de filtración sobre gel y de penetración sobre gel son complementarios porque el primero se aplica a las muestras solubles en agua y la segunda se utiliza para sustancias en solventes orgánicos menos polares. Una de las aplicaciones útiles del procedimiento de exclusión por tamaño es la separación de las moléculas de elevada masa molecular, de productos naturales de las especies de baja masa molecular y de las sales. Por ejemplo, un gel con un límite de exclusión de varios miles puede separar con claridad las proteínas de los aminoácidos y de los péptidos de baja masa molecular.

Otra aplicación útil de la cromatografía de penetración en gel es la separación de homólogos y oligómeros. Estas aplicaciones se ilustran en los ejemplos que se muestran en la figura 28.28. El primero muestra la separación de una serie de ácidos grasos con masas moleculares M entre 116 y 344 mediante un relleno de poliestireno con un límite de exclusión por tamaño de 1000. El segundo es el cromatograma de una resina epóxica comercial también mediante un relleno de poliestireno. En este caso, n se refiere al número de unidades monoméricas ($M = 264$) en las moléculas.

Otra importante aplicación de la cromatografía de exclusión por tamaño es en la determinación rápida de las masas moleculares o en la distribución de masas

moleculares en los grandes polímeros o en los productos naturales. La clave de tales determinaciones es una calibración exacta de la masa molecular. La calibración se puede conseguir mediante patrones de masa molecular conocida (véase figura 28.27) o por medio del método de calibración universal. Este último se basa en el principio de que el producto de la viscosidad molecular intrínseca η y la masa molecular M es proporcional al volumen hidrodinámico (volumen efectivo incluida la cubierta de solvatación). Idealmente, las moléculas se separan con la cromatografía de exclusión por tamaño de acuerdo con el volumen hidrodinámico. Por tanto, una curva de calibración universal se obtiene al graficar $\log(\eta M)$ contra el volumen de retención V_R . De otra manera, la calibración absoluta se puede alcanzar usando un detector molar sensible a la masa tal como el detector de dispersión de la luz en ángulo bajo.

Entre las ventajas más importantes de los procedimientos de exclusión por tamaño están 1) tiempos de separación cortos y muy bien definidos (todos los solutos dejan la columna entre V_0 y $V_0 + V_i$ en la ecuación 28.9 y la figura 28.27); 2) bandas estrechas, las cuales ocasionan buena sensibilidad; 3) no hay pérdida de muestra porque los solutos no interaccionan con la fase estacionaria y 4) no se desactiva la columna por la interacción del soluto con el relleno.

Las desventajas son 1) sólo una cantidad limitada de bandas se pueden acomodar porque la escala de tiempo del cromatograma es corta y 2) inaplicabilidad con muestras de dimensiones similares, como los isómeros. En general, se requiere una diferencia de 10% en las masas moleculares para conseguir una resolución razonable.

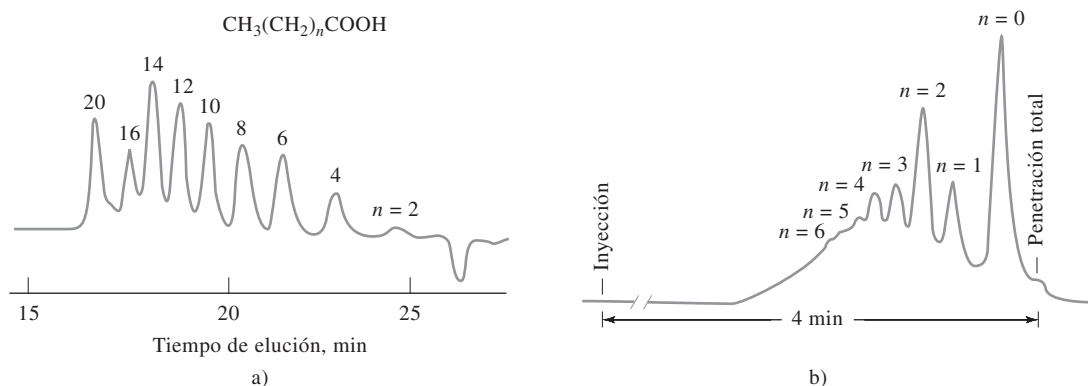


FIGURA 28.28 Aplicaciones de la cromatografía de exclusión por tamaño. a) Separación de ácidos grasos. Columna: poliestireno, de 7.5×600 nm, con un límite de exclusión de 1×10^3 . Fase móvil: tetrahidrofurano. Tasa de flujo: 1.2 mL/min. Detector: índice de refracción. b) Análisis de una resina epóxica comercial (n = número de unidades monoméricas en el polímero). Columna: de sílice porosa 6.2×250 mm. Fase móvil: tetrahidrofurano. Tasa de flujo: 1.3 mL/min. Detector: absorción UV. (Cortesía de BTR Separations.)

28H CROMATOGRAFÍA POR AFINIDAD

Para la cromatografía por afinidad se requiere el enlace covalente de un reactivo, llamado *ligando por afinidad*, con un soporte sólido.³⁵ Los ligandos por afinidad característicos son anticuerpos, inhibidores de enzimas u otras moléculas que en forma reversible y selectiva se enlazan a las moléculas del analito en la muestra. Cuando esta última pasa por la columna, sólo son retenidas las moléculas que se unen de manera selectiva al ligando por afinidad. Las moléculas que no se unen atraviesan la columna con la fase móvil. Después de que se eliminan las moléculas indeseables, los analitos retenidos pueden ser arrastrados cambiando las condiciones de la fase móvil.

La fase estacionaria para la cromatografía por afinidad es un sólido como la agarosa o cuentas de vidrio poroso en las que el ligando por afinidad está inmovilizado. La fase móvil en la cromatografía por afinidad desempeña dos papeles distintos. Primero, debe soportar el fuerte enlace de las moléculas del analito con el ligando. Segundo, una vez que se han eliminado las especies indeseables, la fase móvil debe debilitar o eliminar la interacción analito-ligando de modo que el analito pueda ser eluido. Con frecuencia se aprovechan los cambios en el pH o la potencia iónica para modificar las condiciones de elución durante las dos etapas del proceso.

La principal ventaja de la cromatografía por afinidad es que es muy específica. Se utiliza de modo principal para aislar con rapidez biomoléculas durante el trabajo de preparación.

28I CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Entre los métodos de cromatografía en plano están la *cromatografía en capa fina* (TLC) y la *cromatografía en papel* (CP). En todos los casos se emplea una capa plana y relativamente delgada de un material que a la vez es el soporte, o bien, cubre una superficie de vidrio, plástico o metal. La fase móvil se desplaza por la fase estacionaria por acción capilar, a veces ayudada por la gravedad o por la aplicación de un potencial eléctrico.

En la actualidad, la cromatografía en plano se centra en la técnica de capa fina, que es más rápida, tiene mejor resolución y es más sensible que la cromatografía en papel. Esta sección se dedica sólo a los métodos de capa fina.

³⁵ Para detalles sobre la cromatografía por afinidad consulte *Handbook of Affinity Chromatography*, T. Kline, ed., Nueva York: Dekker, 1993; *Analytical Affinity Chromatography*, I. M. Chaiken, ed., Boca Ratón, FL: CRC Press, 1987; R. R. Walters, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, p. 1097A.

28I.1 Campo de aplicación de la cromatografía en capa fina

Desde un punto de vista teórico, los tipos de fases móviles y estacionarias, así como las aplicaciones de cromatografía en capa fina son muy similares a las de la cromatografía de líquidos. De hecho, las técnicas de la cromatografía en capa fina se aplican para desarrollar las condiciones para las separaciones en cromatografía de líquidos de alta resolución. En algún momento, los métodos de cromatografía en capa fina se utilizaron ampliamente en la industria farmacéutica. En la actualidad, esas técnicas han sido reemplazadas por los métodos de la cromatografía de líquidos, los cuales se pueden automatizar con facilidad y son más rápidos. La cromatografía en capa fina tiene amplio uso en los laboratorios clínicos y es la estructura de apoyo de muchos estudios bioquímicos y biológicos. Tiene también muchas aplicaciones en los laboratorios industriales.³⁶ Debido a sus muchas áreas de aplicación es que sigue siendo una técnica importante.

28I.2 Fundamentos de la cromatografía en capa fina

Las separaciones en capa fina características se realizan en placas de vidrio revestidas con una capa delgada y adherente de partículas finamente divididas; esta capa constituye la fase estacionaria. Las partículas son semejantes a las de la cromatografía por adsorción, de reparto en fase normal y en fase inversa, de intercambio iónico y de exclusión por tamaño. Las fases móviles también son similares a las que se emplean en la cromatografía de líquidos de alta resolución.

Preparación de las placas de capa fina

Una placa de capa fina se prepara extendiendo una lechada acuosa del sólido finamente pulverizado sobre la superficie limpia de una lámina de vidrio o plástico o sobre el portaobjetos de un microscopio. A menudo se añade un aglutinante a la lechada para aumentar la adhesión de las partículas sólidas al vidrio y entre las mismas partículas. Luego se deja reposar la lámina hasta que haya secado y las partículas estén muy bien adheridas a la superficie; en algunos casos se calienta en un horno durante varias horas. Hay empresas de equipo para laboratorios químicos que ofrecen lámi-

³⁶ Entre los libros dedicados a los fundamentos y aplicaciones de la cromatografía en capa fina están *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, 3a. ed., J. Sherma y B. Fried, eds., Nueva York: Dekker, 2003; B. Fried y J. Sherma, *Thin Layer Chromatography*, 4a. ed., Nueva York: Dekker, 1999; *Practical Thin-Layer Chromatography*, B. Fried y J. Sherma, eds., Boca Ratón, FL: CRC Press, 1996. Revisiones más recientes están en J. Sherma, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3841; J. Sherma, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3251; J. Sherma, **2002**, 74, p. 2653.

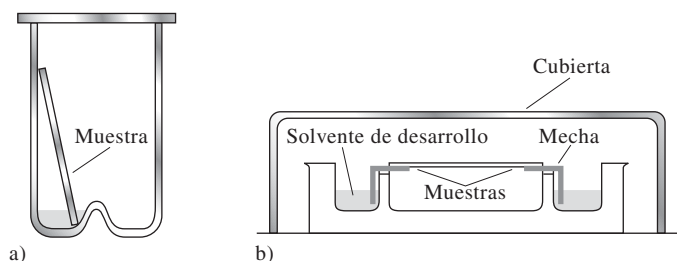


FIGURA 28.29 a) Cámara para producir el ascenso del flujo. b) Cámara para producir el flujo horizontal, en este caso las muestras se colocan en ambos extremos de la lámina y se desplazan hacia la parte media, por lo que se duplica el número de muestras que se pueden acomodar.

nas precubiertas de varias clases. Los precios son de algunos dólares por lámina. Las dimensiones comunes en centímetros son 5×20 , 10×20 y 20×20 .

Las placas comerciales se presentan en dos categorías: la ordinaria y la de alto rendimiento. La capa de la primera es más gruesa (de 200 a 250 μm) con partículas cuyas dimensiones son de 20 μm o más. Las placas de alto rendimiento tienen por lo general películas de unos 100 μm de espesor y partículas de un diámetro de 5 μm o menos. Las placas de alto rendimiento proporcionan mejores separaciones y en menos tiempo. Pero tienen la desventaja de tener una capacidad significativamente menor de carga que las láminas ordinarias.

Aplicación de la muestra

La aplicación de la muestra es tal vez el aspecto más decisivo de la cromatografía en capa fina, sobre todo cuando se trata de medidas cuantitativas. Por lo general se aplica una solución de la muestra de 0.01 % a 0.1 % como un punto a 1 o 2 cm del extremo de la placa. Para una separación más eficaz, este punto o mancha debe tener un diámetro mínimo, alrededor de 5 mm para un trabajo cualitativo y menor para el análisis cuantitativo. En el caso de soluciones diluidas, se realizan tres o cuatro aplicaciones superpuestas secando la zona entre aplicación y aplicación.

La aplicación manual de las muestras se efectúa por contacto entre la placa y un capilar que contiene la muestra, o con una jeringa hipodérmica. En el comercio hay varios aplicadores mecánicos que mejoran la precisión y exactitud de la aplicación de la muestra.

Desarrollo o creación de la placa

La *creación de la placa* es un proceso en el cual una muestra es arrastrada a lo largo de la fase estacionaria por una fase móvil; es similar a la elución en la cromatografía de líquidos. La forma más común de crear una placa es depositar una gota de la muestra cerca de uno de los extremos de la placa y marcar su posición con un lápiz. Una vez que se ha evaporado el solvente en el que estaba disuelta la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado y saturado con los vapores del solvente con el que se efectuará el proceso. Uno de los extremos de la placa se introduce en el solvente de de-

sarrollo, pero se procura evitar el contacto directo de éste con la muestra (figura 28.29). Una vez que el solvente de desarrollo se desplazó la mitad o las dos terceras partes de la longitud de la placa, se retira ésta del recipiente y se seca. Las posiciones de los componentes de la muestra se determinan entonces por cualquiera de varios procedimientos.

Ubicación de los analitos en la placa

Se puede aplicar una diversidad de procedimientos para localizar los componentes de la muestra después de la separación. Dos de los métodos comunes, que se utilizan con la mayoría de las mezclas de sustancias orgánicas, consisten en rociar sobre la placa una solución de ácido sulfúrico o colocar la lámina en una cámara que contiene algunos cristales de yodo. Ambos reactivos son sensibles a los compuestos orgánicos que están en la placa y dan productos oscuros. También se utilizan varios reactivos específicos como la ninhidrina para localizar las especies separadas.

Otro método de detección se basa en la incorporación de un material fluorescente a la fase estacionaria. Una vez que ha finalizado la creación, se examina la placa con luz ultravioleta. Los componentes de la muestra amortiguan la fluorescencia del material de tal forma que toda la placa exhibe fluorescencia, excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra que no son fluorescentes.

La figura 28.30 muestra un esquema ideal de una placa tras la creación y el cromatograma correspondiente. La muestra 1 estaba constituida por dos componentes y la 2 contenía sólo uno. En muchas ocasiones las manchas reales sobre una placa presentan colas, lo que origina señales que no son tan simétricas como las de la figura.

28I.3 Características de rendimiento de las placas de capa fina

La mayoría de los términos y ecuaciones desarrollados para la cromatografía en columna de la sección 26B se puede aplicar también, con ligeras modificaciones, a la cromatografía en capa fina. Se requiere un nuevo término, el *factor de retardo* o R_F .

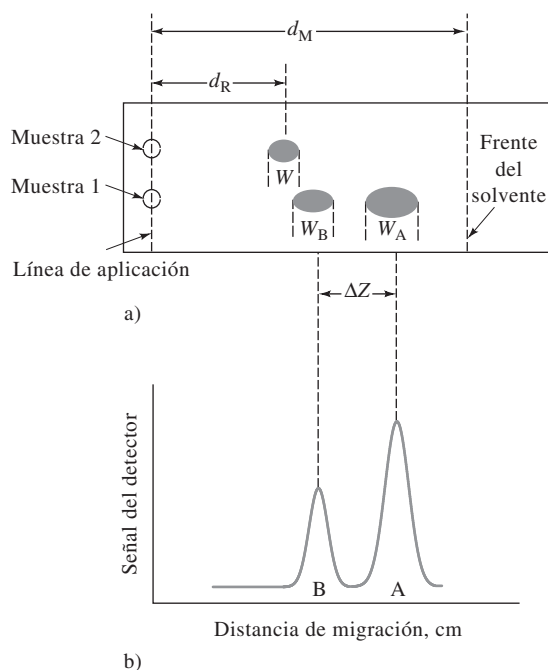


FIGURA 28.30 a) Placa de capa fina después de la creación. b) Cromatograma de capa fina para la muestra 1.

Factor de retardo

La placa de capa fina creada para un solo soluto se muestra en la figura 28.30a para la muestra 2. El factor de retardo para este soluto es

$$R_F = \frac{d_R}{d_M} \quad (28.12)$$

donde d_R y d_M son distancias lineales medidas desde la línea de aplicación. Los valores de R_F tienen la capacidad de variar desde 1 para los solutos que no se retrasan hasta valores que se aproximan a 0. Tenga en cuenta que si las manchas no son simétricas, como las de la figura 28.30a, la medida de d_R se basa en la posición de intensidad máxima.

Factor de retención

Todas las ecuaciones de la tabla 26.5 se adaptan a la cromatografía en capa fina. A fin de poder aplicar estas ecuaciones, sólo se necesita relacionar d_R y d_M como se definen en la figura 28.30a con t_R y t_M , los cuales se definen en la figura 26.4. Para establecer estas relaciones, considere el soluto único que aparece en la muestra 2 de la figura 28.30a. En este caso, t_M y t_R corresponden a los tiempos necesarios para que la fase móvil y el soluto recorran una distancia determinada, en este caso, d_R . Para una fase móvil, este tiempo es igual a la distancia que recorre dividida entre la velocidad lineal u , es decir

$$t_M = d_R/u \quad (28.13)$$

Sin embargo, el soluto no alcanza este mismo punto hasta que la fase móvil no ha recorrido la distancia d_M . Por tanto,

$$t_R = d_M/u \quad (28.14)$$

Al sustituir las ecuaciones 28.13 y 28.14 en la ecuación 26.12 se obtiene

$$k = \frac{d_M - d_R}{d_R} \quad (28.15)$$

El factor de retención k también se puede expresar en función del factor de retardo al reescribir la ecuación 28.15 en la forma

$$k = \frac{1 - d_R/d_M}{d_R/d_M} = \frac{1 - R_F}{R_F} \quad (28.16)$$

Los factores de retención deducidos de este modo se pueden usar para perfeccionar métodos para la cromatografía en columna tal como se menciona en la sección 28D.2. Por otra parte, la obtención de factores de retención por cromatografía en capa fina es más sencillo y más rápido que a partir de los datos obtenidos en experimentos en una columna.

Altura del plato

La altura de plato aproximada también se puede determinar para un tipo determinado de relleno por cromatografía en capa fina. Por consiguiente, para la muestra 2 de la figura 28.30a, el número de platos teóricos se obtiene mediante la ecuación

$$N = 16 \left(\frac{d_R}{W} \right)^2 \quad (28.17)$$

donde d_R y W se definen en la figura. La altura de plato es entonces

$$H = d_R/N \quad (28.18)$$

28I.4 Aplicaciones de la cromatografía en capa fina

El método de capa fina se puede aplicar tanto en la identificación cualitativa de compuestos como en el análisis cuantitativo.

Cromatografía en capa fina cualitativa

Por lo general, los datos de un solo cromatograma no proporcionan la información suficiente para identificar las distintas especies presentes en una mezcla, debido a la variabilidad de los valores de R_F respecto al tamaño de la muestra, la placa de capa fina y las condiciones existentes durante la creación. Además, siempre

existe la posibilidad de que dos solutos muy diferentes puedan presentar valores de R_F idénticos o casi idénticos en ciertas condiciones determinadas.

Métodos de identificación. A veces se puede lograr una identificación tentativa al aplicar a la placa soluciones de especies purificadas que quizá se podrían encontrar en el analito. La coincidencia entre los valores de R_F proporciona una gran evidencia para la identificación de uno de los componentes. En otros casos, la identidad de especies separadas se confirma mediante la técnica de raspadura y solución. En esta técnica, la zona que contiene el analito se raspa en la placa mediante una hoja de rasurar o con una espátula y se colectan las raspaduras en un trozo de papel lustre. Después de depositarlas en un recipiente adecuado, el analito se disuelve con un solvente apropiado y se separa de la fase estacionaria mediante centrifugación o filtración. Las técnicas espectroscópicas, como la espectroscopía de fluorescencia, de absorción UV-visible, de resonancia magnética nuclear o de IR de transformada de Fourier se aplican para identificar las especies. La cromatografía en capa fina también se acopla ahora en línea a varias técnicas de detección espectrométricas. El acoplamiento de la cromatografía en capa fina con los espectrómetros de masas es un campo activo de investigación.³⁷

Cromatografía en plano bidimensional. La figura 28.31 ilustra la separación de aminoácidos de una mezcla mediante el desarrollo o creación en dos dimensiones. La muestra se coloca en una de las esquinas de una placa cuadrada y se realiza el desarrollo en dirección ascendente con el solvente A. En seguida se elimina éste por evaporación, se gira la placa 90 grados y se realiza ahora el desarrollo ascendente con el solvente B. Tras la eliminación del solvente se determinan las posiciones de los aminoácidos después de rociar la placa con ninhidrina, reactivo que forma con los aminoáci-

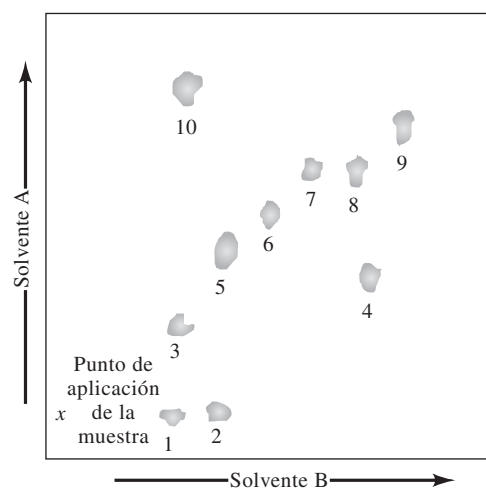


FIGURA 28.31 Cromatograma en capa fina bidimensional (gel de sílice) de algunos aminoácidos. Solvente A: tolueno, 2-cloroetanol, piridina. Solvente B: cloroformo, alcohol bencílico, ácido acético. Aminoácidos: 1) ácido aspártico, 2) ácido glutámico, 3) serina, 4) β -alanina, 5) glicina, 6) alanina, 7) metionina, 8) valina, 9) isoleucina y 10) cisteína.

dos un producto de color rosa a púrpura. Las manchas originadas se identifican al comparar sus posiciones con las de los patrones. Las técnicas para obtención de imágenes se utilizan en el análisis cuantitativo de separaciones bidimensionales.³⁸

Análisis cuantitativo

Se obtiene un cálculo semicuantitativo de la cantidad de componente presente al comparar el área de la mancha con la del patrón. Los mejores resultados se obtienen si se raspa la mancha de la placa, se extrae el analito del sólido que forma la fase estacionaria y se determina el analito mediante algún método físico o químico apropiado. Un tercer procedimiento consiste en usar un densitómetro de barrido que puede medir la fluorescencia o la absorción de la mancha.

³⁷J. Sharma, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3841.

³⁸M. Medic-Saric et al., *J. Planar. Chromatogr.-Mod. TLC*, **2004**, 17, p. 459.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

* Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

28.1 Enumere los tipos de sustancias en los cuales son más aplicables los siguientes métodos de cromatografía:

- gas-líquido
- absorción de líquidos

- c) reparto líquido-líquido
- d) reparto en fase inversa
- e) intercambio iónico
- f) penetración en gel
- g) gas-sólido
- h) filtración sobre gel
- i) Pares iónicos

28.2 Describa tres métodos generales para mejorar la resolución en la cromatografía de reparto.

28.3 Explique una forma de modificar el factor de retención de un soluto en la cromatografía de reparto.

28.4 ¿Cómo se puede modificar el factor de selectividad en a) la cromatografía de gases y b) la cromatografía de líquidos?

28.5 Al preparar un gradiente con hexano-acetona para una columna de HPLC rellena de alúmina, ¿es deseable aumentar o disminuir la proporción de hexano a medida que progresa la elución en la columna?

28.6 ¿Qué significa el intervalo de respuesta lineal de un detector?

28.7 Defina:

- a) elución isocrática
- b) elución con gradiente
- c) inyección a flujo detenido
- d) relleno de fase inversa
- e) relleno de fase normal
- f) cromatografía de pares de iones
- g) cromatografía iónica
- h) detector de propiedades de la solución
- i) detector de propiedades del soluto
- j) purga

28.8 ¿Qué es la columna de protección en la cromatografía de reparto?

28.9 ¿En qué se parecen la cromatografía de reparto en fase normal y la cromatografía de adsorción?

28.10 ¿Cuál es el orden en que los compuestos siguientes saldrán de una columna para HPLC que contiene un relleno de fase inversa?

- a) benceno, dietiléter, *n*-hexano
- b) acetona, dicloroetano, acetamida

***28.11** ¿Cuál es el orden de elución de los compuestos siguientes en una columna para HPLC con relleno de fase normal?

- a) acetato de etilo, ácido acético, dimetilamina
- b) propileno, hexano, benceno, diclorobenceno

28.12 Enumere las diferencias fundamentales entre cromatografía de adsorción y cromatografía de reparto.

28.13 Enumere las diferencias fundamentales entre cromatografía de intercambio de iones y cromatografía de exclusión por tamaño.

- 28.14** ¿Qué tipos de especies se pueden separar con cromatografía de líquidos de alta resolución pero no con cromatografía de gases?
- 28.15** Describa las diferentes clases de bombas que se usan en la HPLC. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de cada una?
- 28.16** Señale las diferencias entre la cromatografía de una sola columna y la cromatografía iónica de columna inhibidora.
- 28.17** La espectrometría de masa es un sistema de detección extremadamente versátil para la cromatografía de gases. No obstante, acoplar un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución con un espectrómetro de masa es una tarea a menudo difícil. Proporcione las principales razones por las que es más difícil combinar la HPLC con la espectrometría de masa que combinar la cromatografía de gases con la espectrometría de masa.
- 28.18** ¿Cuál de los detectores de cromatografía de gases de la tabla 27.1 son apropiados para la HPLC? ¿Por qué algunos de los mencionados son inadecuados para la HPLC?
- 28.19** Aunque la temperatura no afecta las separaciones en cromatografía de líquidos de alta resolución como lo hace en las separaciones por cromatografía de gases, puede desempeñar un papel importante. Analice cómo y por qué la temperatura podría o no influir en las separaciones siguientes:
- separación cromatográfica en fase inversa de una mezcla de esteroides.
 - una separación cromatográfica por adsorción de una mezcla de isómeros muy relacionados.

 ***28.20** En una separación con cromatografía de líquidos de alta resolución dos componentes tienen tiempos de retención que difieren en 15 s. El primer pico eluye en 9.0 minutos y los anchos de los picos son casi iguales. El tiempo muerto t_M es 65 s. Mediante una hoja de cálculo determine la cantidad mínima de platos teóricos que se necesitan para alcanzar los siguientes valores de resolución R_s : 0.50, 0.75, 0.90, 1.0, 1.10, 1.25, 1.50, 1.75, 2.0, 2.5. ¿Qué tanto cambiarían los resultados si el pico 2 tuviera el doble de ancho que el pico 1?

 ***28.21** Se perfeccionó un método de cromatografía de líquidos de alta resolución para separar y determinar ibuprofeno en muestras de plasma de rata como parte de un estudio del curso de tiempo del fármaco en los animales de laboratorio. Se sometieron a estudios cromatográficos varios patrones y se obtuvieron los resultados siguientes:

Concentración de ibuprofeno, $\mu\text{g/mL}$	Área relativa del pico
0.5	5.0
1.0	10.1
2.0	17.2
3.0	19.8
6.0	39.7
8.0	57.3
10.0	66.9
15.0	95.3

Luego se administró por vía oral una muestra de 10 mg/kg de ibuprofeno a una rata de laboratorio. Se tomaron muestras de sangre en diferentes tiempos después de la administración del fármaco y se sometieron a análisis de HPLC. Se obtuvieron los resultados siguientes:

Tiempo, h	Área del pico
0	0
0.5	91.3
1.0	80.2
1.5	52.1
2.0	38.5
3.0	24.2
4.0	21.2
6.0	18.5
8.0	15.2

Determine la concentración de ibuprofeno en el plasma sanguíneo para cada tiempo dado y grafique la concentración contra tiempo. En porcentaje, ¿durante qué periodo de media hora (primero, segundo, tercero, etc.) se pierde la mayor parte del ibuprofeno?

- *28.22** En una columna de reparto en fase normal, se determinó que un soluto tiene un tiempo de retención de 29.1 minutos y una muestra no retenida tiene un tiempo de retención de 1.05 minutos cuando la fase móvil contiene 50% en volumen de cloroformo y 50% de *n*-hexano. Calcule *a*) *k* para el soluto y *b*) la composición de solventes que disminuiría a *k* a un valor de alrededor de 10.

Problema de reto

- 28.23** Suponga, para simplificar las cosas, que la altura *H* del plato en cromatografía de líquidos de alta resolución se obtiene con la ecuación 26.23:

$$H = \frac{B}{u} + C_S u + C_M u = \frac{B}{u} + C u$$

donde $C = C_S + C_M$.

- a*) Por medio del cálculo diferencial determine la *H* mínima y demuestre que la velocidad óptima u_{opt} se puede expresar como

$$u_{\text{opt}} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

- b*) Demuestre que lleva a una altura de plato mínima H_{min} definida por

$$H_{\text{min}} = 2\sqrt{BC}$$

- c*) En algunas condiciones de la cromatografía, C_S es insignificante en comparación con C_M . En el caso de columnas rellenas para cromatografía de líquidos de alta resolución C_M es

$$C_M = \frac{\omega d_p^2}{D_M}$$

donde ω es una constante adimensional, d_p es el tamaño de la partícula del relleno de la columna y D_M es el coeficiente de difusión en la fase móvil. El coeficiente *B* se puede expresar como

$$B = 2\gamma D_M$$

donde γ también es una constante adimensional. Expresa u_{opt} y $H_{\text{mín}}$ en función de D_M , d_p , y las constantes adimensionales γ y ω .

- d) Si las constantes adimensionales son del orden de la unidad, demuestre que u_{opt} y $H_{\text{mín}}$ se pueden expresar mediante

$$u_{\text{opt}} \approx \frac{D_M}{d_p} \quad \text{y} \quad H_{\text{mín}} \approx d_p$$

- e) En las condiciones anteriores, ¿cómo se podría reducir la altura de plato en un tercio? ¿Qué sucedería con la velocidad óptima en estas condiciones? ¿Qué sucedería con la cantidad de platos teóricos N para una columna de la misma longitud?
- f) De acuerdo con las condiciones del inciso e), ¿cómo podría conservar la misma cantidad de platos teóricos mientras reduce la altura de plato en un tercio?
- g) En el análisis anterior se supone que todo el ensanchamiento de banda sucede dentro de la columna. Mencione dos factores que originen el ensanchamiento de banda extracolumna y que podrían contribuir también a la anchura total de los picos de la cromatografía de líquidos de alta resolución.

Cromatografía y extracción con fluidos supercríticos

Durante los años setenta y principios de los ochenta se perfeccionaron dos técnicas basadas en el empleo de fluidos supercríticos, que desempeñan todavía hoy un papel importante en el análisis de muestras ambientales, biomédicas y de alimentos. Estos métodos nuevos son la **cromatografía de fluidos supercríticos (SFC)** y la **extracción con fluidos supercríticos (SFE)**. A mediados de los años ochenta se empezaron a vender los equipos instrumentales para ambas técnicas y, al parecer, su uso aumenta con rapidez entre la comunidad analítica. En este capítulo se explica la teoría, los instrumentos y las aplicaciones de la SFC y la SFE.

29A PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Un *fluido supercrítico* se forma siempre que una sustancia se calienta por arriba de su temperatura crítica. La *temperatura crítica* de una sustancia es aquella por encima de la cual no puede existir en fase líquida independientemente de la presión. La presión de vapor de una sustancia a su temperatura crítica es su *presión crítica*. Una sustancia a temperaturas y presiones por encima de su temperatura y de su presión críticas (*punto crítico*) se denomina *fluido supercrítico*. La densidad, viscosidad y otras propiedades de los fluidos supercríticos son intermedias entre las propiedades de esa sustancia en estado gaseoso y en estado líquido. La tabla 29.1 compara algunas propiedades de los fluidos supercríticos con las de gases y líquidos típicos. Las propiedades son importantes en la cromatografía de gases, líquidos y fluidos supercríticos, así como para la extracción.

En la tabla 29.2 se enlistan las propiedades de cuatro de las aproximadamente dos docenas de compuestos que han sido empleados como fases móviles en cromatografía de fluidos supercríticos. Observe que sus temperaturas críticas y las presiones a estas temperaturas quedan dentro de las condiciones habituales de trabajo en la cromatografía de líquidos de alta resolución.

Una propiedad importante de los fluidos supercríticos, que está relacionada con sus densidades elevadas (de 0.2 a 0.5 g/cm³), es su capacidad para disolver moléculas grandes no volátiles. Por ejemplo, el dióxido de carbono supercrítico disuelve fácilmente *n*-alcanos que poseen entre 5 y 22 átomos de carbono, ftalatos de di-*n*-alquilo en los cuales los grupos alquilo contienen entre 4 y 16 átomos de carbono y diversos hidrocarburos aromáticos policíclicos que presentan varios anillos. Cabe señalar que ciertos procesos industriales importantes se basan en la elevada solubilidad de las especies orgánicas en dióxido de carbono supercrítico. Por ejemplo, se ha empleado este medio para extraer la cafeína de los granos de café y obtener café descafeinado o en la extracción de la nicotina del tabaco.

Una segunda propiedad notable de los fluidos supercríticos es que los analitos disueltos en ellos se recuperan con facilidad dejando que las soluciones se equilibren con la atmósfera a temperaturas relativamente bajas. Entonces, un analito disuelto en dióxido de carbono supercrítico, que es el solvente que se emplea con más frecuencia, se recupera al reducir la presión y dejar que el fluido se evapore en las condiciones ambientales del laboratorio. Esta propiedad es en particular importante en el caso de los analitos termolábiles. Otra ventaja de muchos de los fluidos supercrí-



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

TABLA 29.1 Comparación de las propiedades de los fluidos supercríticos con las de gases y líquidos.

Propiedad	Gas (T y P estándares)	Fluido supercrítico	Líquido
Densidad, g/cm ³	$(0.6-2) \times 10^{-3}$	0.2-0.5	0.6-2
Coefficiente de difusión, cm ² /s	$(1-4) \times 10^{-1}$	10^{-3} - 10^{-4}	$(0.2-2) \times 10^{-5}$
Viscosidad, g cm ⁻¹ s ⁻¹	$(1-3) \times 10^{-4}$	$(1-3) \times 10^{-4}$	$(0.2-3) \times 10^{-2}$

Nota: Los datos se indican sólo con un orden de magnitud.

ticos es que son baratos e inoos. El dióxido de carbono como fluido supercrítico es sobre todo útil para extracciones y cromatografía. Para finalizar, los fluidos supercríticos tienen la ventaja de que las difusividades de los solutos son un orden de magnitud superiores a las de los solventes líquidos y las viscosidades son un orden de magnitud inferiores. Estas dos últimas ventajas son importantes tanto en cromatografía como en extracciones con fluidos supercríticos.

29B CROMATOGRAFÍA DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

La cromatografía de fluidos supercríticos (SFC), en la cual la fase móvil es un fluido supercrítico, es un híbrido de la unión de cromatografía de gases (GC) y cromatografía de líquidos (LC) en la que se combinan algunas de las mejores características de cada una. En ciertas aplicaciones es superior a la GC y la HPLC.¹ En 1985, varios fabricantes de instrumentos empezaron a ofrecer equipos especialmente diseñados para la cromatografía de fluidos supercríticos, y su uso sigue en expansión. La técnica de la cromatografía de fluidos supercríticos se ha vuelto una herramienta importante en los laboratorios industriales, reguladores y académicos.

¹Para mayor información sobre SFC, véase *Practical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, M. Caude y D. Thiebaut, eds., Amsterdam: Harwood, 2000; *Supercritical Fluid Chromatography with Packed Columns, Techniques and Applications*, K. Anton y C. Berger, eds., Nueva York: Dekker, 1998; L. Taylor en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., cap. 11, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1997.

La cromatografía de fluidos supercríticos es de gran importancia porque permite la separación y determinación de un grupo de compuestos que no son manejados de manera conveniente ni por la cromatografía de gases ni por la de líquidos. Estos compuestos son 1) no volátiles o térmicamente inestables para los que la cromatografía de gases es inaplicable y 2) no contienen grupos funcionales que permitan la detección mediante técnicas espectroscópicas o electroquímicas que se utilizan en cromatografía de líquidos de alta resolución. Chester² calculó que hasta 25% del total de los problemas de separación a los que se enfrentan los científicos actuales son mezclas que contienen tales especies de difícil estudio.

29B.1 Instrumentos y variables de operación

Como ya se mencionó, las presiones y las temperaturas necesarias para crear los fluidos supercríticos a partir de los diversos gases y líquidos se ajustan bien dentro de los límites de trabajo de un equipo de HPLC corriente. Por consiguiente, como se muestra en la figura 29.1, los instrumentos para la cromatografía de fluidos supercríticos son parecidos en muchos aspectos a los que se usan en la HPLC y que se describen en la sección 28C.³ Pero hay dos diferencias importantes entre ellos. Primero, es necesario un horno de columna con termostato, similar al que se emplea en cromatografía de gases (sección 27B.3), para proporcionar un control preciso de la temperatura de la fase móvil; se-

²T. L. Chester, *J. Chromatogr. Sci.*, **1986**, 24, p. 226.

³Descripciones de instrumentos comerciales para cromatografía de fluidos supercríticos se encuentran en C. M. Harris, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 87A; B. Erikson, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, p. 683A.

TABLA 29.2 Propiedades de algunos fluidos supercríticos.

Fluido	Temperatura crítica, °C	Presión crítica, atm	Densidad en el punto crítico, g/mL	Densidad a 400 atm, g/mL
CO ₂	31.3	72.9	0.47	0.96
N ₂ O	36.5	71.7	0.45	0.94
NH ₃	132.5	112.5	0.24	0.40
n-Butano	152.0	37.5	0.23	0.50

Fuente: Según M. L. Lee y K. E. Markides, *Science*, **1987**, 235, p. 1345, con autorización. Información tomada de *Matheson Gas Data Book* y *CRC Handbook of Chemistry and Physics*.

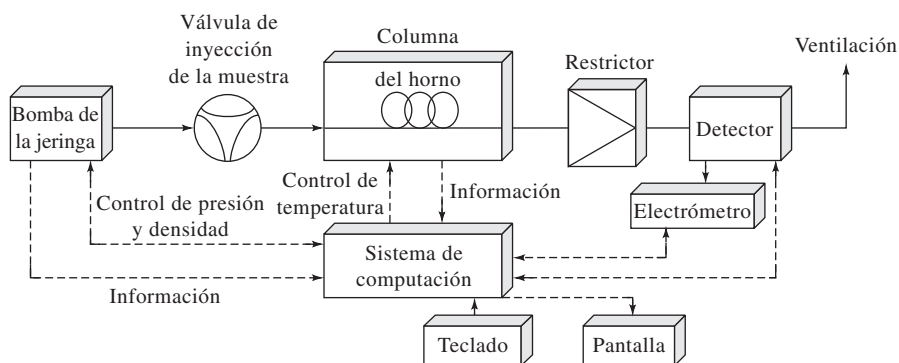


FIGURA 29.1 Diagrama de bloques de un instrumento para cromatografía de fluidos supercríticos.

gundo, se utiliza un restrictor, o un dispositivo de contrapresión, para mantener la presión de la columna en el nivel deseado y para convertir el eluyente de un fluido supercrítico en un gas y arrastrarlo al detector. Un restrictor típico para una columna tubular abierta de 50 a 100 μm consiste de un capilar de 2 a 10 cm de longitud y 5 a 10 μm de diámetro, el cual está directamente unido al extremo final de la columna. Esto facilita el empleo de restrictores intercambiables con diámetros de entrada diferentes, lo cual proporciona distintas tasas de flujo para cualquier presión de bombeo dada. El restrictor también puede formar parte de la columna si el extremo de ésta se estira en una flama.

Como se muestra en la figura 29.1, los parámetros de un instrumento comercial para cromatografía de fluidos supercríticos, como presión de bombeo, temperatura del horno y funcionamiento del detector se controlan mediante una computadora.

Efectos de la presión

Las variaciones de presión en cromatografía de fluidos supercríticos tienen un efecto muy marcado sobre el factor de retención k y, por tanto, en el tiempo de retención t_R . La densidad de un fluido supercrítico se incrementa con rapidez y en forma no lineal a medida que aumenta la presión. Tal incremento de la densidad origina un aumento de la capacidad disolvente de la fase móvil, lo cual acorta los tiempos de elución. Por ejemplo, el tiempo de elución del hexadecano desciende de 25 a 5 minutos cuando la presión del dióxido de carbono aumenta de 70 a 90 atmósferas. Un efecto similar al de la programación de la temperatura en HPLC se logra con un incremento lineal en la presión de la columna o al regular la presión para crear incrementos lineales de densidad. En la figura 29.2 se ilus-

tra la mejora que se alcanza en los cromatogramas cuando se lleva a cabo una programación de la presión. La descompresión de los fluidos mientras se desplazan por la columna ocasiona cambios en la temperatura que afectan las separaciones y las mediciones termodinámicas. A menudo, los perfiles de presión más comunes en cromatografía de fluidos supercríticos son constantes (isobáricos) en un tiempo dado seguido por un incremento lineal o asintótico hasta una presión final. Además de la programación de la presión, se puede usar la programación de la temperatura y los gradientes de fase móvil.

Muestra: 1. octanoato de colesterilo
2. decilato de colesterilo
3. laurato de colesterilo
4. miristato de colesterilo
5. palmitato de colesterilo
6. estearato de colesterilo

Columna: DB-1
Fase móvil: CO_2
Temperatura: 90°C
Detector: de ionización por flama

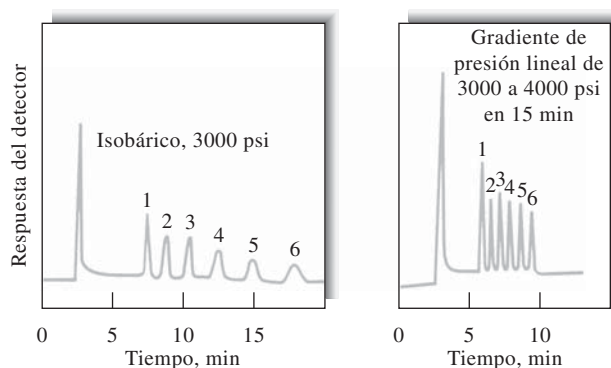


FIGURA 29.2 Efecto de programar la presión en cromatografía de fluidos supercríticos. Observe el tiempo más reducido del cromatograma con gradiente de presión a la derecha en comparación con el cromatograma a presión constante (isobárico) a la izquierda. (Cortesía de Brownlee Labs, Santa Clara, CA.)



Simulación: aprenda más acerca de la **cromatografía de fluidos supercríticos**.

Fases estacionarias

En cromatografía de fluidos supercríticos se emplean tanto las columnas rellenas como las columnas tubulares abiertas. Las columnas rellenas proporcionan más platos teóricos y manejan volúmenes más grandes de muestra que las columnas tubulares abiertas. Debido a la baja viscosidad de los medios supercríticos, las columnas deben ser mucho más largas que las empleadas en cromatografía de líquidos, por lo que las longitudes de columna de 10 a 20 m y diámetros interiores de 50 a 100 μm son comunes en las columnas tubulares abiertas. En el caso de separaciones difíciles, se usan columnas de 60 m o más. Las columnas tubulares abiertas son similares a las de sílice fundida con paredes revestidas que se tratan en la sección 27C.1. Las columnas rellenas están hechas de acero inoxidable de 10 a 25 cm de largo. En las columnas rellenas se han logrado más de 100 000 platos.

Muchos de los revestimientos de columna que se utilizan en cromatografía de líquidos también se aplican en cromatografía de fluidos supercríticos. Los más comunes son los polisiloxanos (véase sección 27C.3) unidos químicamente a la superficie de las partículas de sílice o a las paredes internas de sílice de los capilares. Los espesores de las películas son de 0.05 a 0.4 μm .

Fases móviles

La fase móvil que se utiliza más ampliamente en cromatografía de fluidos supercríticos es el dióxido de carbono. Es un solvente excelente para un conjunto de moléculas orgánicas no polares. Además, transmite en la región ultravioleta y es inodoro, no tóxico, se consigue con facilidad y es muy barato en comparación con otros solventes cromatográficos. Su temperatura crítica de 31°C y su presión crítica de 72.9 atmósferas permiten seleccionar una amplia gama de temperaturas y presiones sin superar los límites de operación de un equipo para cromatografía de líquidos de alta resolución moderno. En algunas aplicaciones, los modificadores polares orgánicos, como el metanol, se introducen en pequeñas concentraciones (~1%) para modificar los valores de α de los analitos.

En cromatografía de fluidos supercríticos, el etano, pentano, diclorodifluorometano, éter dietílico, amoníaco y tetrahydrofurano también se usan como fases móviles.

Detectores

La principal ventaja de la cromatografía de fluidos supercríticos frente a la cromatografía de líquidos de alta resolución es que se puede utilizar detectores de ionización por flama como en la cromatografía de gases. Como se indica en la sección 27B.4, este detector es de *respuesta universal* para compuestos orgánicos, de elevada sensibilidad y exento de problemas. Los espectrómetros de masa también se pueden adaptar con mayor

facilidad como detectores para SFC que para HPLC. Muchos de los detectores que se emplean en cromatografía de líquidos se emplean también en SFC, entre ellos los de absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo, de emisión de fluorescencia, termoiónico y fotométrico de flama.

29B.2 Comparación con otros tipos de cromatografía

Los datos de las tablas 29.1 y 29.2 ponen de manifiesto que varias propiedades de los fluidos supercríticos son intermedias entre las de los gases y las de los líquidos. Por tanto, este nuevo tipo de cromatografía combina algunas características tanto de la cromatografía de gases como de la de líquidos. Por ejemplo, al igual que la cromatografía de gases, la cromatografía de fluidos supercríticos es inherentemente más rápida que la cromatografía de líquidos debido a que la viscosidad más baja permite tasas de flujo más elevadas. Las velocidades de difusión en los fluidos supercríticos son intermedias entre las de los gases y las de los líquidos. Por consiguiente, el ensanchamiento de banda es mayor en los fluidos supercríticos que en los líquidos, pero menor que en los gases. Entonces, en teoría, las difusividades y las viscosidades intermedias de los fluidos supercríticos deben dar lugar a separaciones más rápidas que las que se obtienen con la cromatografía de líquidos, a la vez que deberían acompañarse de un ensanchamiento de zona más bajo que el que se obtiene en cromatografía de gases.

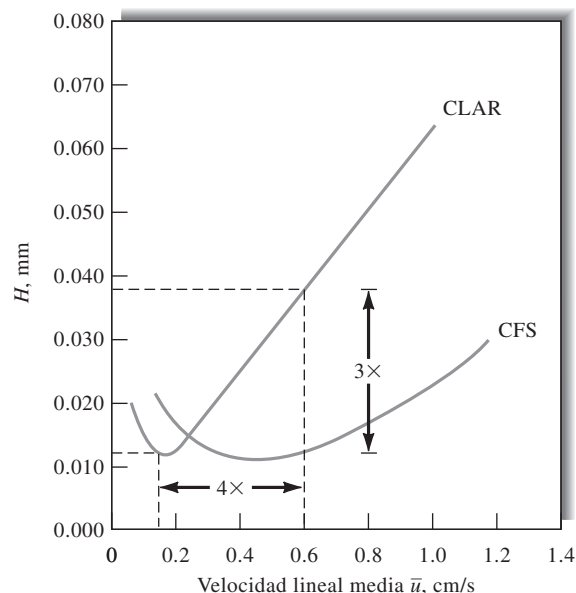


FIGURA 29.3 Características de rendimiento de una columna de sílice enlazada químicamente con octadecilo (C_{18}) de 5 μm cuando se lleva a cabo la elución con una fase móvil ordinaria (HPLC) y SFC con dióxido de carbono supercrítico. (Tomado de D. R. Gere, *Application Note 800-3*, Hewlett-Packard Corp., Palo Alto, CA, 1983. Con autorización.)

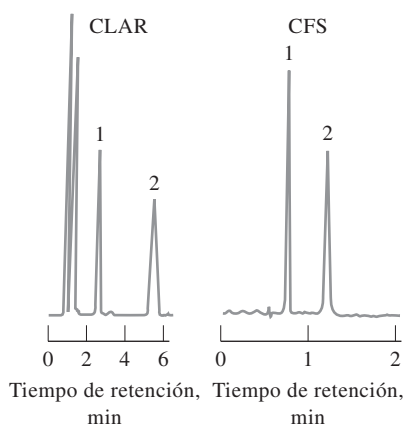


FIGURA 29.4 Comparación entre los cromatogramas obtenidos por cromatografía de reparto ordinaria (HPLC) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC). Columna: 20 cm × 4.6 mm rellena con una fase inversa enlazada químicamente de 10 μ m. Analitos: 1) bifenil, 2) terfenil. Para la HPLC: fase móvil 65% de CH₃OH y 35% de H₂O; tasa de flujo, 4 mL/min; velocidad lineal, 0.55 cm/s; tamaño de la muestra 10 μ L. Para la SFC: fase móvil, CO₂; tasa de flujo, 5.4 mL/min; velocidad lineal, 0.76/s; tamaño de la muestra, 3 μ L. (Tomado de D. R. Gere, T. J. Stark y T. N. Tweeten, *Application Note 800-4*, Hewlett-Packard Corp., Palo Alto, CA, 1983. Con autorización.)

En las figuras 29.3 y 29.4 se comparan las características de desempeño de una columna rellena cuando la elución se desarrolla con dióxido de carbono supercrítico y una fase móvil líquida ordinaria. En la figura 29.3 se puede ver que a una velocidad lineal de la fase móvil de 0.6 cm/s, la columna supercrítica da una altura de plato de 0.013 mm en tanto que la altura de plato con un eluyente líquido es tres veces mayor, es decir, 0.039 mm. Por consiguiente, con la SFC debería obtenerse una reducción de la anchura de pico por un factor de $\sqrt{3}$. Por otra parte, la velocidad lineal se incrementa por un factor de 4 en la altura de plato correspondiente al mínimo de la curva en HPLC; esta ganancia tendría como resultado una reducción de los tiempos de análisis a la cuarta parte. Estas ventajas se reflejan en los cromatogramas que se muestran en la figura 29.4.

La fase móvil desempeña papeles diferentes en cromatografía de gases, de líquidos y de fluidos supercríticos. Por lo regular, en la cromatografía de gases, la fase móvil sirve a un único propósito, a saber, el desplazamiento de zona. Como se explica en el capítulo 28, en la cromatografía de líquidos la fase móvil sirve no sólo para el transporte de los solutos, sino que también interacciona con los solutos con lo cual influye en los factores de selectividad (valores de α). Cuando una molécula se disuelve en un medio supercrítico, el proceso se parece a la volatilización, pero como si ésta se llevara a cabo a una temperatura mucho más baja de la que normalmente se utilizaría en cromatografía de gases. Por

consiguiente, a una temperatura dada la presión de vapor de una molécula grande en un fluido supercrítico puede ser 10^{10} veces mayor que en ausencia de este fluido. Por tanto, los compuestos de elevada masa molecular, especies térmicamente inestables, polímeros y moléculas grandes de interés biológico pueden ser eluidas de la columna a temperaturas relativamente bajas. Puede haber interacciones entre las moléculas del soluto y las moléculas de un fluido supercrítico, lo cual explica la solubilidad de aquéllas en estos medios. Por tanto, el poder disolvente es una función de la composición química y de la densidad del fluido. Entonces, y a diferencia de lo que sucede en la cromatografía de gases, existen posibilidades de modificar los valores de α al cambiar la fase móvil.

En la figura 29.5 se compara el campo de aplicación de la cromatografía de fluidos supercríticos con la cromatografía de gases (GC), la cromatografía de líquidos (LC) y la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Observe que tanto la cromatografía de líquidos como la de fluidos supercríticos son aplicables a masas moleculares de varios órdenes de magnitud mayores que las que se manejan en la cromatografía de gases. Como ya se ha señalado antes, la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) se aplica a moléculas aun más grandes.

29B.3 Aplicaciones

La cromatografía de fluidos supercríticos se ha aplicado a la separación de un amplio conjunto de sustancias, entre los que se cuentan productos naturales, fármacos, alimentos, plaguicidas y herbicidas, tensoactivos, polímeros, aditivos de polímeros, combustibles fósiles, explosivos y propelentes. Una de las aplicaciones más importantes de esta técnica es la separación quiral, sobre todo en la industria farmacéutica.⁴ Las mayores

⁴K. W. Phinney, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 204A.

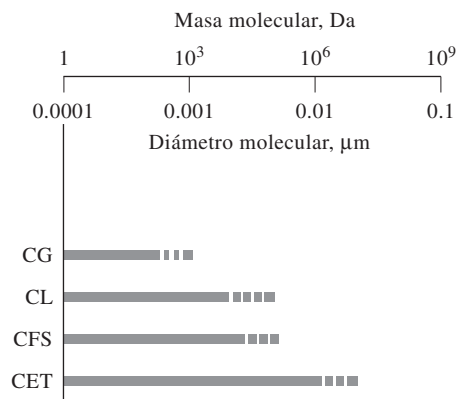


FIGURA 29.5 Intervalo de masas y tamaños moleculares en los que se pueden aplicar diferentes técnicas cromatográficas en columna. (Según M. L. Lee y K. E. Markides, *Science*, **1987**, p. 235. Con autorización.)

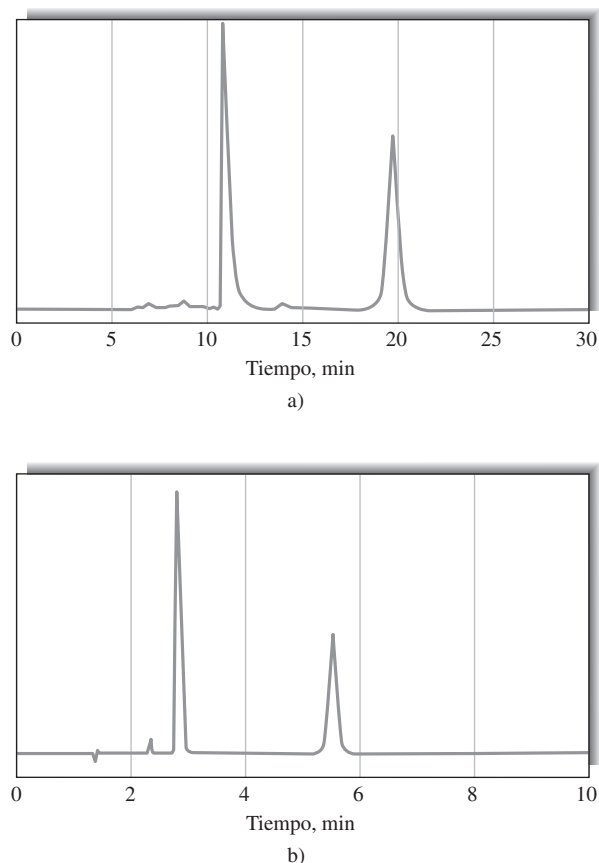


FIGURA 29.6 Separación de enantiómeros de metoprolol mediante CLAR a) y cromatografía de fluidos supercríticos b) en una fase estacionaria de Chiralcel OD. En a) la fase móvil era 20% de 2-propanol en hexano con dietilamina a 1%; selectividad $\alpha = 2.67$ y resolución $R_s = 4.8$. En b), el CO_2 que se usó contenía metanol a 20% e isopropilamina a 0.5%; $\alpha = 2.77$ y $R_s = 12.7$. (Adaptación de M. S. Villeneuve y R. J. Anderegg, *J. Chromatogr. A*, **1998**, 826, p. 217.)

velocidades de difusión en la cromatografía de fluidos supercríticos respecto a los eluyentes de la cromatografía de líquidos ocasionan una resolución mayor y picos más definidos para conseguir mediciones exactas de la pureza de enantiómeros. En la figura 29.6 se muestra la separación de los enantiómeros del metoprolol, un fármaco bloqueador beta, mediante HPLC y SFC. Ambos métodos logran una resolución completa de los enantiómeros, pero la separación requiere sólo seis minutos en la cromatografía de fluidos supercríticos en comparación con los 22 minutos que necesita la cromatografía de líquidos de alta resolución. Asimismo, observe la resolución superior y los picos más simétricos que se obtienen con la cromatografía de fluidos supercríticos. Además de esta resolución más alta, el tiempo que se requiere para aplicar el método también puede disminuir con la cromatografía de fluidos supercríticos en comparación con los métodos de

la HPLC, porque la resolución deseable en el caso de los enantiómeros se logra sin investigar tantas fases estacionarias y móviles como en la cromatografía de líquidos de alta resolución. En los casos en que una sola columna es insuficiente para obtener la separación deseada, la menor caída de presión en cromatografía de fluidos supercríticos facilita acoplar columnas con diferentes fases estacionarias. Las separaciones quirales de preparación mediante cromatografía de fluidos supercríticos llaman mucho la atención porque la fase móvil se puede eliminar con facilidad simplemente ventilando el CO_2 .

La cromatografía de fluidos supercríticos también es muy útil en las separaciones quirales. En las figuras 29.7, 29.8 y 29.9 se ilustran tres aplicaciones características de esta técnica. En la figura 29.7 se ilustra la separación de una serie de oligómeros del dimetilpolisiloxano cuyas masas moleculares están comprendidas entre 400 y 700 Da. Este cromatograma se obtuvo con una columna capilar de sílice fundida de 10 m $\times$ 100 μm de diámetro interno y revestida con una película de fenil polisiloxano a 5% de 0.25 μm de espesor. La fase

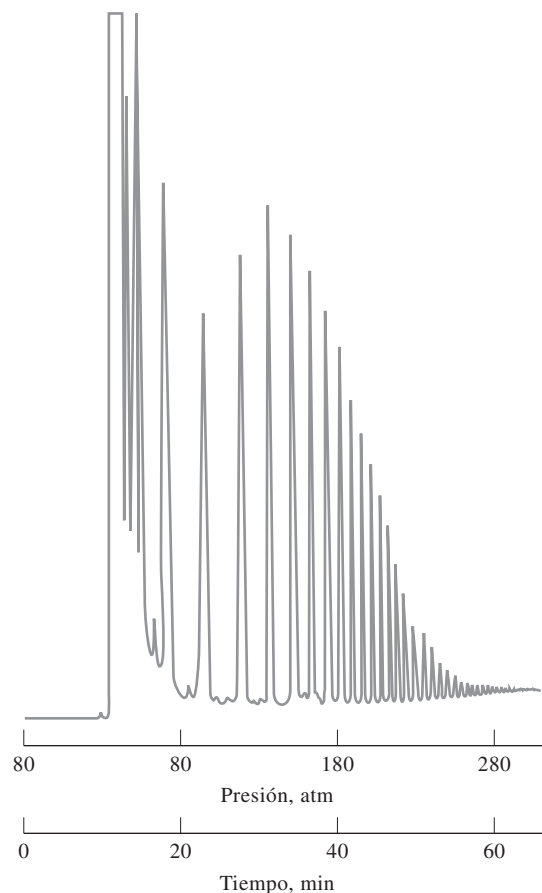


FIGURA 29.7 Separación de los oligómeros de dimetilpolisiloxano mediante cromatografía de fluidos supercríticos. (Tomado de C. M. White y R. K. Houck, *HRC&CC*, **1986**, 9, p. 4. Con autorización.)

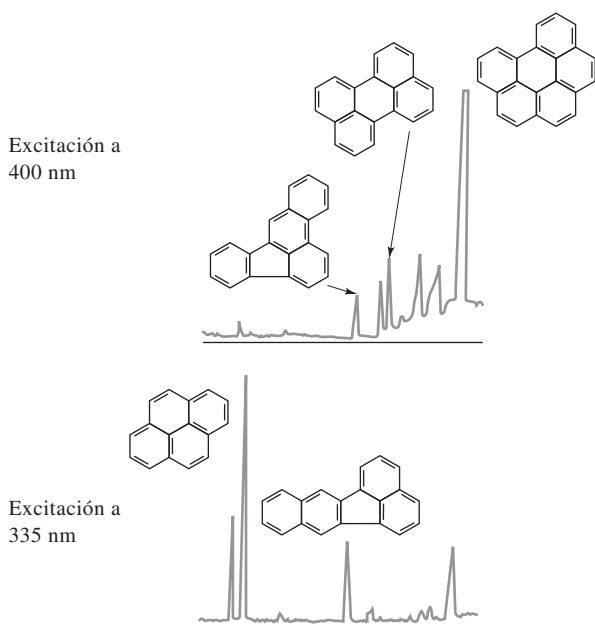


FIGURA 29.8 Partes de cromatogramas de fluidos supercríticos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en un extracto de negro de carbón en las que se ilustra la selectividad obtenida mediante la excitación de fluorescencia a dos longitudes de onda. (Tomados de C. M. White y R. K. Houck, *HRC&CC*, **1986**, 9, p. 4. Con autorización.)

móvil fue CO_2 a 140°C y se utilizó la siguiente programación de presión: 80 atmósferas durante 20 minutos, seguido de un gradiente lineal de 80 a 280 atmósferas a razón de 5 atm/min. Se utilizó un detector de ionización por flama.

La figura 29.8 muestra la separación de hidrocarburos aromáticos policíclicos extraídos de negro de carbón. La detección se llevó a cabo provocando la fluorescencia a dos longitudes de onda diferentes. Observe la selectividad aportada por esta técnica. El cromatograma se obtuvo con una columna capilar de $40\text{ m} \times 50\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro interior revestida con una película de polisiloxano de fenilo a 50% y de $0.25\text{ }\mu\text{m}$ de espesor. La fase móvil fue pentano a 210°C y se aplicó la siguiente programación: la densidad inicial de la fase móvil se conservó a 0.07 g/mL durante 24 minutos y después un programa de aumento asintótico de la densidad hasta llegar a 0.197 g/mL .

La figura 29.9 ilustra una separación de los oligómeros de una muestra del tensoactivo no iónico Triton X-100. Para la detección se requirió medir la corriente iónica total producida por espectrometría de masas con ionización química. La fase móvil fue dióxido de carbono con 1% en volumen de metanol. Se empleó una columna capilar de 30 m revestida con una película de $1\text{ }\mu\text{m}$ de fenilpolisiloxano a 5%. La presión de la columna se incrementó linealmente a una velocidad de 2.5 bares/minuto .

En las publicaciones especializadas más recientes se encuentran varios artículos sobre las aplicaciones de la cromatografía de fluidos supercríticos.⁵

29C EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Los análisis de materiales complejos requieren con frecuencia como paso previo la separación del analito o analitos de la matriz en que se encuentra la muestra. Lo ideal es que un método analítico de separación sea rápido, sencillo y barato; debe producir recuperaciones cuantitativas de los analitos sin pérdidas o degradaciones; debe rendir una solución de analito que esté lo suficientemente concentrada como para permitir la medición final sin que sean necesarios procesos de concentración y debe generar poco o nada de productos de deshecho.

Durante muchos años, uno de los métodos más comunes para llevar a cabo separaciones analíticas en muestras complejas de origen ambiental, farmacéutico, alimentario y de petróleo se basó en la obtención de muestras con solventes orgánicos clorados o hidro-

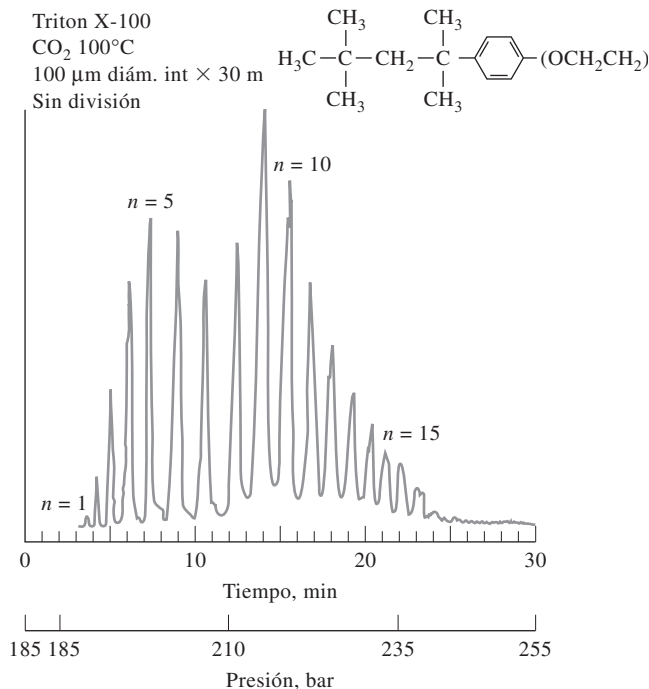


FIGURA 29.9 Cromatogramas del tensoactivo no iónico Triton X-100 con detección de espectrometría de masas de corriente total. (Reimpreso con autorización de R. D. Smith y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 17. Copyright 1981 American Chemical Society.)

⁵M. C. Henry y C. R. Yonker, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3909; T. L. Chester y J. D. Pinkston, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 4606; T. L. Chester y J. D. Pinkston, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2901; T. L. Chester y J. D. Pinkston **2000**, 72, p. 129R; T. L. Chester, J. D. Pinkston y D. B. Raynie, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 301R.

carburos mediante un extractor Soxhlet. Por desgracia, a menudo las extracciones con líquidos no poseen las características ideales que ya se mencionaron. Por lo regular, estos procedimientos necesitan varias horas para alcanzar recuperaciones satisfactorias del analito, y algunas veces no se consiguen. Los precios de los solventes son elevados. A menudo, las soluciones de los analitos recuperados están tan diluidas que tras la extracción debe llevarse a cabo un proceso de concentración, el cual puede ir acompañado de la degradación y pérdida de analito, así como de contaminación atmosférica con el mismo.

La extracción en fase sólida o extracción líquido-sólido, puede superar varios de estos problemas.⁶ En las técnicas de extracción de fase sólida se requiere usar membranas o pequeñas columnas de barril con jeringa o cartuchos desechables. Un compuesto orgánico hidrófobo se recubre o se une químicamente a sílice en polvo para formar la fase sólida extractora. Los compuestos pueden ser no polares, moderadamente polares o polares. Por ejemplo, un octadecilo (C_{18}) unido a sílice es un relleno común. Los grupos funcionales unidos químicamente al relleno atraen compuestos hidrófobos presentes en la muestra mediante interacciones de van der Waals y los extraen de la solución acuosa.

La cromatografía de fluidos supercríticos es otra manera de evitar muchos de los problemas que son comunes al extraer los líquidos orgánicos. A mediados de los años ochenta los químicos empezaron a investigar el empleo de los fluidos supercríticos para separar analitos. Estas extracciones demostraron tener muchas ventajas como se explica en las siguientes secciones.⁷

29C.1 Ventajas de la extracción con fluidos supercríticos

Algunas de las ventajas de las extracciones con fluidos supercríticos son las siguientes:

1. En general, la SFE es rápida. La velocidad de transferencia de masa entre la matriz de una muestra y un fluido de extracción se determina mediante la velocidad de difusión de la especie en el fluido y por la viscosidad de éste; cuanto mayor sea la velocidad de difusión y menor la viscosidad, tanto mayor es la velocidad de transferencia de masa. Como ya se señaló antes, ambas variables son más favorables para los fluidos supercríticos que para un solvente líquido

ordinario. Por tanto, la extracción con fluidos supercríticos se completa generalmente entre 10 y 60 minutos, mientras que las extracciones con líquido orgánico necesitarían varias horas e incluso días.

2. El poder disolvente de un fluido supercrítico puede modificarse cambiando la presión y, con menor alcance, la temperatura. Por el contrario, el poder disolvente de un líquido orgánico es en esencia constante e independiente de las condiciones. Esta propiedad permite que las condiciones para la extracción con fluidos supercríticos puedan ser mejoradas para una clase de analitos dada.
3. Muchos de los fluidos supercríticos son gases a temperatura ambiente. Por consiguiente, la recuperación de los analitos es sencilla en comparación con las de los líquidos orgánicos, ya que éstos deben vaporizarse por calentamiento, lo que lleva a una posible descomposición en el caso de analitos térmicamente inestables, o bien, a pérdidas en el caso de analitos volátiles. En cambio, un fluido supercrítico puede separarse del analito simplemente al disminuir la presión. Otra posibilidad es que una corriente de analito se puede hacer burbujear en un pequeño frasco que contenga un buen solvente del analito, el cual se disolverá en un pequeño volumen de solvente.
4. Algunos fluidos supercríticos son baratos, inertes y no tóxicos. Por tanto, se les puede eliminar con facilidad una vez que se ha finalizado la extracción dejando que se evaporen a la presión atmosférica.

29C.2 Instrumentos

Los instrumentos para la SFE pueden ser relativamente sencillos, como se muestra en la figura 29.10. Entre los componentes instrumentales están una fuente o depósito del fluido, casi siempre un tanque de dióxido de carbono; una bomba de desplazamiento que tenga un valor de presión de al menos 400 atmósferas y una tasa de flujo para el fluido presurizado de al menos 2 mL/minuto; una válvula para controlar el flujo del fluido crítico en una celda de extracción calentada y cuya capacidad sea de unos pocos mililitros; una válvula de salida que lleve a un restrictor de flujo que despresurice el fluido y lo vierta en el interior de un recipiente. En los instrumentos más sencillos, el restrictor de flujo es simplemente un capilar de 10 a 50 cm de longitud. En los instrumentos comerciales modernos más complejos, los restrictores son variables y se controlan en forma manual o automática. Los diversos fabricantes de instrumentos ofrecen distintos tipos de aparatos para extracción con fluidos supercríticos.⁸

Un sistema de extracción de fluidos supercríticos puede actuar de dos maneras. En el modo de extracción dinámica, la válvula entre la celda de extracción y

⁶Para mayor información véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, cap. 30.

⁷Véase *Supercritical Fluids as Solvents and Reaction Media*, G. Brunner, ed., Amsterdam: Elsevier, 2004, cap. 4; *Practical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, M. Caude y D. Thiebaut, eds., Amsterdam: Harwood, 2000; *Supercritical Fluids in Chromatography and Extraction*, R. M. Smith y S. B. Hawthorne, eds., Amsterdam: Elsevier, 1997; L. Taylor en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., cap. 11, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997; L. T. Taylor, *Supercritical Fluid Extraction*, New York: Wiley, 1996.

⁸Véase B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 333A; F. Wach, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 369A.

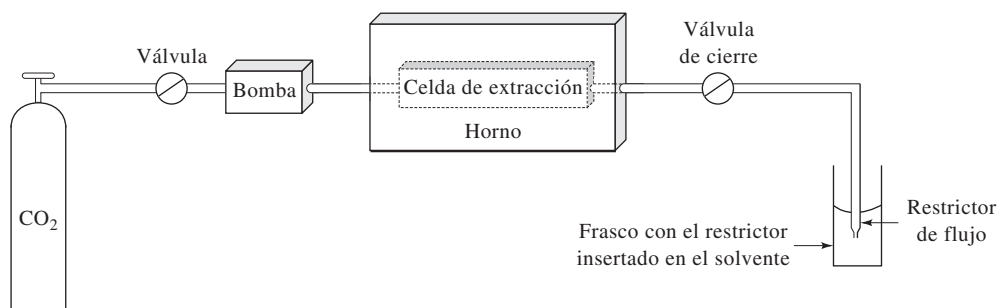


FIGURA 29.10 Disposición característica de un sistema de extracción de fluidos supercríticos independiente. La válvula de cierre es imprescindible en la EFS estática pero no en la dinámica.

el restrictor permanece abierta de manera que el fluido supercrítico fresco llega continuamente a la muestra y la sustancia extraída fluye sin interrupción hacia el recipiente donde se recolecta y donde tiene lugar la despresurización. En el modo de extracción estática, la válvula entre la celda de extracción y el restrictor está cerrada y la celda de extracción está presurizada en condiciones estáticas. Después de un periodo adecuado la válvula de salida se abre y el contenido de la celda se transfiere a través del restrictor mediante un flujo dinámico por bombeo del fluido. El modo dinámico se usa más ampliamente que el modo estático.

29C.3 Elección del fluido supercrítico

Se han empleado como medios de extracción docenas o más de fluidos supercríticos, pero por encima de todos, al igual que en cromatografía de fluidos supercríticos, la sustancia más ampliamente utilizada es el dióxido de carbono o el dióxido de carbono que contiene algún modificador orgánico. La elección del mejor fluido se determina a partir de un número de variables entre las que están la polaridad y la solubilidad de los analitos y de los componentes de la matriz, la naturaleza física de la matriz, la concentración de los analitos, la humedad de las muestras, así como consideraciones cinéticas.⁹ Por desgracia, la teoría actual de las extracciones con fluidos supercríticos es imperfecta y las condiciones finales, en la mayoría de los casos, se tienen que determinar en forma empírica. El dióxido de carbono es el fluido que se elige para la mayoría de los estudios. Es un solvente excelente para especies no polares, como alcanos y terpenos, y es un medio de extracción aceptable para especies moderadamente polares como hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados, aldehídos, ésteres, alcoholes, plaguicidas organoclorados y grasas. Por lo general, no es un buen medio de extracción para compuestos de elevada polaridad a menos que se modifique mediante la adición de modificadores de muy elevada polaridad como el metanol. Los modificadores se pueden introducir en el

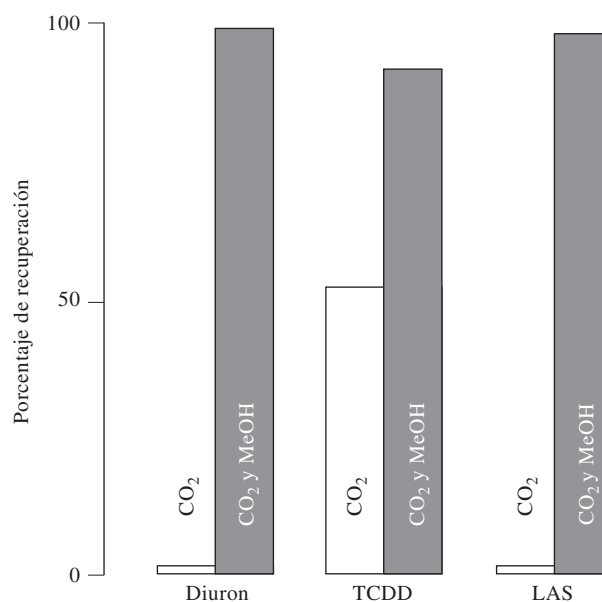


FIGURA 29.11 Comparación de las eficiencias de extracción obtenidas con CO₂ y CO₂ modificado con metanol. Las muestras son de suelos. Todas las extracciones duraron 30 minutos. El diuron es un herbicida común que es un derivado aromático sustituido de la urea. La TCDD es la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina. El LAS es un detergente lineal de alquilbencenosulfonato.

sistema de extracción bien por medio de una segunda bomba o por inyección del modificador en la muestra antes de la extracción.

Se utiliza una gran cantidad de modificadores para aumentar la polaridad del dióxido de carbono como fluido supercrítico, entre los que se encuentran alcoholes de baja masa molecular, carbonato de propileno, 2-metoxietanol, cloruro de metileno y ciertos ácidos orgánicos. El modificador más común es el metanol. La figura 29.11 demuestra la mejora en la eficacia de la extracción de diversos materiales provenientes de muestras de suelos en presencia de pequeñas cantidades de metanol.

⁹Para revisar los efectos de muchas de estas variables, véase M. E. P. McNally, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 308A.

TABLA 29.3 Algunas aplicaciones típicas de la extracción con fluidos supercríticos.

Material	Analito*	Fluidos supercríticos	Tiempo de extracción, min	Recuperación independiente (1) y en línea (2)
Suelos	Plaguicidas	CO ₂	20	1
Sedimentos de río	PAH	CO ₂ /5% MeOH	120	1
Humo, polvo urbano	PAH	CO ₂	15	2
Lecho de vía férrea	PCB, PAH	CO ₂ /MeOH	45	1
Alimentos	Grasas	CO ₂ /MeOH	12	1
Especias, goma de mascar	Aromas y fragancias	CO ₂	10	2
Suero	Colesterol	CO ₂	30	1
Carbón, cenizas en suspensión	PCB, dioxinas	CO ₂	15	2
Polímeros	Aditivos y oligómeros	CO ₂	15	2
Tejidos animales	Residuos de fármacos	CO ₂	9	1

*PAH = hidrocarburos aromáticos policíclicos; PCB = bifenilos policlorados.

29C.4 Extracciones independientes y en línea

Para recuperar los analitos después de la extracción se aplican dos tipos de metodología: *independiente* y *en línea*. En la recolección independiente, que es la más simple de las dos, los analitos se recogen sumergiendo el restrictor en unos pocos mililitros de solvente y dejando que el fluido supercrítico gaseoso se escape a la atmósfera (véase figura 29.10). Los analitos también pueden ser recogidos con adsorbentes como la sílice. Los analitos adsorbidos son arrastrados después con un pequeño volumen de solvente líquido. En cualquier caso, los analitos separados se identifican después por cualquiera de los diversos métodos ópticos, electroquímicos o cromatográficos.

En el método de recuperación en línea, el efluente proveniente del restrictor, después de la despresurización, se transfiere directamente a un sistema cromatográfico. En la mayoría de los casos se trata de un cromatógrafo de gases o de un cromatógrafo de fluidos supercríticos, aunque a veces se utiliza un cromatógra-

fo de líquidos de alta resolución. Las principales ventajas de un sistema en línea son la eliminación del manejo de las muestras entre la extracción y la medición y la potencial mejora de la sensibilidad debido a que no se produce dilución de los analitos.

29C.5 Aplicaciones comunes de la extracción de fluidos supercríticos

En las publicaciones especializadas se mencionan cientos de aplicaciones de la extracción de fluidos supercríticos. La mayoría de éstas se relaciona con el análisis de muestras ambientales. Otras tienen que ver con análisis de muestras de alimentos, biomédicas e industriales. En la tabla 29.3 se proporcionan unas pocas aplicaciones representativas de las extracciones de fluidos supercríticos con extracción independiente y en línea. Además de los usos analíticos de la extracción de fluidos supercríticos también se emplea en la preparación y el aislamiento en las industrias farmacéutica y de polímeros.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

29.1 Defina

- Temperatura y presión críticas de un gas.
- Fluido supercrítico.

29.2 ¿Qué propiedades de un fluido supercrítico son importantes en cromatografía?

29.3 ¿En qué se diferencian los instrumentos de la cromatografía de fluidos supercríticos y los de a) HPLC y b) GC?

29.4 Describa el efecto de la presión en los cromatogramas de fluidos supercríticos.

- 29.5** Enumere alguna de las propiedades más ventajosas del CO₂ supercrítico como fase móvil para las separaciones cromatográficas.
- 29.6** Compare la cromatografía de fluidos supercríticos con otros métodos de cromatografía en columna.
- 29.7** Pronostique el efecto que tendrán las siguientes modificaciones sobre el tiempo de elución en SFC con dióxido de carbono supercrítico:
- incremento de la tasa de flujo a temperatura y presión constantes.
 - incremento de la presión a temperatura y tasa de flujo constantes.
 - incremento de la temperatura a presión y tasa de flujo constantes.
- 29.8** Para las extracciones con fluidos supercríticos, diferencie entre:
- procesos de recolección en línea e independiente.
 - extracciones estáticas y dinámicas.
- 29.9** Mencione las ventajas y desventajas de las extracciones con fluidos supercríticos respecto a las extracciones líquido-líquido.
- 29.10** ¿Cómo se recuperan los analitos después de una extracción con fluidos supercríticos?

Problema de reto

- 29.11** En un trabajo reciente, Zheng y *et. al.*, (J. Zheng, L. T. Taylor, J. D. Pinkston y M. L. Mangels, *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1082, p. 220) se analiza la elución de compuestos polares e iónicos con cromatografía de fluidos supercríticos.
- ¿Por qué por lo regular los compuestos muy polares o iónicos no son eluidos con cromatografía de fluidos supercríticos?
 - ¿Qué tipos de aditivos de la fase móvil se usan para mejorar la elución de compuestos altamente polares o iónicos?
 - ¿Por qué no se usa a menudo la cromatografía de fluidos supercríticos de pares de iones?
 - ¿Por qué a veces se añaden sales de amonio como modificadores de la fase móvil en la cromatografía de fluidos supercríticos?
 - Los autores describen un sistema de cromatografía de fluidos supercríticos que se apoya en la espectrometría de masas como detector. Analice la interfase de una unidad de cromatografía de fluidos supercríticos con un espectrómetro de masas. Compare la compatibilidad de la cromatografía de fluidos supercríticos con espectrometría de masas con la de HPLC y GC con espectrometría de masas.
 - Los autores estudiaron el efecto de la presión de salida de la columna sobre la elución de sulfonato 4-dodecibenceno de sodio en tres fases estacionarias diferentes con cinco aditivos para la fase móvil. ¿Qué efecto se observó y cuál es la explicación de dicho efecto?
 - ¿Qué mecanismos de elución consideraron los autores?
 - ¿Qué aditivo para la fase móvil dio la elución más rápida de las sales de sulfonato?
 - ¿Una columna de sílice da resultados similares o diferentes de los de una columna de fase unida químicamente a cianuro?

Electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y fraccionamiento por flujo y campo

En este capítulo se estudian tres métodos de separación relativamente nuevos. Primero se tratan los principios de las separaciones electroforéticas, sobre todo la **electroforesis capilar** y las aplicaciones de esta técnica tan polifacética en varios tipos de problemas analíticos. Se describen la electroforesis capilar de zona, la electroforesis capilar en gel, la isotacoforesis capilar, el enfoque isoeléctrico capilar y la cromatografía micelar electrocinética. Luego se presenta un breve análisis sobre la electrocromatografía. El capítulo concluye con un estudio de los principios y aplicaciones de las técnicas de **fraccionamiento por flujo y campo**, que se utilizan en la separación de polímeros, coloides y otras macromoléculas.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones y ejercicios.

En la electroforesis capilar y la electrocromatografía las separaciones se presentan en un tubo capilar lleno con una solución amortiguadora bajo la influencia de un campo eléctrico, como se puede ver en la figura 30.1. En cambio, las separaciones en el fraccionamiento de flujo de campo se obtienen en un canal de flujo que es similar a un listón delgado bajo la influencia de un campo de sedimentación, eléctrico o térmico que se aplica en forma perpendicular a la dirección del flujo.

30A PANORAMA DE LA ELECTROFORESIS

La *electroforesis* es un método de separación que se basa en la diferente velocidad de migración de especies cargadas dentro de un campo eléctrico de corriente directa. El químico sueco Arne Tiselius investigó por primera vez esta técnica de separación en los años treinta para estudiar las proteínas séricas. En 1948 fue galardonado con el Premio Nobel de Química por estos trabajos.

La electroforesis en macroescala se aplica a una diversidad de problemas de separación analítica difíciles: aniones y cationes inorgánicos, aminoácidos, catecoláminas, fármacos, vitaminas, carbohidratos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, nucleótidos, polinucleótidos y otras numerosas especies.

Una ventaja especial de la electroforesis es su capacidad única de separar macromoléculas cargadas de interés en la investigación bioquímica, biológica y biomédica y en la industria biotecnológica. Durante muchos años la electroforesis ha sido el método de batalla para separar proteínas, como enzimas, hormonas, anticuerpos y ácidos nucleicos (ADN, ARN) con una resolución incomparable. Por ejemplo, para obtener la secuencia de ADN es necesario distinguir entre polinucleótidos de cadena larga que poseen entre 200 y 500 bases y que difieren por un solo nucleótido. Nada más la electroforesis tiene el suficiente poder de resolución para manejar este problema; por ejemplo, sin ella, el Proyecto del Genoma Humano habría sido casi imposible porque el ADN humano contiene alrededor de tres mil millones de nucleótidos.

Una separación electroforética se lleva a cabo mediante la inyección de una pequeña banda de la muestra en una solución amortiguadora alojada en un tubo estrecho o en un medio de soporte poroso y plano, por ejemplo, papel o un gel semisólido. Se aplica un alto voltaje a lo largo de la solución amortiguadora mediante dos electrodos ubicados en los extremos. El campo impulsa los iones de la muestra a emigrar hacia uno u otro de los electrodos. La velocidad de migración

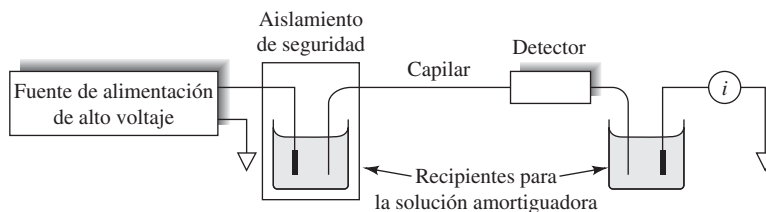


FIGURA 30.1 Esquema de un sistema de electroforesis capilar.

de una especie depende de su carga y también de su tamaño. Por consiguiente, las separaciones se basan en las diferencias de la relación carga-tamaño entre los diferentes analitos presentes en la muestra. Cuanto mayor es esta relación, más rápido migra un ion en el campo eléctrico.

30A.1 Tipos de electroforesis

En la actualidad, las separaciones electroforéticas se llevan a cabo en dos modalidades distintas: *electroforesis ordinaria* y *electroforesis capilar*. La primera es la metodología clásica que se ha utilizado durante muchos años para separar especies complejas, de elevada masa molecular, de interés biológico y bioquímico. Las separaciones ordinarias se efectúan sobre una capa delgada y plana o sobre una placa hecha de un gel semisólido y poroso que contiene una solución amortiguadora acuosa en el interior de sus poros. Esta placa tiene dimensiones de unos pocos centímetros de lado y, al igual que las placas de cromatografía en capa fina, es capaz de separar varias muestras en forma simultánea. Dichas muestras se introducen en la forma de manchas o bandas sobre la placa y se aplica un campo eléctrico de corriente continua a la placa durante un periodo fijo. Al completarse las separaciones, se interrumpe el paso de la corriente y las especies separadas se tiñen para poder verlas de modo similar a como se describió para la cromatografía en capa fina en la sección 28I.2.

Por ahora, la electroforesis ordinaria es la técnica de separación más ampliamente utilizada en biología y bioquímica. Un examen detenido de monografías, libros de texto o revistas de los campos de las ciencias de la vida proporciona cientos de fotografías de desarrollos electroforéticos ordinarios. La electroforesis capilar, que es una versión con instrumentos de la electroforesis, surgió a mediados de los años ochenta y se convirtió en una herramienta importante para una gran diversidad de problemas de separación analítica. En muchos casos, esta nueva modalidad para efectuar separaciones electroforéticas es un sustituto satisfactorio de la electroforesis ordinaria, con diversas e importantes ventajas que se explican más adelante.

30A.2 Fundamentos de las separaciones electroforéticas

La velocidad de migración de un ion, v , en centímetros por segundo, dentro de un campo eléctrico, es igual al producto de la fuerza del campo eléctrico E (V cm^{-1}) por la movilidad electroforética μ_e ($\text{cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$). Es decir,

$$v = \mu_e E \quad (30.1)$$

A su vez, la movilidad electroforética es directamente proporcional a la carga iónica del analito e inversamente proporcional a los factores de retardo por fricción. El campo eléctrico actúa sólo sobre los iones. Si dos especies difieren en la carga o en las fuerzas de fricción, se desplazan por la solución amortiguadora y se separan entre sí. Las especies neutras no se separan. La fuerza de retardo por fricción en un analito cargado se determina a partir del tamaño y de la forma del ion y de la viscosidad del medio en el cual migra. En el caso de iones del mismo tamaño, cuanto mayor es la carga, mayor es la fuerza impulsora y habrá una velocidad de migración más rápida. Para los iones que presenten la misma carga, cuanto menor sea el ion, más pequeña es la fuerza de fricción y la velocidad de migración será más rápida. La *relación carga-tamaño* de los iones combina estos dos efectos. Observe que, a diferencia de la cromatografía, en una separación electroforética sólo se requiere una fase.

30B ELECTROFORESIS CAPILAR

La electroforesis ordinaria es de gran utilidad, aunque también es lenta, laboriosa y difícil de automatizar. Además no proporciona resultados cuantitativos precisos. La investigación y la aplicación de la electroforesis llevada a cabo en tubos capilares tuvieron un crecimiento explosivo durante la segunda mitad de la década de los ochenta y surgieron varios instrumentos comerciales. La *electroforesis capilar* (EC), produce separaciones de alta velocidad y alta resolución con volúmenes de muestra extraordinariamente pequeños (de 0.1 a 10 nL, en contraste con la electroforesis ordinaria, que emplea volúmenes de muestra del orden de μL). Además, las especies separadas son eluidas

desde uno de los extremos del capilar, por lo que se pueden utilizar detectores cuantitativos como los que se emplean en cromatografía de líquidos de alta resolución, en lugar de las incómodas técnicas de coloración de la electroforesis ordinaria.¹

30B.1 Velocidades de migración en electroforesis capilar

Como ya se vio en la ecuación 30.1, la velocidad de migración de un ion v depende de la fuerza del campo eléctrico aplicado. A su vez, el campo eléctrico es proporcional a la magnitud del voltaje aplicado V e inversamente proporcional a la longitud L sobre la que se aplica. Entonces

$$v = \mu_e \times \frac{V}{L} \quad (30.2)$$

Esta relación indica que es deseable aplicar voltajes elevados para obtener migraciones iónicas y separaciones rápidas. Si bien es deseable que las separaciones sean rápidas, es aún más importante que sean de alta resolución. Por ello es necesario examinar los factores que determinan la resolución en la electroforesis.

30B.2 Alturas de plato en electroforesis capilar

En cromatografía, tanto la difusión longitudinal como la resistencia a la transferencia de masa contribuyen al ensanchamiento de banda. Sin embargo, dado que en la electroforesis sólo hay una fase, en teoría sólo se tiene que considerar la difusión longitudinal. Pero en la práctica, el calentamiento de Joule puede sumar discrepancias así como el proceso de inyección. La electroforesis ordinaria no es un proceso cromatográfico, pero las separaciones se describen a menudo de manera similar a la cromatografía. Por ejemplo, en la electroforesis se calcula la cantidad de platos N mediante

$$N = \frac{\mu_e V}{2D} \quad (30.3)$$

donde D es el coeficiente de difusión del soluto, en $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$. Debido a que la resolución se incrementa al aumentar el número de platos, se recomienda aplicar voltajes elevados con la finalidad de obtener separaciones con una gran resolución. Observe que para la

electroforesis, al contrario de lo que sucede en cromatografía, el número de platos no se incrementa con la longitud de la columna.

En la electroforesis ordinaria en gel, el calentamiento por el efecto Joule limita la magnitud del voltaje aplicado a un valor de alrededor de 500 V. Es aquí donde radica una de las ventajas del formato capilar en comparación con el formato ordinario. La gran longitud y la pequeña área de la sección transversal del capilar hacen que la resistencia de la solución en su interior sea excepcionalmente elevada. Como la disipación de energía es inversamente proporcional a la resistencia ($P = I^2/R$), se pueden aplicar voltajes muchísimo más altos a los capilares que a las placas para una misma cantidad de calor. Además, la alta relación superficie-volumen del capilar proporciona un enfriamiento efectivo. Como resultado de estos dos factores, el ensanchamiento de banda debido a la convección térmica no tiene lugar a un grado importante en los capilares. Por lo regular se usan campos eléctricos de 100 a 400 V/cm. Las fuentes de potencia de alto voltaje de 10 a 25 kV son normales. Los campos elevados causan mejoras correspondientes en la velocidad y en la resolución por arriba de las que se obtienen con el formato de placa. A menudo, las anchuras de pico en la electroforesis capilar alcanzan el límite teórico marcado por la difusión longitudinal. Por lo regular, la electroforesis capilar genera una cantidad de platos comprendido entre 100 000 y 200 000, en comparación con los típicos 5000 a 20 000 platos de la cromatografía de líquidos de alta resolución. También se han dado a conocer cantidades de platos de 3 000 000 en el caso de separaciones mediante electroforesis capilar de zona de aminoácidos dansilados² y de 10 000 000 para las separaciones de polinucleótidos por electroforesis capilar en gel.³

30B.3 Flujo electroosmótico

Una característica única de la electroforesis capilar es el *flujo electroosmótico*. Cuando se aplica un alto voltaje a un capilar de sílice fundida que contiene una solución amortiguadora, se origina por lo regular un *flujo electroosmótico* en el cual el líquido migra hacia el cátodo. La velocidad de migración puede ser apreciable. Por ejemplo, una solución amortiguadora 50 mM de pH 8 migra hacia el cátodo por un capilar de 50 cm a una velocidad de aproximadamente 5 cm/min cuando se aplica un voltaje de 25 kV.⁴

¹Para mayor información acerca de la electroforesis ordinaria consulte *Analysis and Detection by Capillary Electrophoresis*, M. L. Marina, A. Ríos y M. Valcarcel, eds., vol. 45 de *Comprehensive Analytical Chemistry*, D. Barcelo, ed., Amsterdam: Elsevier, 2005; *Capillary Electrophoresis of Proteins and Peptides*, M. A. Strege y A. L. Lagu, eds., Totowa, NJ: Humana Press, 2004; *Clinical and Forensic Applications of Capillary Electrophoresis*, J. R. Petersen y A. A. Mohamad, eds., Totowa, NJ: Humana Press, 2001; R. Weinberger, *Practical Capillary Electrophoresis*, 2a. ed., Nueva York: Academic Press, 2000; *High Performance Capillary Electrophoresis*, M. G. Khaledi, ed., Nueva York: Wiley, 1998.

²R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 436.

³A. Guttman, A. S. Cohen, D. N. Heiger y B. L. Karger, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 137.

⁴J. D. Olechno, J. M. Y. Tso, J. Thayer y A. Wainright, *Amer. Lab.*, **1990**, 22 (17), p. 51.

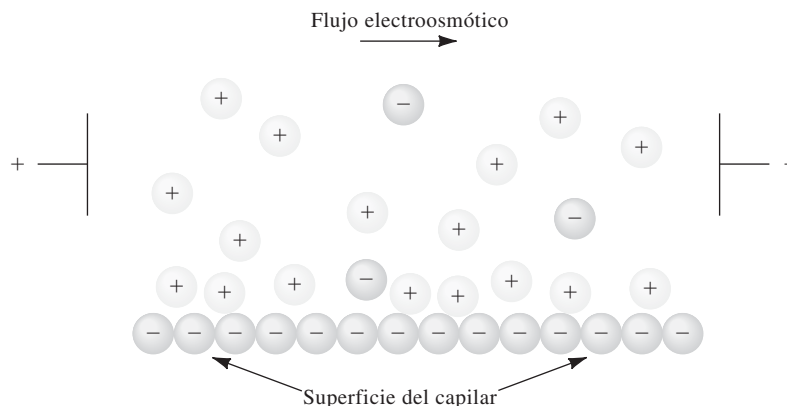


FIGURA 30.2 Distribución de cargas en la interfase capilar-sílice y flujo electroosmótico resultante. (Tomado de A. G. Ewing, R. A. Wallingford y T. M. Olefirowicz, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, p. 298A. Copyright 1989 American Chemical Society.)

Como se puede ver en la figura 30.2, la causa del flujo electroosmótico es la doble capa eléctrica que se forma en la interfase sílice-solución. A valores de pH por encima de 3, la pared interna de un capilar de sílice presenta carga negativa debido a la ionización de los grupos silanol ($\text{Si}-\text{OH}$) en su superficie. Los cationes de la solución amortiguadora se agrupan sobre la doble capa eléctrica adyacente a la superficie negativa del capilar de sílice. Los cationes situados en la capa exterior difusa de la doble capa son atraídos hacia el cátodo o electrodo negativo, y dado que los cationes están solvatados arrastran entonces al solvente con ellos. Como se ilustra en la figura 30.3, la electroósmosis ocasiona un flujo de la solución que tiene un perfil plano en el tubo porque se origina en las paredes del mismo. Este perfil contrasta con el perfil laminar (parabólico) que se observa en el flujo generado por la presión que se encuentra en la cromatografía de líquidos de alta resolución. Puesto que el perfil es en esencia plano, el flujo electroosmótico no contribuye de manera importante al ensanchamiento de banda en la forma en que el flujo generado por presión lo hace en la cromatografía de líquidos.

En general, la velocidad del flujo electroosmótico es mayor que la velocidad de migración electroforética de los iones individuales y llega a ser, en la práctica, el mecanismo de bombeo de la fase móvil en la electroforesis capilar. Aun cuando los analitos migran según sus cargas dentro del capilar, la velocidad del flujo electroosmótico es por lo regular suficiente para arrastrar a todas las especies, las que tienen carga positiva, las neutras y hasta aquellas con carga negativa hacia el mismo extremo del capilar, de tal forma que todas pueden ser

detectadas al pasar por un punto común (véase figura 30.4). El *electroferograma* resultante es similar a un cromatograma, pero con picos más angostos.

La velocidad del flujo electroosmótico v se expresa mediante una ecuación similar a la ecuación 30.1. Es decir,

$$v = \mu_{\text{eo}} E \quad (30.4)$$

En presencia de la electroósmosis, la velocidad de un ion es la suma de su velocidad de migración y la velocidad del flujo electroosmótico. Entonces,

$$v = (\mu_{\text{e}} + \mu_{\text{eo}}) E \quad (30.5)$$

Como consecuencia de la electroósmosis, el orden de elución en una separación electroforética característica es: primero, los cationes más rápidos, seguidos por los cationes sucesivamente más lentos, luego todas las especies neutras en una zona única y, para finalizar, los aniones más lentos seguidos por los aniones más rápidos (véase figura 30.4). En algunos casos, la velocidad de flujo electroosmótico no es lo bastante grande como para superar la velocidad a la cual se mueven algunos aniones hacia el ánodo, en cuyo caso estas especies se desplazarán en esa dirección en lugar de ir hacia el cátodo.

El tiempo de migración t_{m} en la electroforesis capilar es el tiempo que tarda un soluto para migrar desde el punto en que es introducido hasta el detector. Si se utiliza un capilar de longitud total L y la longitud al detector es l , el tiempo de migración es

$$t_{\text{m}} = \frac{l}{(\mu_{\text{e}} + \mu_{\text{eo}}) E} = \frac{lL}{(\mu_{\text{e}} + \mu_{\text{eo}}) V} \quad (30.6)$$

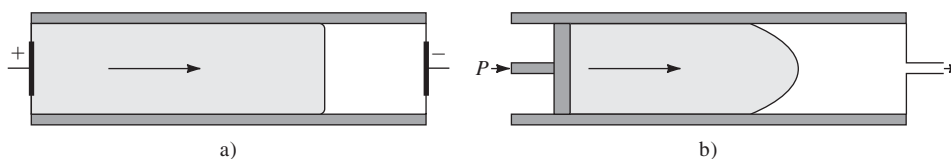


FIGURA 30.3 Perfiles de flujo para los líquidos: a) por presión electroosmótica y b) por presión hidrodinámica.

La cantidad de platos teóricos en presencia de flujo electroosmótico se puede determinar a partir de una expresión similar a la ecuación 26.21:

$$N = 16 \left(\frac{t_m}{W} \right)^2 \quad (30.7)$$

donde W , como en la cromatografía, es la anchura del pico medida en su base.

Es posible invertir el sentido del flujo electroosmótico normal al añadir un tensoactivo catiónico a la solución amortiguadora. El tensoactivo se adsorbe sobre la pared del capilar y hace que ésta quede con carga positiva. En esta nueva situación, los aniones de la solución amortiguadora se agrupan en las proximidades de la pared y son arrastrados hacia el cátodo o electrodo positivo. Esta estrategia se utiliza a menudo para acelerar las separaciones de los aniones.

A menudo la electroósmosis es deseable en ciertos tipos de electroforesis capilar, pero no en otros. El flujo electroosmótico se puede reducir al mínimo al modificar la pared interna del capilar con la ayuda de un reactivo como el trimetilclorosilano que se une quími-

camente a la superficie y reduce la cantidad de grupos silanol en ella (véase sección 28D.1).

30B.4 Instrumentos para la electroforesis capilar

Como se muestra en la figura 30.1, la instrumentación para la electroforesis capilar es sencilla.⁵ Un capilar de sílice fundida, que casi siempre tiene de 10 a 100 μm de diámetro interno y de 30 a 100 cm de longitud y está lleno con una solución amortiguadora, conecta entre sí dos recipientes que contienen la misma solución amortiguadora y también los electrodos de platino. Al igual que los tubos capilares que se utilizan en la cromatografía de gases, las paredes exteriores del capilar de sílice fundida están casi siempre cubiertas con poliimida por razones de durabilidad, flexibilidad y estabilidad. La muestra se introduce por uno de los extremos y la detección se efectúa en el otro extremo. Se aplica un voltaje de 5 a 30 kV de corriente directa en los dos electrodos. La polaridad de esta alta tensión puede ser la que se indica en la figura 30.1 o se puede invertir para que haya una separación rápida de los aniones. Los compartimientos de la electroforesis con alta tensión están asegurados para proteger al usuario.

Aunque la instrumentación es conceptualmente sencilla, hay dificultades experimentales importantes en la introducción de la muestra y en la detección, debido a que los volúmenes que se usan son muy pequeños. Puesto que el volumen de un capilar normal es de 4 a 5 μL , los volúmenes de inyección y detección deben ser del orden de unos pocos nanolitros o menos.

Introducción de la muestra

Los métodos más corrientes de introducción de las muestras son la *inyección electrocinética* y la *inyección por presión*. En el primero se retiran del depósito de la solución amortiguadora uno de los extremos del capilar y el correspondiente electrodo y se colocan en un pequeño recipiente donde está situada la muestra. Se aplica entonces un voltaje durante un tiempo determinado, lo que hace que la muestra penetre en el capilar debido a la combinación de migración iónica y flujo electroosmótico. Luego, el extremo del capilar y el electrodo vuelven a introducirse en la solución amortiguadora, donde se mantienen mientras dura el proceso de separación. Esta técnica de inyección tiene la característica de que introduce mayor cantidad de los iones más móviles y menos de los más lentos.

En el método de inyección por presión, el extremo del capilar por donde se introduce la muestra se colo-

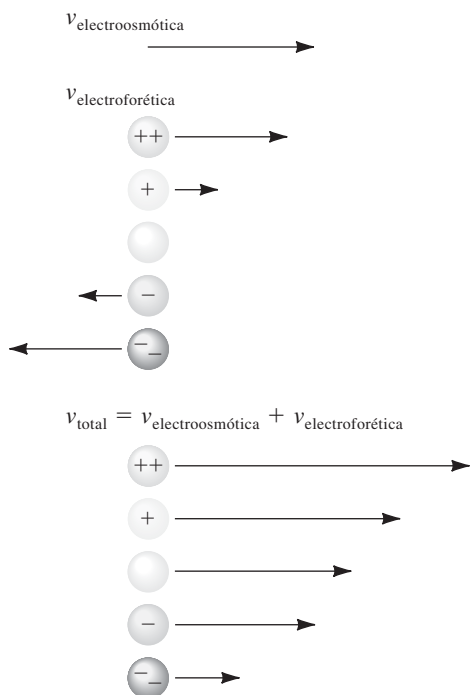


FIGURA 30.4 Velocidades en presencia del flujo electroosmótico. La longitud de la flecha junto al ion indica la magnitud de su velocidad y el sentido de la flecha indica la dirección del movimiento. El electrodo negativo está situado a la derecha y el positivo a la izquierda para esta solución.



Simulación: aprenda más acerca de la **electroforesis capilar**.

⁵Para una revisión de los equipos de electroforesis capilar comerciales disponibles en la actualidad, véase L. DeFrancesco, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 497A.

ca de manera momentánea en un pequeño recipiente que la contiene y se utiliza una diferencia de presión para conducirla al interior del capilar. Esta diferencia de presión se origina al aplicar vacío en el extremo del detector, al aplicar presión en el recipiente que contiene la muestra o bien, elevando el extremo que contiene la muestra (inyección hidrodinámica). La inyección por presión no diferencia los iones de acuerdo con su movilidad y no puede utilizarse en capilares rellenos de gel.

Tanto en el caso de la inyección electrocinética como en el de la inyección por presión, el volumen se controla mediante la duración de la inyección. Los volúmenes de inyección más usuales están comprendidos entre 5 y 50 nL, pero se han llegado a emplear volúmenes por debajo de 100 pL. Para una solución amortiguadora de densidad y viscosidad similares a las del agua, una diferencia de altura de 5 cm durante 10 s inyecta aproximadamente 6 nL en un capilar cuyo diámetro interno es de 75 μm .

El empleo de puntas de microinyección construidas a partir de capilares estirados hasta tener diámetros muy pequeños permite tomar muestras en el orden de los picolitros, como sucede con las células aisladas y estructuras en el interior de las mismas. Esta técnica se aplica para estudiar aminoácidos y neurotransmisores procedentes de una sola célula. En las publicaciones especializadas se describen otras nuevas técnicas.⁶ Ya se dispone de sistemas de electroforesis capilar en el comercio con carruseles con temperatura controlada que adquieren diversas posiciones con el fin de lograr un muestreo automático.

Detección

Debido a que en la mayoría de las modalidades de electroforesis capilar los analitos separados se desplazan pasando por un punto común, los detectores son semejantes en cuanto a diseño y función a los de la cromatografía de líquidos de alta resolución que ya se describieron. En la tabla 30.1 se proporciona una lista de varios métodos de detección que se han dado a conocer para electroforesis capilar. En la segunda columna se dan los límites de detección característicos de estos instrumentos.

Métodos de absorción. Los detectores de fluorescencia y absorción se usan ampliamente en electroforesis capilar, aunque los últimos son más comunes debido a que su campo de aplicación es mayor. Para que el volumen de detección se mantenga dentro del orden de magnitud de los nanolitros o menos, la detección se lleva a cabo en la columna. Para ello se elimina el revestimiento

TABLA 30.1 Detectores para electroforesis capilar.

Tipo de detector	Límite de detección* típico (attomoles detectados)
Para espectrometría	
Absorción [†]	1–1000
Fluorescencia	1–0.01
Lentes térmicas [†]	10
Raman [†]	1000
Quimioluminiscencia [†]	1–0.0001
Espectrometría de masas	1–0.01
Para electroquímica	
Conductividad [†]	100
Potenciometría [†]	1
Amperometría	0.1

Fuentes: B. Huang, J. J. Li, L. Zhang, J. K. Cheng, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, p. 2366; S. C. Beale, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 279R. S. N. Krylov y N. J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, p. 111R; S. Hu y N. J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2833.

* Los límites de detección señalados se determinaron con volúmenes de inyección que variaron de 18 pL a 10 nL.

[†] Límite de detección de masa obtenido a partir del límite de detección de concentración con un volumen de inyección de 1 nL.

to protector de poliimida de la parte externa de una pequeña sección del capilar mediante combustión o ataque de ácido. Este tramo del capilar hace las veces de celda de detección. Por desgracia, la longitud de la trayectoria para tales mediciones no es mayor que 50 a 100 μm , lo cual restringe los límites de detección en términos de la concentración; sin embargo, debido a los pequeños volúmenes que se usan, los límites de detección de masa son iguales o mejores que los obtenidos en HPLC.

Se han propuesto varios diseños de celdas con vistas a incrementar la longitud de la trayectoria de medición para mejorar la sensibilidad de los métodos de absorción. Tres de éstos se muestran en la figura 30.5. En el detector comercial que se ilustra en la figura 30.5a, el extremo del capilar está doblado en forma de Z, lo que origina una longitud de trayectoria hasta de 10 veces el diámetro del capilar. Los aumentos en la longitud de la trayectoria ocasionan disminuciones en la eficacia del pico y, por consiguiente, en la resolución. En algunos casos, lentes especiales, como las de globo esféricas, se insertan entre la fuente y la celda z, y entre la celda y el detector.⁷ Estas lentes mejoran la sensibilidad al enfocar la luz en la celda y en el detector.

La figura 30.5b muestra una segunda estrategia para aumentar la longitud de trayectoria. En este ejemplo se forma una burbuja cerca del extremo del capilar. En

⁶ L. M. Ponton y C. E. Evans, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 1974; R. Kuldvee y M. Kaljurand, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1999**, 29, p. 29.

⁷ D. M. Spence, A. M. Sekelsky y S. R. Crouch, *Instrum. Sci. Technol.*, **1996**, 24, p. 103.

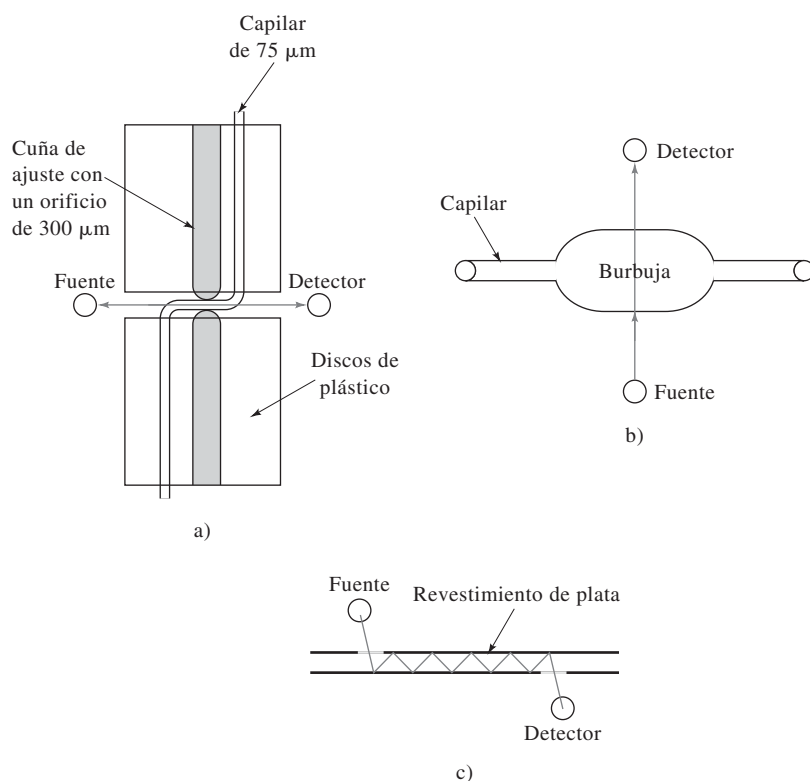


FIGURA 30.5 Tres tipos de celdas para mejorar la sensibilidad de las mediciones de absorción en electroforesis capilar: a) celda tipo z de 3 mm, b) celda tipo burbuja de 150 μm y c) celda de reflexiones múltiples.

la versión comercial de esta técnica la burbuja correspondiente a un capilar de 50 μm tiene un diámetro de 150 μm , lo que consigue un aumento de tres veces dicha longitud de trayectoria.

Un tercer método para incrementar la longitud de trayectoria de la radiación por reflexión se muestra en la figura 30.5c. En esta técnica se deposita en el extremo del capilar un revestimiento de plata reflectante. La fuente de radiación experimenta entonces numerosas reflexiones durante el camino por el capilar, lo cual aumenta de manera notable la longitud de la trayectoria.

Hay sistemas comerciales de electroforesis capilar con detectores con diodos en serie que permiten recolectar espectros en un intervalo de UV-visible en menos de 1 s.

Detección indirecta. Se ha utilizado el método de detección indirecta de absorción en el caso de especies con baja absorptividad molar que resultan difíciles de detectar sin derivación. Se incorpora un cromóforo iónico en la solución amortiguadora de la electroforesis; entonces, el detector recibe una señal constante debido a la presencia de esta sustancia. El analito desplaza algunos de estos iones, como en la cromatografía de intercambio iónico, de manera que la señal detectada disminuye cuando una banda del analito pasa por el detector. El analito se determina por el descenso en el valor de la absorbancia. El electroferograma de la figura

30.6 se obtuvo con el método de detección indirecta de absorbancia, con ion cromato 4 mM como cromóforo; este ion absorbe radiación con fuerza a 254 nm en la solución amortiguadora. Aunque los picos obtenidos son negativos (descenso de A), se ven como positivos en la figura 30.6 porque se invierte la polaridad del detector.

Detección por fluorescencia. Al igual que en la cromatografía de líquidos de alta resolución, la detección por

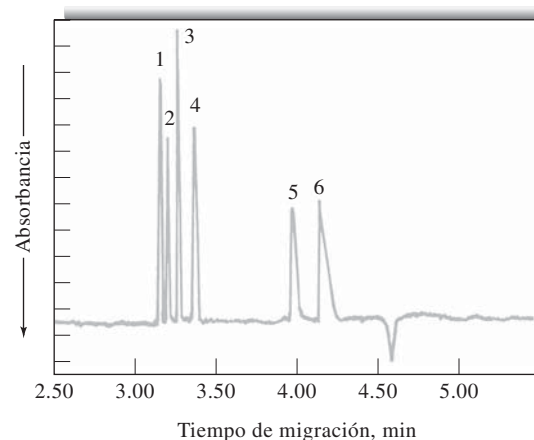


FIGURA 30.6 Electroferograma de una mezcla de seis aniones por detección indirecta a 254 nm con una solución 4 mM de ion cromato. Picos: 1) bromuro (4 ppm), 2) cloruro (2 ppm), 3) sulfato (4 ppm), 4) nitrato (4 ppm), 5) fluoruro (1 ppm) y 6) fosfato (6 ppm).

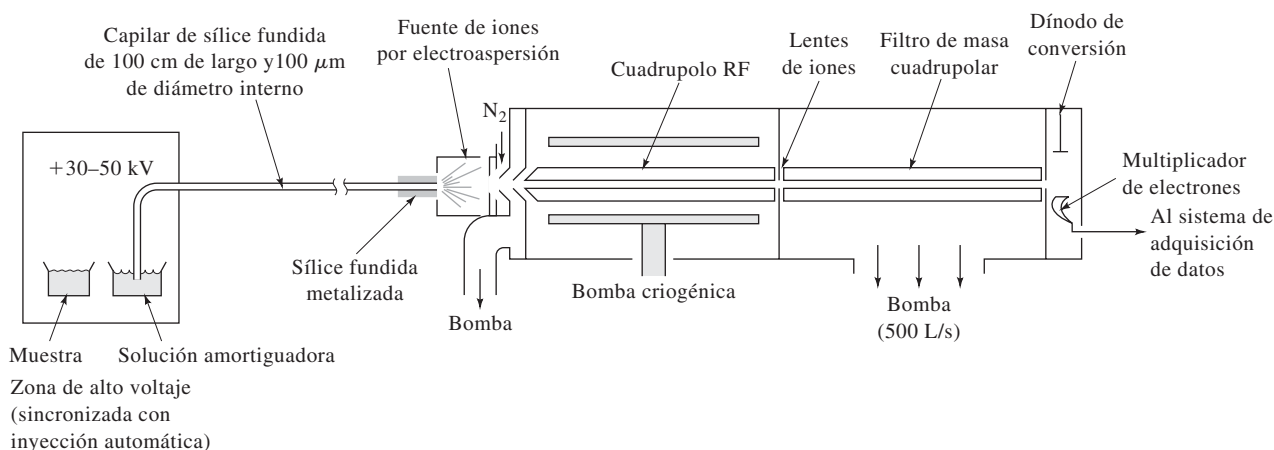


FIGURA 30.7 Equipo para electroforesis capilar-espectrometría de masas. El extremo con alta tensión (ánodo) se mantuvo a 30-50 kV en una caja cerrada y aislada eléctricamente. El contacto eléctrico en el extremo de baja tensión (cátodo) se hizo mediante plata depositada en el capilar y una cubierta de acero inoxidable. Este contacto eléctrico estuvo de 3 a 5 kV respecto al circuito común, el cual también cargó la electroaspersión. El flujo de nitrógeno a $\sim 70^{\circ}\text{C}$ necesario para producir la desolvatación fue de 3 a 6 L/min. (Tomado de R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen, y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 436. Con autorización.)

fluorescencia incrementa la sensibilidad y la selectividad para los analitos fluorescentes o los productos derivados de ellos. Se prefieren los instrumentos que emplean rayo láser para enfocar la radiación excitadora en el capilar y lograr los bajos límites de detección inherentes al empleo de fuentes intensas. Hay accesorios disponibles para la fluorescencia inducida por láser que se pueden acoplar con los instrumentos comerciales para electroforesis capilar. La fluorescencia inducida por rayo láser facilita la detección de tan sólo 10 zeptomoles o 6000 moléculas.⁸

Detección electroquímica. En la electroforesis capilar se utilizan dos tipos de detección electroquímica: conductimétrica y amperométrica. Uno de los problemas con la detección electroquímica ha sido aislar los electrodos del detector de la influencia del alto voltaje necesario para la separación. Uno de los métodos de aislamiento consiste en insertar una junta de vidrio poroso o grafito entre el extremo del capilar y un segundo capilar que contiene los electrodos del detector.

Detección por espectrometría de masas. Los flujos volumétricos en electroforesis capilar son tan pequeños, de menos de $1\ \mu\text{L}/\text{min}$, que hacen posible el acoplamiento directo del efuente a la fuente de ionización de un espectrómetro de masas. En la actualidad, la interfase que más se emplea para el proceso de introducción de la muestra-ionización es el sistema de electronebulización (sección 20B.4), aunque también se ha emplea-

do el bombardeo por átomos rápidos, la espectrometría de desorción y la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo. Como la muestra líquida se tiene que vaporizar antes de entrar en el sistema de espectrometría de masas, es importante usar soluciones amortiguadoras volátiles. Los sistemas de electroforesis capilar con detector espectrométrico de masas se han vuelto muy importantes en las ciencias de la vida para la determinación de biomoléculas grandes de origen natural, como las proteínas, fragmentos de ADN y péptidos.⁹

La figura 30.7 es un esquema de una conexión de electroaspersión característica acoplada a un espectrómetro de masas cuadrupolar. Observe que el capilar está colocado entre la región aislada de alta tensión y la fuente de electroaspersión. El extremo de alto voltaje y el capilar están entre 30 y 50 kV respecto al circuito común. El extremo de baja tensión se mantiene entre 3 y 5 kV y carga las gotitas. En el comercio se pueden encontrar instrumentos similares de electroaspersión acoplados con espectrómetros de masas cuadrupolares o de trampa de iones.¹⁰ Los espectrómetros de masas de trampa de iones permiten el funcionamiento CE/MS/MS o CE-MSⁿ.

En la figura 30.8 se muestra el espectro de masas por electronebulización de la vasotocina, un polipéptido cuya masa molecular es de 1050. Observe la presencia de

⁸S. Wu y N. Dovichi, *J. Chromatogr.*, **1989**, 480, p. 141.

⁹Para mayor información sobre la detección espectrométrica de masas véase J. C. Severs y R. D. Smith en *Handbook of Capillary Electrophoresis*, 2a. ed., J. P. Landers, ed., cap. 28, Boca Ratón, FL: CRC Press, 1997.
¹⁰Agilent Technologies, Wilmington, DE; Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA.

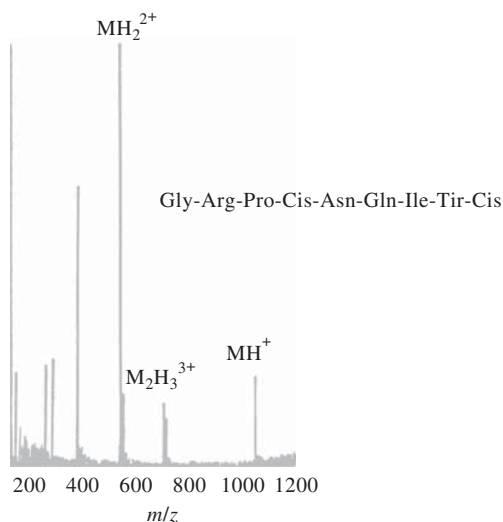


FIGURA 30.8 Espectro de masas de la vasotocina obtenido mediante ionización por electroaspersión. (Tomado de R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen y H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, p. 436. Con autorización.)

especies doble y triplemente cargadas. En los casos de especies de masas moleculares mayores, se encuentran a menudo iones portadores de una docena o más de cargas positivas. Los iones con cargas tan grandes facilitan la detección de analitos de masas moleculares elevadas con un instrumento cuadrupolar capaz de detectar un intervalo de valores de masas relativamente pequeño. Los límites de detección característicos para CE-MS son de unas pocas decenas de femtomoles para moléculas cuya masa molecular es de 100 000 o más.

Sistemas comerciales de electroforesis capilar

En la actualidad menos de diez compañías en todo el mundo manufacturan instrumentos para electroforesis capilar. Unas 20 compañías ofrecen accesorios para esta técnica. Los costos iniciales del equipo y los gastos de mantenimiento son casi siempre más bajos que los que se requieren para los instrumentos de cromatografía de iones y espectroscopía atómica. Por consiguiente, los instrumentos comerciales para electroforesis capilar con detectores normales de absorción o de fluorescencia cuestan de 10 000 a 65 000 dólares.¹¹ Además, la detección mediante espectrometría de masas aumenta el costo de manera notable.

30C APLICACIONES DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR

Las separaciones por electroforesis capilar se llevan a cabo de distintas maneras. Entre ellas están la electroforesis capilar de zona, la electroforesis capilar en gel,

el enfoque isoelectrico capilar, la isotacoforesis capilar y la cromatografía micelar electrocinética. En las próximas secciones se ilustran las aplicaciones más relevantes de estas técnicas.

30C.1 Electroforesis capilar de zona

En la electroforesis capilar de zona (CZE, por sus siglas en inglés), la composición de la solución amortiguadora es constante en toda la zona de separación. El campo aplicado hace que los diferentes componentes iónicos de la mezcla migren cada uno según su propia movilidad y se separen en zonas que pueden estar definidas por completo o parcialmente traslapadas. Entre las zonas resueltas del todo hay huecos ocupados por solución amortiguadora, como se puede ver en la figura 30.9a. Esta situación es análoga a la que se presenta en la cromatografía de elución en columna, en la que se observan regiones de fase móvil entre las zonas que contienen los analitos separados.

Separación de iones pequeños

En la mayoría de las separaciones electroforéticas de iones pequeños se observan tiempos de análisis breves cuando los iones del analito se mueven en el mismo sentido que el flujo electroosmótico. Por consiguiente, en las separaciones de cationes las paredes de los capilares no se tratan, y tanto el flujo electroosmótico como los cationes se desplazan hacia el cátodo. Por otro lado, en las separaciones de aniones, el flujo electroosmótico se suele invertir a causa del tratamiento de las paredes del capilar con una sal de alquilamonio, como el bromuro de cetil trimetilamonio. Los iones amonio con carga positiva se enlazan a la superficie de la sílice y forman una capa superficial, inmóvil, de carga positiva. Esto, a su vez, crea una capa de solución móvil, de carga negativa, que es atraída hacia el ánodo, lo que invierte el flujo electroosmótico.

El método que más se utilizaba antes para el análisis de aniones pequeños era la cromatografía de intercambio iónico. Para los cationes, las técnicas favoritas fueron la espectroscopía de absorción atómica y la espectroscopía de emisión de plasma acoplado por inducción. En la figura 30.10 se ilustra la velocidad y la resolución de las separaciones electroforéticas de aniones pequeños. En este caso, se separaron con limpieza 30 aniones en poco más de tres minutos. Por lo regular, una separación de intercambio iónico de sólo tres o cuatro aniones se puede lograr en este breve periodo. En la figura 30.11 se ilustra además la velocidad a la cual se pueden efectuar las separaciones. En este ejemplo fueron separados 19 cationes en menos de dos minutos. Alguna vez se pronosticó que los métodos de la electroforesis capilar reemplazarían los métodos

¹¹ Véase L. DeFrancesco, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 497A.

a) Electroforesis de zona

$$\begin{array}{ccc} \mu_1 & < & \mu_2 & < & \mu_3 \\ v_1 = \mu_1 E & & v_2 = \mu_2 E & & v_3 = \mu_3 E \\ \text{Anión 1} & & \text{Anión 2} & & \text{Anión 3} \end{array}$$



FIGURA 30.9 Tres modos de separación por electroforesis. En la electroforesis de zona a), los iones se separan en las zonas 1, 2 y 3. Las zonas mostradas están resueltas por completo con solución amortiguadora entre cada una de ellas. En la isotacoforesis b), se inyecta la muestra entre una solución amortiguadora de vanguardia de gran movilidad y una solución amortiguadora a la zaga de baja movilidad. En el caso del enfoque isoelectrico c), existe un gradiente de pH continuo a lo largo del capilar. Los iones del analito emigran al pH correspondiente a sus puntos isoelectricos.

b) Isotacoforesis



c) Enfoque isoelectrico

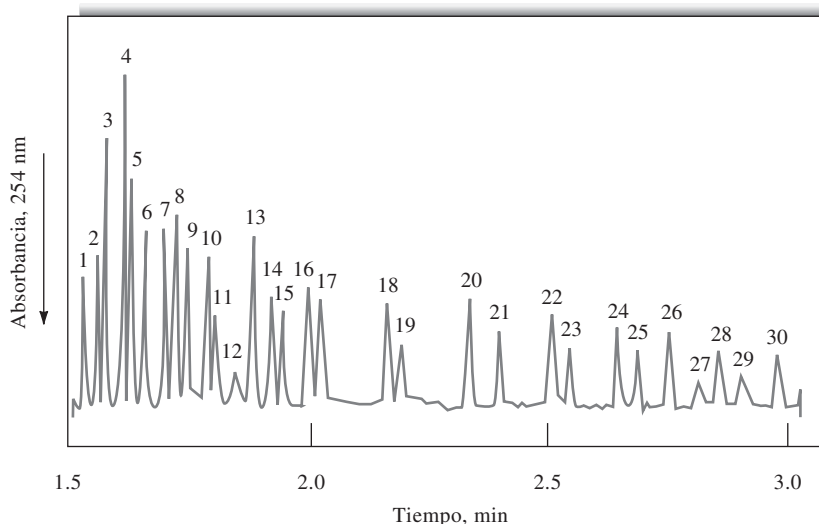
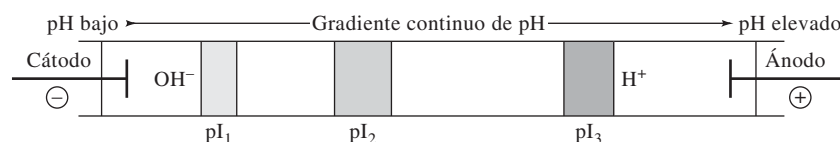


FIGURA 30.10 Electroferograma de la separación de 30 aniones. Diámetro interno del capilar: 50 μm (sílice fundida). Detección: UV indirecta, 254 nm. Picos 1 = tiosulfato (4 ppm), 2 = bromuro (4 ppm), 3 = cloruro (2 ppm), 4 = sulfato (4 ppm), 5 = nitrito (4 ppm), 6 = nitrato (4 ppm), 7 = molibdato (10 ppm), 8 = acida (4 ppm), 9 = tungstenato (10 ppm), 10 = monofluorofosfato (4 ppm), 11 = clorato (4 ppm), 12 = citrato (2 ppm), 13 = fluoruro (1 ppm), 14 = formiato (2 ppm), 15 = fosfato (4 ppm), 16 = fosfito (4 ppm), 17 = clorito (4 ppm), 18 = galactarato (5 ppm), 19 = carbonato (4 ppm), 20 = acetato (4 ppm), 21 = etanosulfonato (4 ppm), 22 = propionato (5 ppm), 23 = propanosulfonato (4 ppm), 24 = butirato (5 ppm), 25 = butanosulfonato (4 ppm), 26 = valerato (5 ppm), 27 = benzoato (4 ppm), 28 = *l*-glutamato (5 ppm), 29 = pentanosulfonato (4 ppm), 30 = *d*-gluconato (5 ppm). (Tomado de W. A. Jones y P. Jandik, *J. Chromatogr.*, **1991**, 546, p. 445. Con autorización.)

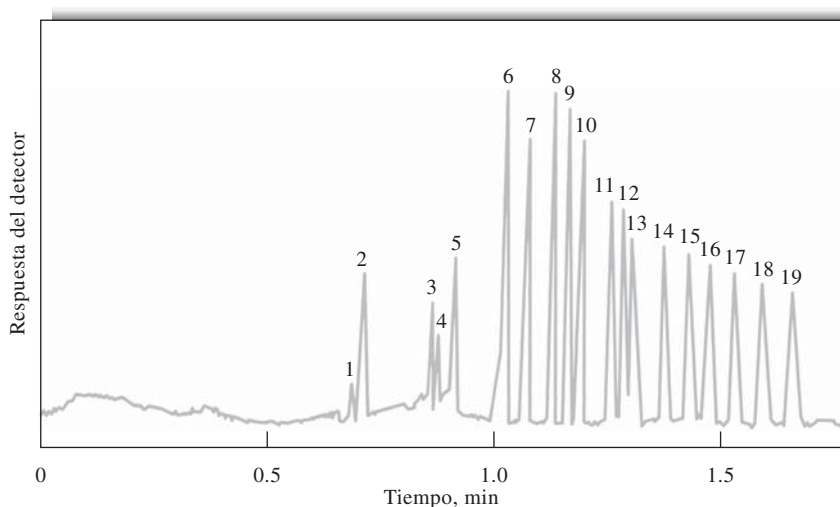


FIGURA 30.11 Separación de alcalinos, alcalinotérreos y lantánidos. Capilar: 36.5 cm $\times$ 75 μ m, sílice fundida, +30 kV. Inyección: hidrostática, 20 s en 10 cm. Detección: UV indirecta, 214 nm. Picos 1 = rubidio (2 ppm), 2 = potasio (5 ppm), 3 = calcio (2 ppm), 4 = sodio (1 ppm), 5 = magnesio (1 ppm), 6 = litio (1 ppm), 7 = lantano (5 ppm), 8 = cerio (5 ppm), 9 = praseodimio (5 ppm), 10 = neodimio (5 ppm), 11 = samario (5 ppm), 12 = europio (5 ppm), 13 = gadolinio (5 ppm), 14 = terbio (5 ppm), 15 = disprosio (5 ppm), 16 = holmio (5 ppm), 17 = erbio (5 ppm), 18 = tulio (5 ppm), 19 = iterbio (5 ppm). (Tomados de P. Jandik, W. R. Jones, O. Weston y P. R. Brown, *LC-GC*, **1991**, 9, p. 634. Con autorización.)

establecidos tiempo atrás debido al bajo costo del equipo, las muestras de menor tamaño y el poco tiempo para el análisis. Sin embargo, a causa de que las variaciones en los flujos electrosmóticos dificultan la reproducibilidad de las separaciones con electroforesis capilar, todavía se usan ampliamente los métodos de cromatografía de líquidos y de espectrometría atómica para los iones inorgánicos pequeños.

Separación de moléculas

Mediante electroforesis capilar de zona es posible separar y analizar una gran variedad de moléculas pequeñas, como herbicidas sintéticos, plaguicidas y fármacos, siempre que sean iones o que puedan producirlos. En la figura 30.12 se ilustra este tipo de aplicación del método, en el cual se separan en menos de 15 minutos tres antiinflamatorios, ácidos carboxílicos y sales carboxiladas.

También proteínas, aminoácidos e hidratos de carbono se han separado en tiempos mínimos mediante electroforesis capilar de zona. En el caso de los hidratos de carbono neutros, las separaciones están precedidas por la formación de complejos de borato con carga negativa. La separación de mezclas de proteínas se muestra en la figura 30.13. La electroforesis capilar en gel se utiliza ampliamente para obtener la secuencia de ADN, como se explica en la sección siguiente.

30C.2 Electroforesis capilar en gel

En general, esta técnica se lleva a cabo en una matriz polimérica con estructura de gel poroso que contiene

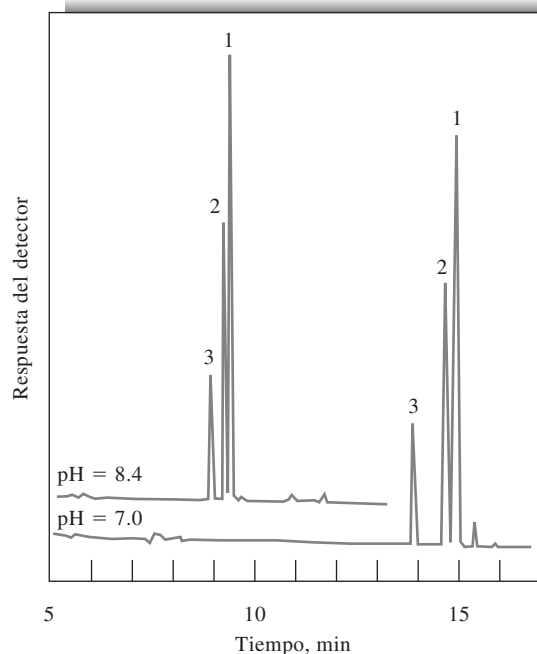


FIGURA 30.12 Separación de antiinflamatorios por electroforesis capilar de zona. Detección: UV a 215 nm. Analitos: 1) naproxeno, 2) ibuprofeno, 3) tolmetina. (Reproducción autorizada de A. Wainright, *J. Microcolumn. Sep.*, **1990**, 2, p. 166.)

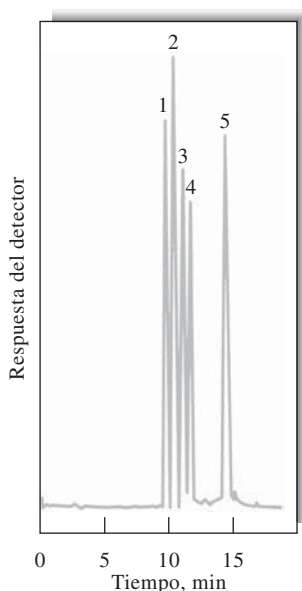


FIGURA 30.13 Separación por electroforesis capilar de zona de una mezcla modelo de proteínas. Condiciones: pH de la solución amortiguadora 2.7; detección de absorbancia a 214 nm; 22 kV, 10 A. Los picos se identifican en la siguiente tabla.

Proteínas modelo separadas a pH 2.7.

Pico núm.	Proteína	Peso molecular	Punto isoeléctrico, pH
1	Citocromo <i>c</i>	12 400	10.7
2	Lisozima	14 100	11.1
3	Tripsina	24 000	10.1
4	Tripsinógeno	23 700	8.7
5	Inhibidor de tripsina	20 100	4.5

una mezcla de solución amortiguadora que llena los poros. En los primeros estudios en electroforesis ordinaria, el principal objetivo del medio polimérico era reducir la dispersión del analito causada por la difusión y la convección, así como proporcionar un medio adecuado para lograr la detección y el barrido. Este tipo de medio proporcionaba una acción de tamiz molecular que retrasaba la migración de las especies por analizar en diferentes grados, en función del tamaño de poro del polímero y del tamaño de los iones del analito. Dicho efecto de tamiz es en especial útil en las separaciones de macromoléculas, como proteínas, fragmentos de ADN y oligonucleótidos que tienen en esencia la misma carga pero distinto tamaño. En la actualidad la mayor parte de las separaciones a macroescala se llevan a cabo mediante la técnica ordinaria en gel, pero algunas separaciones por electroforesis de especies de diferente tamaño también se llevan a cabo en tubos capilares rellenos con gel.

Tipos de geles

El tipo de gel que más se utiliza en electroforesis es un polímero de poli(acrilamida), formado por polimerización de la acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) en presencia de un agente de entrecruzamiento. El tamaño de poro del polímero depende de la relación entre monómero y agente de entrecruzamiento, de tal manera que al incrementar la cantidad de este último hay una disminución del tamaño de poro. Otros geles que se han empleado en electroforesis capilar en gel son la agarosa, un polisacárido extraído de un alga marina, la metilcelulosa, varios derivados de la celulosa, alcohol polivinílico, óxido de polietileno, dextrano, polidimetilacrilamida y el polietilenglicol. Debido a la dificultad para llenar los capilares con geles rígidos, a menudo se recurre a las redes intrincadas de geles de polímeros.¹² Esta estrategia permite llenar y vaciar el capilar con facilidad. En la figura 30.14 se presenta una separación característica de una mezcla estándar de proteínas en un gel de polietilenglicol.

Electroforesis capilar para obtener la secuencia del ADN

Uno de los principales objetivos del Proyecto del Genoma Humano fue determinar el orden en que aparecían las cuatro bases, adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T), en las moléculas de ADN. El orden define el código genético de un individuo. La necesidad de conocer el orden del ADN produjo abundantes instrumentos analíticos nuevos. Entre los más atractivos está la electroforesis con arreglos de capilares.¹³ En esta técnica se utilizan 96 capilares conectados en paralelo que se llenan con una matriz de separación, casi siempre un gel lineal de poli(acrilamida). Los capilares poseen un diámetro interior de 35 a 75 μm y miden de 30 a 60 cm de longitud.

Para conseguir el orden de las bases, se extrae ADN de las células y se fragmenta mediante varios procedimientos. De acuerdo con la base terminal en el fragmento, se aplica una de cuatro tinciones fluorescentes a los diversos fragmentos. La muestra contiene muchos fragmentos de distintos tamaños, cada uno con su etiqueta fluorescente. Bajo la influencia de un campo electroforético, los fragmentos de masa molecular baja se mueven con mayor rapidez y llegan al detector antes que los fragmentos de masa molecular más alta. El orden de las bases en el ADN se determina mediante la sucesión de colores de los fragmentos eluidos. Se usan rayos láser para excitar la fluorescencia de la tinción.

¹² M. Zhu, D. L. Hansen, S. Burd y F. Gannon, *J. Chromatogr.*, **1989**, 480, p. 311.

¹³ Para un repaso véase I. Kheterpal y R. A. Mathies, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 31A.

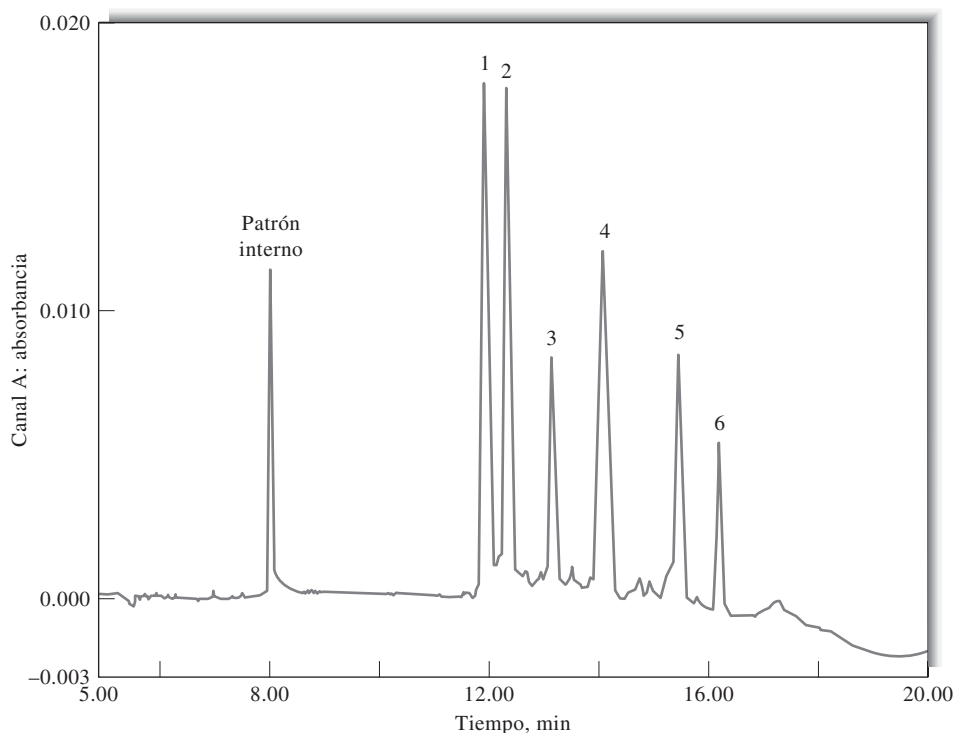


FIGURA 30.14 Separación capilar en gel de proteínas desnaturalizadas con dodecilsulfato de sodio en una columna de polietilenglicol. Detección de la absorción UV a 214 nm. Proteínas: 1) α -lactoalbúmina, 2) inhibidor de la tripsina del frijol de soja, 3) anhidrasa carbónica, 4) ovoalbúmina, 5) seroalbúmina bovina, 6) fosforilasa B. (Reimpreso de K. Ganzler *et al.*, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, p. 2665. Copyright 1992 American Chemical Society.)

Se han descrito varias técnicas diferentes para detectar la fluorescencia. En un método se utiliza un sistema de barrido en el cual el conjunto de capilares se desplaza en relación con el rayo láser de excitación y un sistema de detección de cuatro longitudes de onda. En el sistema de detección que se ilustra en la figura 30.15 se enfoca un rayo láser en el grupo de capilares mediante una lente. La región que ilumina el rayo láser se despliega como imagen en un detector de dispositivos de acoplamiento de carga (véase sección 7E.3). Los filtros facilitan la selección de longitud de onda para detectar los cuatro colores. Se ha reportado la separación simultánea de 11 fragmentos de ADN en 100 capilares.¹⁴ En otros diseños se instalan sistemas detectores de flujo con cubierta y un detector con dos rayos láser de diodos para la excitación. Los instrumentos comerciales cuestan entre 85 000 y más de 300 000 dólares.¹⁵ Los instrumentos que dan el orden del ADN o secuenciadores y otros analizadores relacionados con la genética ya se fabrican en miniatura mediante técnicas de laboratorio en un microcircuito.¹⁶ Con el tiempo, dichos

sistemas miniaturizados serán portátiles para que se puedan utilizar en el campo. La electroforesis capilar desempeñó un papel muy importante en la identificación de restos humanos en el desastre del World Trade Center.

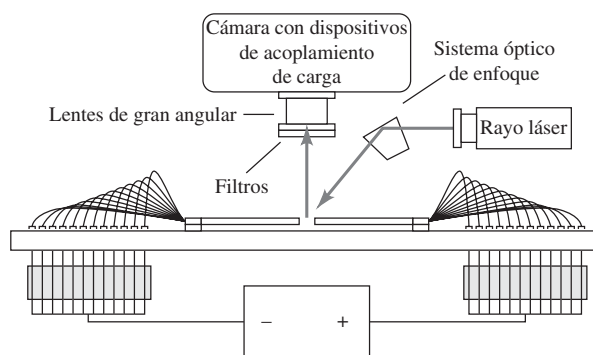


FIGURA 30.15 Sistema de detección de fluorescencia con rayo láser en columna. Un rayo láser se enfoca como una línea en el grupo de capilares a un ángulo de 45°. La fluorescencia se filtra y se detecta mediante una cámara con dispositivos de acoplamiento de carga y un gran angular. (Tomado de K. Ueno y E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 1424. Copyright 1994 American Chemical Society.)

¹⁴ K. Ueno y E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, p. 1424.

¹⁵ Una revisión de secuenciadores comerciales se encuentra en J. P. Smith y V. Hinson-Smith, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 327A.

¹⁶ C. A. Emrich, H. Tian, I. L. Medintz y R. A. Mathies, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 5076; Agilent Technologies, Palo Alto, CA.

30C.3 Isotacoforesis capilar

En esta técnica las bandas de todos los analitos migran en última instancia a la misma velocidad; por eso recibe el nombre de *iso*, igual, y *taco*, velocidad. En cualquier aplicación concreta, los cationes o los aniones pueden ser separados, pero no al mismo tiempo. En una separación por isotacoforesis, la muestra se inyecta entre dos soluciones amortiguadoras, a saber, la de vanguardia, que contiene iones con mayor movilidad que cualquiera de los iones del analito, y la rezagada, en la que van iones de menor movilidad que los iones de la muestra (figura 30.9b). Por ejemplo, en las separaciones de aniones, los iones cloruro van en la solución amortiguadora de vanguardia, y los iones de heptanoato de movilidad más lenta van en la solución amortiguadora a la zaga. Para las separaciones de aniones, la solución del electrolito de vanguardia se conecta al ánodo y la amortiguadora a la zaga se conecta al cátodo.

Cuando se aplica primero el campo eléctrico en una separación por isotacoforesis, los iones del analito migran como en la electroforesis de zona, cada ion a su propia velocidad, la cual viene dada por el producto de $\mu_e E$. Esta diferencia en las velocidades de migración da como resultado la separación de los distintos analitos en bandas adyacentes; la especie más rápida está situada en la banda más próxima a la de la solución amortiguadora de vanguardia y la más lenta después de la solución amortiguadora a la zaga. Una vez que se han formado las bandas, todas se mueven a la misma velocidad. La razón de que todas las bandas se desplacen a la misma velocidad es que el campo eléctrico se hace más reducido para las bandas más móviles y más intenso para las bandas más lentas, de tal forma que la corriente es la misma, como tiene que ser, en todas las zonas de la solución amortiguadora. La corriente iónica que se origina como consecuencia del flujo de iones en la solución amortiguadora es análoga a la corriente directa en un circuito formado por varios resistores conectados en serie a una batería. En este caso, la corriente debe ser idéntica en todos los resistores. Por tanto, el potencial en cada uno de ellos debe variar para que se cumpla la ley de Ohm.

Cuando se alcanza el equilibrio en un experimento de isotacoforesis, cada uno de los componentes de la muestra migra en una banda que está intercalada entre la que contiene los iones que se mueven más lentamente y la banda siguiente cuyos iones se mueven con mayor rapidez, tal como se muestra en la figura 30.9b. La frontera entre las bandas es nítida. Si una especie del soluto empieza a desplazarse a la banda próxima más rápida, se encuentra con un campo más bajo, lo cual reduce su velocidad hasta hacerle retroceder a su banda original. Observe en la figura 30.9b que, a dife-

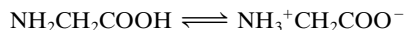
rencia de lo que sucede en la electroforesis de zona o en la cromatografía de elución, las bandas del analito son adyacentes entre sí y no están separadas por bandas de solución amortiguadora.

30C.4 Enfoque isoeléctrico capilar

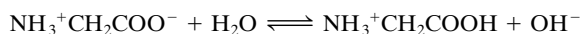
Esta técnica se aplica para separar especies anfóteras, como aminoácidos y proteínas, que contienen en su estructura un grupo del ácido carboxílico que es débil y un grupo amino que es una base también débil.

Propiedades de los compuestos anfóteros

Un compuesto *anfótero* es una especie que en solución es capaz tanto de ceder como de aceptar un protón. Un aminoácido representativo, como la glicina, es un compuesto anfótero. Cuando la glicina se disuelve en agua se originan tres equilibrios importantes:



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-]}{[\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COO}^-]} = 2 \times 10^{-10} \quad (30.8)$$



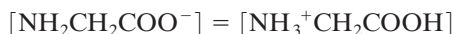
$$K_b = \frac{[\text{OH}^-][\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COOH}]}{[\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COO}^-]} = 2 \times 10^{-12} \quad (30.9)$$

La primera reacción corresponde a una reacción interna ácido-base, y es semejante a la reacción que se observaría entre un ácido carboxílico sencillo y una amina sencilla. Una amina alifática característica tiene una constante de disociación básica de 10^{-4} a 10^{-5} y muchos ácidos carboxílicos tienen constantes de disociación ácidas del mismo orden de magnitud. El resultado es que la primera reacción se desplaza bastante hacia la derecha y el producto o productos de la misma predominan en la solución.

El aminoácido resultante de la primera reacción presenta carga tanto positiva como negativa, por lo que se denomina ion dipolar o *zwitterión*. Como lo muestran las constantes de equilibrio de las reacciones segunda y tercera (ecuaciones 30.8 y 30.9) el ion dipolar de la glicina es más fuerte como ácido que como base. Por tanto, una solución acuosa de glicina tendrá cierto carácter ácido.

El *zwitterión* de un aminoácido presenta carga tanto positiva como negativa, y no tiene tendencia a migrar en el seno de un campo eléctrico, pero las especies catiónicas y aniónicas monocargadas son atraídas por los electrodos de carga opuesta. No se produce migración neta de un aminoácido en un campo eléctrico si el pH del solvente es tal que las concentraciones de las formas aniónicas y catiónicas son idénticas. El pH al cual no se produce migración neta se denomina *punto*

isoelectrico (pI) y es una constante física muy importante para la caracterización de los aminoácidos. El punto isoelectrico está relacionado con las constantes de ionización de las especies. Entonces, para la glicina en el punto isoelectrico,



Si se divide K_a entre K_b y se sustituye esta igualdad, se obtiene en el punto isoelectrico:

$$\frac{K_a}{K_b} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{iso}} [\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-]}{[\text{OH}^-]_{\text{iso}} [\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COOH}]} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{iso}}}{[\text{OH}^-]_{\text{iso}}} \quad (30.10)$$

Si se sustituye $K_w/[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{iso}}$ por $[\text{OH}^-]_{\text{iso}}$ en la ecuación 30.10 y se reordena la ecuación, se tiene

$$[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{iso}} = \sqrt{\frac{K_a K_w}{K_b}} \quad (30.11)$$

Es posible transformar la ecuación 30.11 en el pH del punto isoelectrico (pI) al calcular el logaritmo negativo en ambos miembros. Entonces, el pI se puede expresar como

$$\begin{aligned} \text{pI} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{iso}} &= \frac{(-\log K_a - \log K_w + \log K_b)}{2} \\ \text{pI} &= \frac{(\text{p}K_a + \text{p}K_w - \text{p}K_b)}{2} \end{aligned} \quad (30.12)$$

En el caso de la glicina, $\text{p}K_a = -\log(2 \times 10^{-10}) = 9.7$, $\text{p}K_b = 11.7$ y $\text{p}K_w = 14.0$. Por tanto,

$$\text{pI} = (9.7 + 14.0 - 11.7)/2 = 6.0$$

De aquí que el punto isoelectrico pI de la glicina se produce a un pH de 6.0.

Separación de especies anfóteras

Las separaciones isoelectricas de especies anfóteras se llevan a cabo en una mezcla de soluciones amortiguadoras cuyo pH varía de manera continua. Este gradiente de pH se prepara a partir de una mezcla de diferentes *anfolitos* en solución acuosa. Por lo regular, los anfolitos son compuestos anfóteros que contienen grupos carboxílicos y grupos amino. Las mezclas de anfolitos que abarcan diferentes intervalos de pH se pueden preparar o se compran listas para usar.

Para llevar a cabo un experimento de enfoque isoelectrico en un tubo capilar, la mezcla del analito se disuelve en una solución diluida de los anfolitos, la cual se transfiere entonces a un tubo. Uno de los extremos del capilar se introduce en una solución de una base fuerte, por ejemplo hidróxido de sodio, en la cual se aloja también el cátodo. El otro extremo del capilar se sumerge en una solución de un ácido fuerte, por ejemplo, ácido fosfórico, en la cual está también el ánodo. Cuan-

do se aplica el campo eléctrico, los iones hidrógeno empiezan a migrar desde el compartimiento del ánodo hasta el cátodo. Los iones hidróxido procedentes del cátodo comienzan a desplazarse en sentido contrario. Si alguno de los componentes del anfolito o del analito tiene carga neta negativa, migra hacia el ánodo positivo. Durante esta migración la especie atraviesa regiones de pH menor, donde se produce su protonación progresiva, lo cual hace descender su carga negativa. En un determinado momento, la especie alcanza un valor de pH donde su carga neta es cero (su punto isoelectrico). En ese momento termina su migración. Cada una de las especies del anfolito pasa por este proceso y finalmente da lugar a un gradiente continuo de pH a lo largo del capilar. Los iones del analito también migran hasta alcanzar su punto isoelectrico. Estos procesos dan como resultado la separación de los analitos en bandas estrechas situadas en el valor de pH correspondiente a su punto isoelectrico (véase figura 30.9c). Se consigue un enfoque muy nítido en tales sistemas. Observe que las separaciones por enfoque isoelectrico se basan en las diferencias entre las propiedades de equilibrio de los analitos (K_a , K_b) y no en las diferencias en las velocidades de migración. Una vez que cada analito llega a la región donde es neutro, las posiciones de las bandas se mantienen constantes y no cambian con el tiempo.

Movilización de las bandas enfocadas

Para detectar las bandas enfocadas en una separación por enfoque isoelectrico capilar, es necesario desplazar o movilizar el contenido del capilar de tal manera que las bandas lleguen al detector situado en un extremo. La movilización se logra al aplicar una diferencia de presión, de la misma manera que se hace para cargar la muestra o simplemente mediante el cambio de la solución del compartimiento del electrodo. Durante el proceso de enfoque entra igual número de H^+ que de OH^- por los extremos opuestos del capilar, por lo que el gradiente de pH se mantiene estable. Suponga que se añade cloruro de sodio a la solución de hidróxido de sodio después de haber finalizado el enfoque. En estas condiciones, tanto los iones Cl^- como los OH^- migran hacia el extremo del cátodo de la columna y la suma de estas dos concentraciones se equilibra con los H^+ que penetran por el extremo opuesto. Entonces, ahora hay menos OH^- que H^+ fluyendo hacia el interior del capilar. El pH desciende en el extremo del cátodo y el gradiente de pH deja de ser estable; se mueve hacia el extremo del cátodo junto con todas las bandas enfocadas. Las bandas que pasan primero por el detector son las que corresponden a las proteínas cuyos puntos isoelectricos son más alcalinos. En la figura 30.16 se muestra el electroferograma correspondiente a la

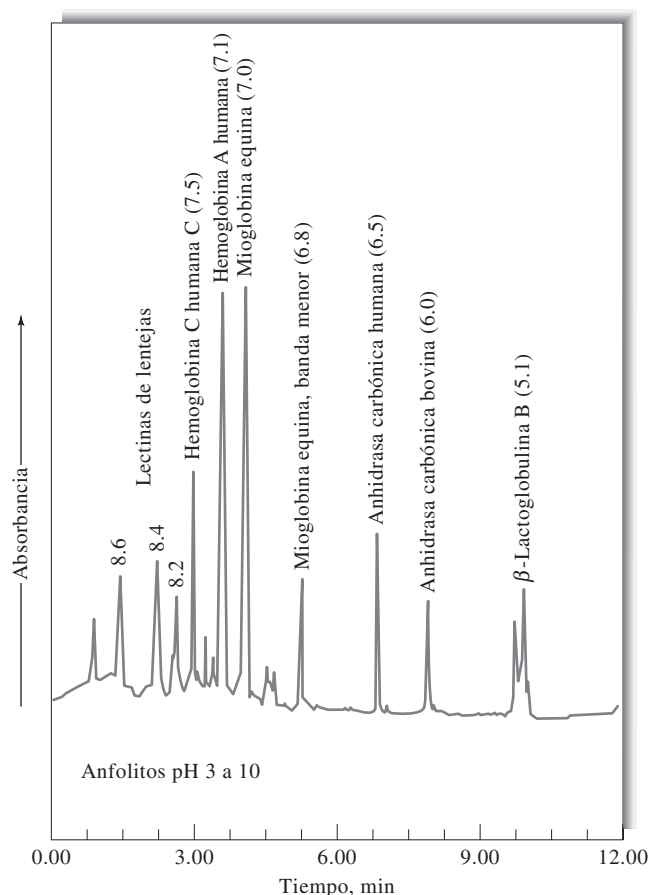


FIGURA 30.16 Enfoque isoelectrico capilar de proteínas. Los puntos isoelectricos, pI, aparecen arriba de cada uno de los picos. La detección se efectuó por absorción UV. (Tomado de T. Wehr, M. Zhu, R. Rodriguez, D. Burke y K. Duncan, *Amer. Biotech. Lab.*, **1990**, 8, p. 22. Con autorización.)

separación de diversas proteínas por enfoque isoelectrico capilar. El pI de cada proteína aparece encima de cada pico. La movilización se logró añadiendo cloruro de sodio al compartimiento del ánodo.

30C.5 Cromatografía micelar electrocinética

En 1984, Terabe y sus colaboradores¹⁷ describieron una modificación de la electroforesis capilar con la que se podía separar fenoles y nitroderivados aromáticos de masa molecular baja con un equipo similar al que se muestra en la figura 30.1. La *cromatografía micelar electrocinética* es un tipo de electroforesis capilar que ofrece varias características únicas.¹⁸ Al igual que la

electroforesis capilar, logra separaciones muy efectivas con microvolúmenes de soluciones de muestra sin la necesidad del sistema de bombeo de alta presión que requiere la cromatografía de líquidos de alta resolución. Sin embargo, a diferencia de la electroforesis capilar normal, la cromatografía micelar electrocinética (MEKC, por sus siglas en inglés) ayuda a separar especies sin carga y con carga. En la MEKC, una fase móvil es transportada por una fase estacionaria mediante flujo electroosmótico. Como se puede ver en la figura 30.3, el bombeo electroosmótico causa un perfil plano en lugar del perfil parabólico del flujo inducido por presión. El perfil plano del bombeo osmótico ocasiona bandas estrechas y, por tanto, alta efectividad en la separación.

Las *micelas* se forman en solución acuosa cuando la concentración de una sustancia iónica que tiene una cola de una larga cadena de hidrocarburos se incrementa por encima de cierto valor denominado *concentración micelar crítica* (CMC). En este momento, el tensoactivo empieza a formar aglomerados esféricos, de entre 40 y 100 iones, cuyas colas de hidrocarburos se orientan hacia el interior del cúmulo y los extremos cargados quedan expuestos al agua en el exterior. Las micelas constituyen una segunda fase estable que es capaz de alojar compuestos no polares en el interior hidrocarbonado de las partículas y, por tanto *solubiliza* compuestos no polares. La solubilización se produce cuando se lava un material o una superficie grasa con una solución detergente.

En la cromatografía micelar electrocinética, los tensoactivos se añaden a la solución amortiguadora de operación en cantidades que superen el valor de la concentración micelar crítica. Hasta la fecha, en la mayoría de las aplicaciones, el tensoactivo que se utiliza es el dodecil sulfato de sodio (SDS, por sus siglas en inglés). La superficie de una micela iónica de este tipo posee una elevada carga negativa, lo cual le proporciona una alta movilidad electroforética. Sin embargo, la mayoría de las soluciones amortiguadoras presenta una velocidad de flujo electroosmótico hacia el electrodo negativo tan alta que hace que las micelas aniónicas también se desplacen hacia ese electrodo, pero a una velocidad muy reducida. Entonces, en la práctica, la mezcla de soluciones amortiguadoras está formada por una fase acuosa que se desplaza rápidamente y la fase micelar que se mueve más despacio. Cuando una muestra se introduce en este sistema, los componentes se distribuyen entre la fase acuosa y la fase hidrocarbonada en el interior de las micelas. Las posiciones resultantes de estos equilibrios dependen de la polaridad de los solutos. Si éstos son polares, se favorece la fase acuosa; si los compuestos son no polares, el entorno preferido es el hidrocarbonado.

¹⁷S. Terabe, K. Otsuka, K. Ichikawa, A. Tsuchiya y T. Ando, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, p. 111; S. Terabe, K. Otsuka y T. Ando, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, p. 841. Véase también K. R. Nielsen y J. P. Foley en *Capillary Electrophoresis*, P. Camilleri, ed., Boca Ratón, FL: CRC Press, 1993, cap. 4.

¹⁸Para una breve revisión véase S. Terabe, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 240A.

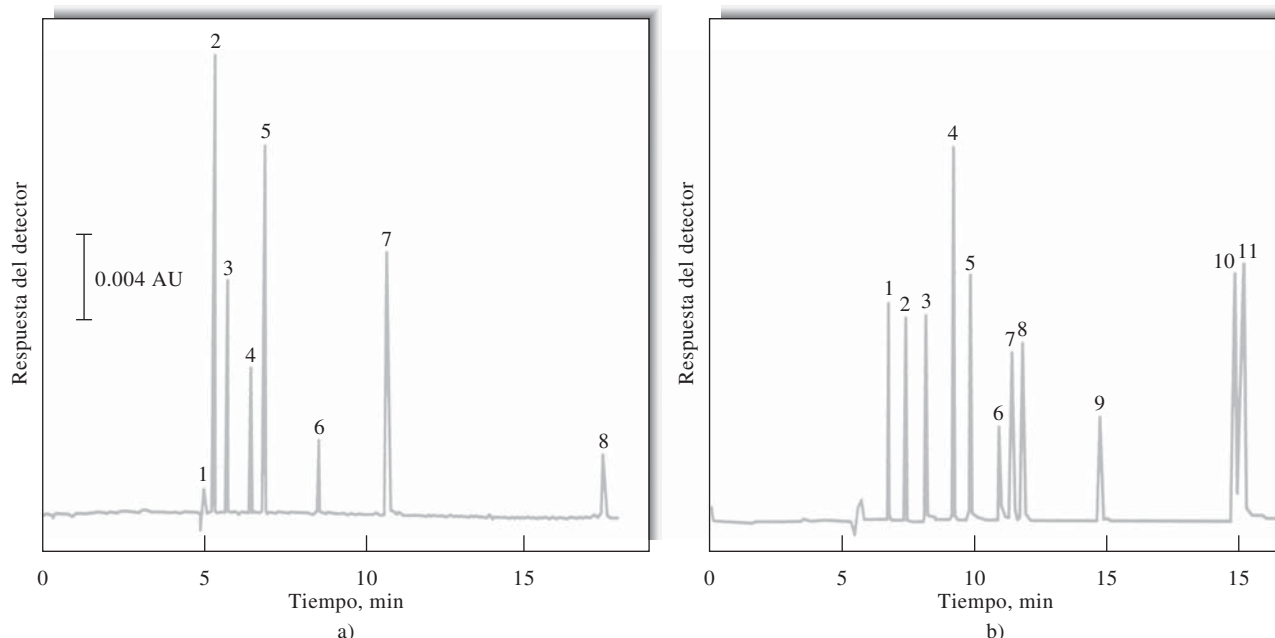


FIGURA 30.17 Separación típica mediante cromatografía micelar electrocinética. a) Algunos compuestos de ensayo: 1 = metanol, 2 = resorcinol, 3 = fenol, 4 = *p*-nitroanilina, 5 = nitrobenceno, 6 = tolueno, 7 = 2-naftol, 8 = Sudan III; capilar con diámetro interior de 50 μm , 500 mm de longitud hasta el detector; voltaje aplicado ~ 15 kV; detección: absorción UV a 210 nm. b) Análisis de un antispasmodico: 1 = acetaminofeno, 2 = cafeína, 3 = sulpirina, 4 = naproxeno, 5 = guaifenesina, 10 = noscapina, 11 = clorofeniramina y tipecidina; voltaje aplicado: 20 kV; capilar de las mismas características que en a); detección: absorción UV a 220 nm. (Tomado de S. Terabe, *Trends Anal. Chem.*, **1989**, 8, p. 129. Con autorización.)

Los fenómenos apenas descritos son muy similares a lo que ocurre en una columna cromatográfica de líquidos, excepto que la “fase estacionaria” se desplaza a lo largo de la columna, pero a una velocidad mucho más lenta que la fase móvil. El mecanismo para la separación es idéntico en ambos casos y depende de las diferencias en las constantes de distribución de los analitos entre la fase móvil acuosa y la *fase pseudoestacionaria* hidrocarbonada. Por consiguiente, el proceso que tiene lugar es una verdadera cromatografía y de ahí el nombre de “*cromatografía micelar electrocinética*”. La figura 30.17 muestra dos separaciones típicas por medio de esta técnica.

La cromatografía micelar electrocinética se ha vuelto importante en las separaciones quirales.¹⁹ En este caso, los agentes de resolución quiral se usan como en la cromatografía de líquidos de alta resolución para complejar de preferencia uno de los isómeros. Se usa un agente de resolución quiral con propiedades de detergente, como el ácido biliar, para formar las micelas o bien se añade un agente de resolución, como la ciclodextrina, a un detergente que es aquiral. En muchos aspectos, las separaciones quirales son más fáciles de efectuar mediante cromatografía micelar electrocinética que por medio de cromatografía de líquidos, aun-

que ésta todavía es la técnica predominante en la industria porque casi todos la conocen.

La cromatografía micelar electrocinética parece tener un futuro prometedor. Una ventaja de esta técnica híbrida sobre la cromatografía de líquidos de alta resolución es que la efectividad de la columna es mucho más elevada (100 000 platos o más). Además, cambiar la segunda fase en la cromatografía micelar electrocinética es sencillo, ya que sólo es necesario variar la composición de la micela en la solución amortiguadora. En cambio, en la HPLC, la segunda fase sólo se puede modificar si se cambia el tipo de relleno de la columna. Al parecer, la técnica de cromatografía micelar electrocinética es en particular útil para aislar moléculas pequeñas que es imposible separar mediante electroforesis ordinaria en gel. Entre los adelantos recientes está la preconcentración en línea para aumentar la sensibilidad y la detección mediante espectrometría de masas.²⁰

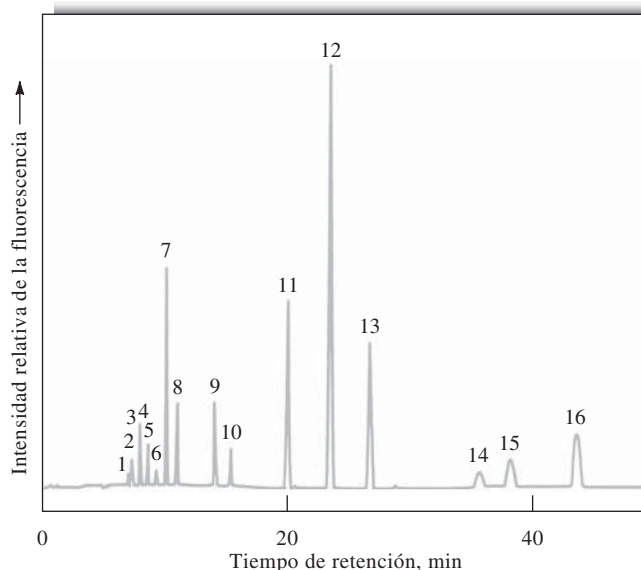
30D ELECTROCRROMATOGRAFÍA EN COLUMNA EMPACADA

La electro cromatografía es una combinación de la HPLC y electroforesis capilar que ofrece las mejores características de los dos métodos. Al igual que la

¹⁹R. Vaspalec y P. Boček, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, p. 3715.

²⁰S. Terabe, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 240A.

FIGURA 30.18 Electrocromatograma en el que se muestra la separación electrocromatográfica de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos ($\sim 10^{-6}$ a 10^{-8} M de cada compuesto). Los picos se identificaron como a continuación se indica: 1) naftaleno, 2) acenaftileno, 3) acenafteno, 4) fluoreno, 5) fenantreno, 6) antraceno, 7) fluoranteno, 8) pireno, 9) benzo[a]antraceno, 10) criseno, 11) benzo[b]fluoranteno, 12) benzo[k]fluoranteno, 13) benzo[a]pireno, 14) dibenzo[a,h]antraceno, 15) benzo[ghi]perileno y 16) indeo[1,2,3-cd]pireno. (Tomado de C. Yan, R. Dadoo, H. Zhao, D. J. Rakestroaw y R. N. Zare, *Anal. Chem.*, 1995, 67, p. 2026. Con autorización.)



HPLC y la cromatografía micelar electrocinética, se aplica a la separación de especies neutras o con carga. La electrocromatografía con columna rellena es la menos madura de las técnicas de electroseparación. En este método, un solvente polar se transporta por flujo electroosmótico a través de un capilar que contiene un relleno característico para la HPLC en fase inversa. Las separaciones dependen de la distribución del analito entre la fase móvil y la fase estacionaria líquida retenida por el relleno. La figura 30.18 muestra un electrocromatograma representativo correspondiente a la separación de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos en un capilar de 33 cm de longitud y diámetro interno de 75 μm . La fase móvil fue una solución de acetonitrilo en borato de sodio 4 mM. La fase estacionaria se compone de partículas de octadecilsilíce de 3 μm .

30E FRACCIONAMIENTO POR FLUJO Y CAMPO

Esta técnica reúne un grupo de procedimientos analíticos que se han vuelto muy útiles para separar y caracterizar materiales disueltos o en suspensión, como polímeros, partículas grandes y coloides. Giddings explicó por primera vez en 1966 el concepto de fraccionamiento por flujo y campo,²¹ pero sólo recientemente se le encontró aplicación y ventajas con respecto a otros métodos.²²

30E.1 Mecanismos de separación

Las separaciones se producen en una canal de flujo similar a un listón, como se puede ver en la figura 30.19. Por lo regular, el canal mide de 25 a 100 cm de largo y

de 1 a 3 cm de ancho. El espesor de la estructura similar a un listón es de 50 a 500 μm . Por lo regular, el canal se saca de un separador delgado y queda entre dos paredes. Se aplica un campo eléctrico, térmico o centrífugo en forma perpendicular a la dirección del flujo. Otra posibilidad es usar un flujo cruzado perpendicular a la dirección principal del flujo.

En la práctica, la muestra se inyecta en la entrada del canal. Luego se aplica campo externo a lo largo de la cara del canal, como se observa en la figura 30.19. Ante la presencia del campo, los componentes de la muestra migran hacia la *pared de acumulación* a una velocidad que está determinada por la fuerza de la interacción del componente con el campo. Los componentes de la muestra alcanzan con rapidez una distribución de concentración de estado estable cerca de la pared de acumulación, como se ilustra en la figura 30.20. El espesor medio de la capa del componente l se relaciona con el coeficiente de difusión de la molécula D y con la velocidad inducida por el campo U hacia la pared. Cuanto más rápido se mueve el componente en el campo, tanto más delgada es la capa cercana a la pared. Asimismo, cuanto más grande es el coeficiente de difusión, tanto más gruesa es la capa. Puesto que los componentes de la muestra tienen valores diferentes de D y de U , el espesor medio de la capa varía para cada componente.

Una vez que los componentes alcanzan sus perfiles de estado estable cerca de la pared de acumulación, comienza el flujo del canal. El flujo es laminar, lo que resulta en el perfil parabólico que se muestra a la izquierda de la figura 30.20. El flujo de transporte principal manifiesta su velocidad más alta en el centro del canal y la más baja cerca de las paredes. Los componentes que

²¹ J. C. Giddings, *Sep. Sci.*, 1966, 1, p. 123.

²² Una revisión de los métodos de fraccionamiento por flujo y campo se encuentra en J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, 1995, 67, p. 592A.

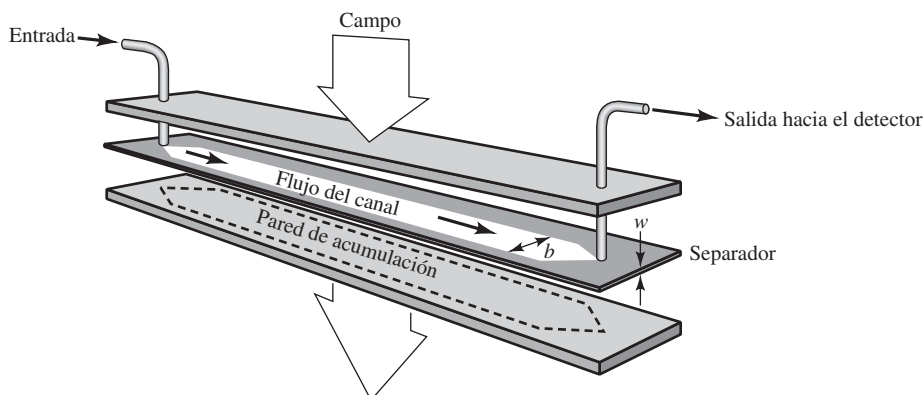


FIGURA 30.19 Esquema del canal de flujo del fraccionamiento de flujo de campo que queda entre dos paredes. Se aplica un campo externo, que puede ser eléctrico, térmico o centrífugo, en forma perpendicular a la dirección del flujo.

interactúan en forma notable con el campo están comprimidos muy cerca de la pared, como es el caso del componente A de la figura 30.21. En este caso, son eluidos por un solvente que se mueve con lentitud. Los componentes B y C sobresalen en el canal y experimentan una velocidad superior del solvente. Por consiguiente, el orden de elución es C, luego B y después A. Los componentes separados mediante fraccionamiento por flujo y campo pasan por un detector de absorción UV-visible, o de índice de refracción o de fluorescencia, que se ubica en el extremo del canal del flujo y es similar a los que se usan en las separaciones con HPLC. Los resultados de la separación son revelados por una gráfica de la respuesta del detector contra el tiempo, que se llama *fractograma*, y que es parecido a un cromatograma.

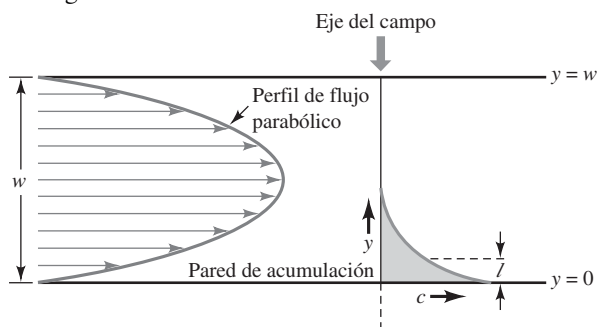


FIGURA 30.20 Cuando se aplica el campo en el fraccionamiento por flujo y campo, los componentes migran hacia la pared de acumulación donde existe un perfil de concentración exponencial como se ve a la derecha. Los componentes se extienden una distancia y en el canal. El espesor promedio de la capa es l , el cual es distinto para cada componente. El flujo del canal principal inicia entonces; el perfil parabólico del flujo del solvente que eluye se muestra a la izquierda.



Simulación: aprenda más acerca del fraccionamiento por flujo y campo.

30E.2 Métodos de fraccionamiento del flujo de campo

A partir de la aplicación de los diferentes tipos de campos o gradientes²³ han resultado distintas técnicas de fraccionamiento por flujo y campo (FFC). A la fecha, los métodos que se han perfeccionado son *FFC de sedimentación*, *FFC eléctrico*, *FFC térmico* y *FFC de flujo*.

Fraccionamiento por flujo y campo de sedimentación

Es el método que más se usa. En esta técnica el canal se enrosca y se ajusta dentro de una cesta para centrifugación, como se puede ver en la figura 30.22. Los componentes con la masa y densidad más altos son conducidos a la pared por la fuerza de sedimentación (centrifugación) y son eluidos hasta el final. Las especies de masa baja son las primeras en ser eluidas. Hay una selectividad relativamente alta entre las partículas de diferente tamaño en el FFC de sedimentación. En la figura 30.23 se muestra una separación de cuentas de poliestireno de diversos diámetros por medio de FFC de sedimentación.

Puesto que las fuerzas de centrifugación son relativamente débiles en el caso de las moléculas pequeñas, el FFC de sedimentación se aplica más a moléculas cuyas masas moleculares son mayores de 10^6 . Al parecer, sistemas como polímeros, macromoléculas biológicas, coloides naturales e industriales, emulsiones y partículas subcelulares son más dóciles a la separación por FFC de sedimentación.

Fraccionamiento por flujo y campo eléctrico

En esta técnica se aplica un campo eléctrico en forma perpendicular a la dirección de flujo. La retención y la

²³Para un análisis de los diversos métodos de FFC véase J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, Nueva York: Wiley, 1991, cap. 9; M. E. Schimpf, K. Caldwell y J. C. Giddings, eds., *Field-Flow Fractionation Handbook*, New York: Wiley, 2000.

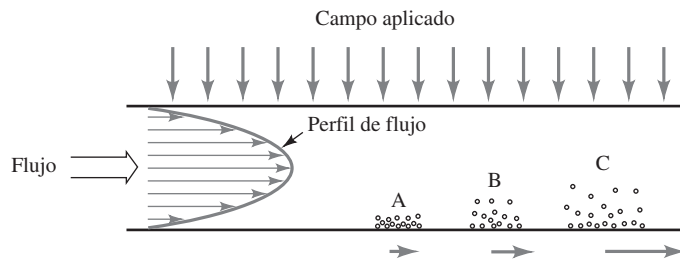
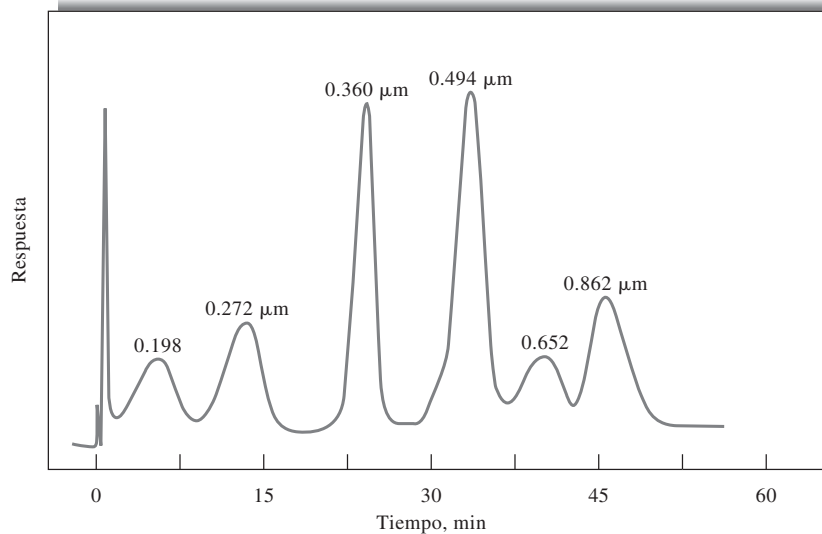


FIGURA 30.21 Se muestran tres componentes A, B y C comprimidos contra la pared de acumulación en FFC en diferentes cantidades debido a diversas interacciones con el campo externo. Cuando el flujo inicia, el componente A experimenta la velocidad más baja del solvente porque está más cerca de la pared. El componente B sobresale más en el canal donde experimenta una velocidad de flujo superior. El componente C, que interactúa al mínimo con el campo, experimenta la velocidad de flujo del solvente más alta y, por tanto, se desplaza mucho más rápido con el flujo.

FIGURA 30.22 Aparato de FFC de sedimentación. (Cortesía de Postnova Analytics.)



FIGURA 30.23 Fractograma que muestra la separación de cuentas de poliestireno de varios diámetros por medio del FFC de sedimentación. El flujo en el canal fue de 2 mL/min. (Cortesía de FFFractionation, LLC, Salt Lake City, UT.)



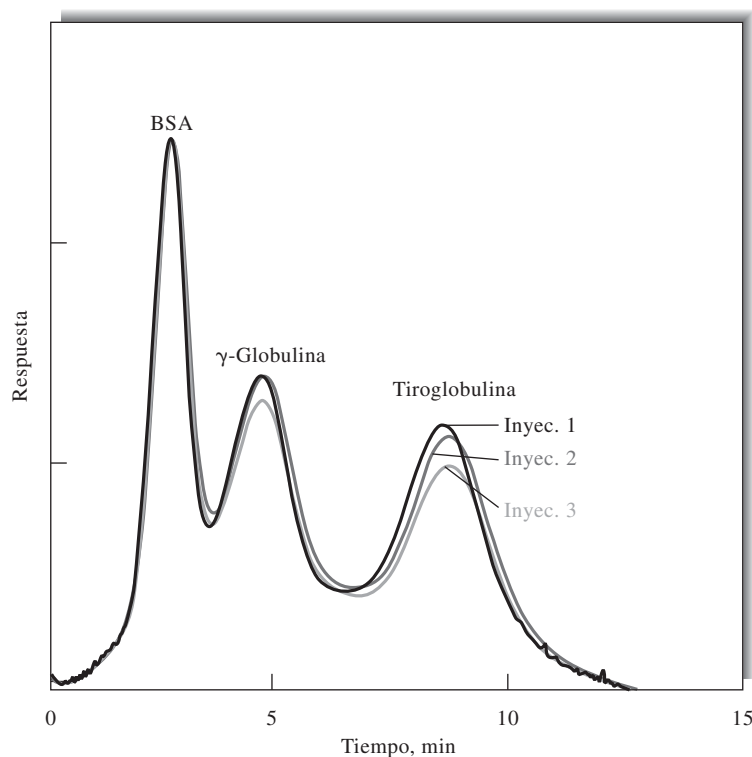


FIGURA 30.24 Separación de tres proteínas mediante el FFC de flujo. Se observan tres inyecciones separadas. En el experimento que se ilustra, la muestra se concentró en la parte superior del canal por medio de un flujo opuesto. BSA = albúmina de suero bovino. (De acuerdo con H. Lee, S. K. R. Williams, y J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, p. 2495. Copyright 1998 American Chemical Society.)

separación se logran con base en la carga eléctrica. Las especies con la carga más alta son guiadas con mayor efectividad hacia la pared de acumulación. Las especies con carga más baja no están tan compactas y sobresalen en la región con un flujo más alto. Por tanto, las especies con la carga más baja son eluidas primero y las especies con carga alta son retenidas más tiempo.

Como los campos eléctricos son muy poderosos, incluso los iones pequeños se pueden separar mediante FFC eléctrico. No obstante, los efectos de la electrólisis limitan las aplicaciones de este método a la separación de mezclas de proteínas y otras moléculas grandes.

Fraccionamiento por flujo y campo térmico

En este caso, el flujo térmico se aplica en forma perpendicular a la dirección del flujo para formar un gradiente de temperatura en el canal de fraccionamiento por flujo y campo. La diferencia de temperatura induce la difusión térmica en la cual la velocidad de movimiento se relaciona con el coeficiente de difusión térmica de la especie.

En particular, el fraccionamiento por flujo y campo térmico se adapta muy bien a la separación de polímeros sintéticos cuyas masas moleculares están entre 10^3 y 10^7 . Esta técnica tiene ventajas importantes sobre la cromatografía de exclusión por tamaño en el caso de polímeros de elevada masa molecular. Por otro lado,

parece que los polímeros de masa molecular baja se separan mejor mediante métodos de exclusión por tamaño. Además de los polímeros se han separado mediante fraccionamiento por flujo y campo térmico partículas y coloides.²⁴

FFC de flujo

Tal vez la más multifacética de las subtécnicas del fraccionamiento por flujo y campo es la de flujo, en la cual el campo externo es reemplazado por un flujo cruzado lento del líquido de transporte. El flujo perpendicular transporta material a la pared de acumulación de manera no selectiva. No obstante, el espesor de la capa de estado estable es diferente en los diversos componentes porque depende no sólo de la velocidad de transporte, sino también de la difusión molecular. Las distribuciones exponenciales de los espesores diferentes se forman como en el fraccionamiento por flujo y campo normal.

El FFC de flujo se aplica en separaciones de proteínas, polímeros sintéticos y diversas partículas coloidales. En la figura 30.24 se ilustra la separación de tres proteínas mediante esta técnica. La reproducibilidad se muestra mediante fractogramas de las tres inyecciones.

²⁴ P. M. Shiundu, G. Liu y J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 2705.

30E.3 Ventajas del fraccionamiento por flujo y campo respecto a los métodos cromatográficos

Al parecer, esta técnica tiene varias ventajas sobre los métodos cromatográficos comunes en el caso de algunas aplicaciones. En primer lugar, no se requiere material de relleno o fase estacionaria para que ocurra la separación. En algunos sistemas cromatográficos podrían ocurrir interacciones indeseables entre el material de relleno o la fase estacionaria y los constituyentes de la muestra. Algunos solventes o materiales de la muestra adsorben o reaccionan con la fase estacionaria o su soporte. Las macromoléculas y las partículas son especialmente susceptibles a dichas interacciones adversas.

Se conocen muy bien la forma y los perfiles de flujo que se dan en el fraccionamiento por flujo y campo. De igual manera, se puede hacer con rapidez un modelo del efecto de los campos más externos. Como resultado, se pueden hacer predicciones teóricas casi exactas de la retención y la altura de plato. En com-

paración, los pronósticos cromatográficos son todavía inexactos.

Para finalizar, el campo externo rige la retención en el FFC. Con el FFC eléctrico, de sedimentación y de flujo, las fuerzas perpendiculares se pueden variar con rapidez y también con una programación del tiempo. Esto da al FFC una cierta versatilidad para adaptarse a diferentes tipos de muestras. Asimismo, los métodos se pueden mejorar prontamente en lo referente a resolución y velocidad de separación.

Si bien el fraccionamiento por flujo y campo es un método que apenas se añadió al repertorio de los métodos de separación analíticos, ya demostró ser un muy buen complemento para la cromatografía. Los métodos en esta técnica son mejores para macromoléculas y partículas cuyas masas moleculares están más allá de los que se utilizan en los métodos cromatográficos. Por otro lado, los métodos cromatográficos son, sin lugar a dudas, superiores para las sustancias de masa molecular baja.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 30.1** ¿Qué es el flujo electroosmótico? ¿Por qué tiene lugar?
- 30.2** Sugiera una manera de evitar el flujo electroosmótico.
- 30.3** ¿Por qué el pH afecta a las separaciones de aminoácidos por electroforesis?
- 30.4** ¿Cuál es el fundamento de la separación por electroforesis capilar de zona?
- *30.5** Cierta catión inorgánico tiene una movilidad electroforética de $4.31 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$. El coeficiente de difusión de este mismo ion es de $9.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Si este ion se separa de otros cationes mediante electroforesis capilar de zona con un capilar de 50.0 cm, ¿cuál es la cantidad de platos N que podría esperarse si se aplica un voltaje de
 - a) 5.0 kV?
 - b) 10.0 kV?
 - c) 30.0 kV?
- *30.6** El analito catiónico del problema 30.5 fue separado mediante electroforesis capilar de zona en un capilar de 50.0 cm a 10.0 kV. En condiciones de separación, el caudal electroosmótico fue de 0.85 mm s^{-1} hacia el cátodo. Si el detector se localizara a 40.0 cm del extremo de inyección del capilar, ¿cuánto tardaría en minutos el catión del analito en llegar al detector después de aplicar el campo?
- 30.7** ¿Cuál es el fundamento de la cromatografía capilar micelar electrocinética? ¿En qué se diferencia de la electroforesis capilar de zona?
- 30.8** Describa una ventaja importante de la cromatografía capilar micelar electrocinética respecto a la cromatografía líquida ordinaria.

- 30.9** Se ionizan tres proteínas grandes al pH en el cual se efectúa la separación mediante la técnica de FFC eléctrico. Si los iones se designan A^{2+} , B^+ y C^{3+} , pronostique el orden de elución.
- 30.10** ¿Qué determina el orden de elución en el FFC de sedimentación?
- 30.11** Elabore una lista de las principales ventajas y limitaciones del FFC en comparación con los métodos cromatográficos.

Problema de reto



- 30.12** La doxorrubicina (DOX) es una antraciclina ampliamente utilizada que es muy eficaz en los tratamientos contra la leucemia y el cáncer de mama en seres humanos (A. B. Anderson, C. M. Ciriaks, K. M. Fuller y E. A. Ariaga, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 8). Por desgracia, se sabe que causa efectos secundarios como intoxicación del hígado y resistencia a los fármacos. En un estudio reciente, Anderson y sus colaboradores utilizaron fluorescencia inducida por rayo láser como método de detección en la electroforesis capilar para investigar los metabolitos de DOX en la célula y en fracciones de ella. En la tabla siguiente se muestran resultados similares a los que obtuvieron Anderson y sus colaboradores en la cuantificación de la doxorrubicina mediante fluorescencia inducida por rayo láser. Las áreas del pico de electroforesis capilar se midieron en función de la concentración de DOX para elaborar una curva de calibración.

Concentración de DOX, nM	Área del pico
0.10	0.10
1.00	0.80
5.00	4.52
10.00	8.32
20.00	15.7
30.00	26.2
50.00	41.5

- Deduzca la ecuación de la curva de calibración y la desviación estándar de la pendiente y la intersección con el eje de las y . Determine el valor de R^2 .
- Reacomode los términos de la ecuación del inciso anterior para expresar la concentración en función del área medida.
- Se determinó que el límite de detección para la DOX es 3×10^{-11} M. Si el volumen de inyección fue de 100 pL, ¿cuál es el límite de detección en moles?
- Dos muestras de concentración desconocida de DOX se inyectan y se determinan áreas de 11.3 y 6.97 para los picos. ¿Cuáles son las concentraciones y sus desviaciones estándar?
- En ciertas condiciones, el pico de DOX requirió 300 s para llegar al detector de fluorescencia inducida por rayo láser. ¿Qué tiempo requeriría si se duplicara el voltaje aplicado? ¿Qué tiempo requeriría si se duplicara la longitud del capilar con el mismo voltaje aplicado?
- El capilar que se usó en el inciso e) tiene un número de platos de 100 000 en condiciones normales. ¿Cuál sería N si la longitud original del capilar se duplicara y se mantuviera el mismo voltaje aplicado? ¿Cuál sería N si el voltaje aplicado se duplicara manteniendo la longitud original del capilar?
- En el caso de un capilar de 40.6 cm con diámetro interior de 50 μm , ¿cuál sería la altura de plato para un capilar con $N = 100,000$?
- Para el mismo capilar del inciso g), ¿cuál es la varianza σ^2 de un pico representativo?

Encontrando la acrilamida

Introducción

En 1997, en el suroeste de Suecia, los habitantes de la cercana cordillera de Hallandsas empezaron a encontrar truchas arco iris muertas en los arroyos cercanos y vacas paralizadas en los pastizales donde se alimentaban. Además, los trabajadores que estaban construyendo un túnel a través de la cordillera para el ferrocarril sueco sufrieron hormigueo y entumecimiento en las extremidades. El problema pronto se ubicó en los productos químicos lixiviados de las sustancias constituyentes de la lechada que se había inyectado para reforzar las capas de roca suave que se habían barrenado en la entrada del túnel. El descubrimiento de concentraciones altas de acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$), una *neurotoxina* y quizá un *carcinógeno*, en los arroyos, el agua subterránea y el forraje ocasionó que se detuviera la construcción del túnel. La acrilamida es el monómero de la poliacrilamida que se emplea mucho en la industria. En el año 2002, investigadores del organismo encargado de los alimentos en Suecia y la Universidad de Estocolmo¹ determinaron que había acrilamida en los alimentos que consumían los humanos. Desde entonces se han descubierto concentraciones relativamente altas de acrilamida en diversos alimentos procesados, como papas fritas, café, cereales para el desayuno, mantequilla de cacahuete y galletas. Se determinó que en altas concentraciones la acrilamida causa cáncer en animales de laboratorio. El producto químico está clasificado como carcinógeno del grupo 2A ("posible carcinógeno en humanos").² Los métodos analíticos que se usan para determinar si hay acrilamida son evidentemente muy importantes para establecer su origen, estudiar sus riesgos en la salud y encontrar medios para reducir la exposición del hombre a sus efectos.

Métodos analíticos para determinar la acrilamida

Se han propuesto varios procedimientos analíticos distintos para determinar la acrilamida.³ El análisis de muestras de alimentos representa un desafío debido a los altos niveles de interferencia de la matriz, en particular en alimentos con almidón. En los primeros métodos se recurrió a la cromatografía de gases y a la cromatografía de líquidos de alta resolución para efectuar la determinación. Ambos métodos fueron exitosos con agua, muestras agrícolas y muestras ambientales, pero la selectividad no fue suficiente en el caso de muestras de alimentos cocinados en los que las matrices son muy complejas. Los métodos que dan resultados más

satisfactorios en muestras de alimentos recurren a la espectrometría de masas acoplada con métodos de separación mediante cromatografía de gases o cromatografía de líquidos.

Métodos de cromatografía de gases-espectrometría de masas

En estos métodos, el analito se deriva mediante brominación o se determina por un método directo después de la extracción líquido-líquido. En el caso del método directo, el extracto se separa por cromatografía de gases capilar y el eluyente se supervisa mediante espectrometría de masas por ionización química (CI-MS). Un cromatograma característico GC-CI-MS de patrones se ilustra en la figura IA5.1. En estos experimentos se usa una columna capilar Carbowax con detección CI-MS con iones positivos. Los métodos de brominación, aunque más largos y tediosos que otros procedimientos, tienen muchas ventajas. Son muy selectivos, el analito es más volátil y son más sensibles que los métodos directos. Por lo regular, los iones $(\text{CH}_2-\text{CHBr}-\text{CONH}_2)^+$ y $(\text{CH}_2=\text{CHBr})^+$ se cuantifican en la modalidad de supervisión de ion selectivo mediante un instrumento cuadrupolar básico de espectrometría de masas. Se obtuvieron resultados mejores para la acrilamida mediante GC/MS/MS; o bien, GC acoplada con espectrometría de masas de alta resolución. Los límites de detección son menores que 10 µg/kg.

Métodos LC-MS

La mayor parte de los métodos de LC-MS utilizan extracción en fase sólida para la limpieza de las muestras y la concentración preliminar del analito. La principal ventaja de la extracción en fase sólida es la retención de muchas de las especies que interfieren. A menudo, la MS en tándem se aplica después de la extracción para proporcionar una mejor resolución sin la interferencia causada por el resto de los componentes. Las extracciones con acetato de etilo a partir de una fase acuosa también se utilizan para eliminar sales, azúcares, almidones y aminoácidos. Dichos procedimientos de limpieza son a menudo necesarios en el caso de matrices difíciles, como polvo de café, chocolates y cacao. Cuando se limpia la muestra de manera exhaustiva, los espectrómetros de masas de una sola etapa son más exitosos que los sistemas de MS-MS. Los límites de detección tanto para MS de una sola etapa y en tándem se aproximan a un valor de 10 µg/kg. Una ventaja importante de los métodos de cromatografía de líquidos es que no se requiere la derivación, lo cual simplifica el procedimiento y disminuye el tiempo de análisis. Los cromatogramas característicos de LC-MS de un patrón de control y el extracto de una papa frita contaminada con acrilamida se muestran en la figura IA5.2. Se usó ionización por electroaspersión y supervisión de iones selectos. Se empleó una fase completamente acuosa

¹E. Tareke, P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson y M. Törnqvist, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, p. 4998.

²International Agency for Research on Cancer, *Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, **1994**, 60, p. 435.

³D. Taeymans, J. Wood, P. Ashby, I. Blank, et al. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2004**, 44, p. 323.

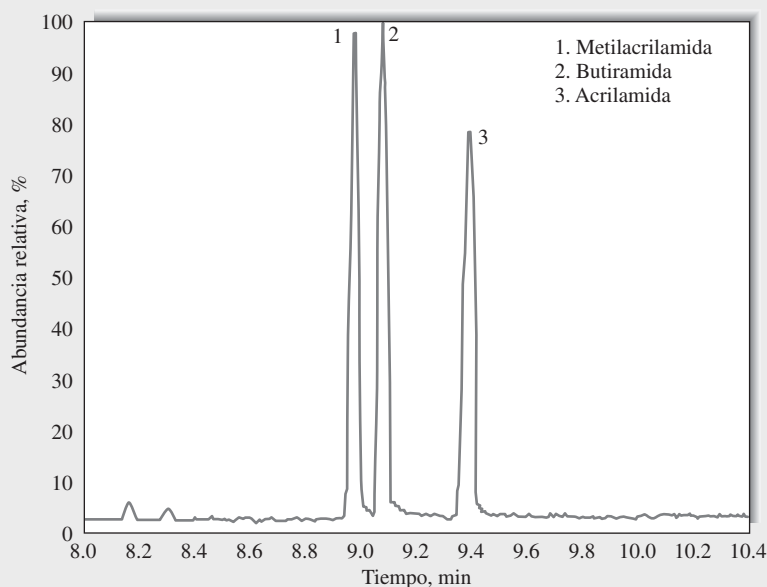


FIGURA IA5.1 Cromatograma representativo de patrones con GC-MS.

y móvil con una columna para cromatografía de líquidos de fase inversa fluorada.

Supervisión en línea

La espectrometría de masas de reacción con transferencia de protones se usa para la supervisión en línea de la acrilamida sin ningún tratamiento preliminar de la muestra.⁴ La forma-

ción de acrilamida liberada en la parte superior de una muestra de papa se examinó en tiempo real durante el tratamiento térmico. La cantidad de acrilamida liberada se correlacionó en forma positiva con la temperatura del tratamiento.

Estudios entre laboratorios

Aunque se ha logrado un adelanto importante para determinar la acrilamida, una reciente comparación entre laboratorios mostró que muchos métodos actuales no son satisfactorios en el caso de muestras en matrices complejas.⁵ Incluso con muestras relativamente simples, los valores de los resultados fueron muy diferentes para ser aceptables. Por consiguiente, se está perfeccionando la metodología analítica. Un método mejorado y totalmente validado de LC/MS/MS se dio a conocer hace poco tiempo, en él se utiliza una dilución de isótopos, LC/MS/MS con ionización mediante electroaspersión.⁶ Se obtuvieron excelentes resultados con polvos de chocolate, de cacao y de café.

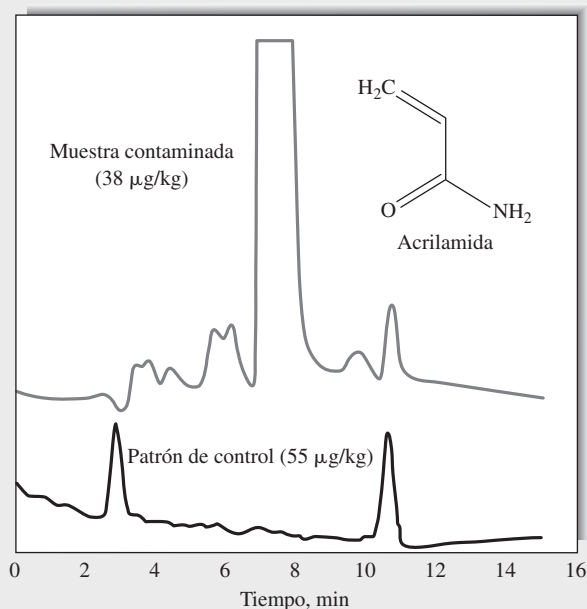


FIGURA IA5.2 Cromatograma de patrones de control y de una hojuela de papa frita contaminada con acrilamida.

Origen de la acrilamida en alimentos y el ambiente

Con el método analítico que se basa en GC-MS o LC-MS ha sido posible descubrir cómo se origina la acrilamida en los alimentos y el ambiente. En lo que se refiere al ambiente, la acrilamida surge de la agricultura, del tratamiento del agua y de la industria. Entre las diversas aplicaciones de la

⁴P. Pollen, C. Lindinger, C. Yeretzyan y I. Blank, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 5488.

⁵T. Wenzl, B. de la Calle, R. Gattermann, K. Hoenicke, F. Ulberth y E. Anklam, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 379, p. 449.

⁶T. Delatour, A. Perisset, T. Goldmann, S. Riediker y R. H. Stadler, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, p. 4625.

poliacrilamida está la purificación del agua, ya que con ella se forman acumulaciones de compuestos orgánicos en suspensión; asimismo, se usa en el agua de riego para mejorar la textura del suelo; en las fórmulas de los plaguicidas la poliacrilamida limita la deriva de las aspersiones y en la biología y la química se usa para preparar geles que se utilizan en electroforesis (véase sección 30C.2). Aunque por lo general se clasifica a la poliacrilamida como un aditivo no tóxico, puede estar contaminada con el monómero tóxico. Se ha establecido un límite arbitrario de 500 ppm de acrilamida en la preparación de la poliacrilamida para usos agrícolas y en el tratamiento de agua. La preparación de poliacrilamida que se usa en el riego o en el tratamiento de agua es a menudo un copolímero de ácido acrílico, el cual también libera acrilatos de los que se sabe ocasionan defectos de nacimiento (*teratógenos*).

En los alimentos se ha detectado acrilamida en los platillos ricos en carbohidratos cocinados a altas temperaturas y en condiciones de poca humedad.⁷ El compuesto no se ha detectado en alimentos crudos o hervidos. Los investigadores establecieron que la acrilamida en los alimentos es generada por reacciones que se relacionan con la reacción de Maillard, la cual es de carácter no enzimático y es la que da el color café a los alimentos cocinados. En la reacción de Maillard hay una combinación inicial de un aminoácido y un azúcar reductor. En el caso de los alimentos se determinó que el aminoácido es la asparagina. Se ha propuesto una serie compleja de pasos que generan la acrilamida. El tiempo de calentamiento y la temperatura son determinantes. El papel del agua y la influencia de las reacciones colaterales se entienden menos.

Estudios sobre los riesgos en la salud

Se sabe que la acrilamida ocasiona daño al sistema nervioso de humanos y animales. Un estudio conjunto de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la

Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) dio a conocer en 2002 los efectos de la acrilamida en la salud.⁸ Se calculó que en la población general, la ingesta diaria promedio de acrilamida con los alimentos está por abajo del nivel que causa efectos neurotóxicos. Por lo que toca al daño genético que podría ocasionar cáncer, el estudio concluyó que la evidencia a partir de estudios con humanos no mostró una relación entre las concentraciones de acrilamida y la incidencia de cáncer, aunque los estudios con animales sí sugieren dicha relación. El estudio también recomendó que la comunidad internacional realice más investigaciones y que se comparta mejor la información científica sobre la acrilamida. También se aconsejó al público reducir al mínimo el cocimiento de los alimentos, reducir el consumo de comida frita y con mucha grasa; y comer una dieta balanceada.

Posibilidades en el futuro

La investigación actual se dirige a mejorar la metodología analítica en relación con la acrilamida, establecer métodos para ayudar a dilucidar las propiedades cinéticas de su formación, entender los riesgos que ocasiona en la salud y los métodos para reducir su presencia en los alimentos. Después de que se entiendan mejor las reacciones y los mecanismos cinéticos para su formación, se podrá intentar reducir los niveles de acrilamida con bases firmes. Por ejemplo, con base en el conocimiento actual, se han recomendado métodos para reducir las concentraciones de acrilamida en los productos que se elaboran con papas, como su almacenamiento mientras están crudas a temperaturas controladas y la modificación de las condiciones que prevalecen durante su procesamiento. Asimismo, se recomendó el tratamiento enzimático de los productos de las papas con asparaginasa. Es evidente que se requieren más investigaciones científicas en este campo y la química analítica desempeñará un papel fundamental.

⁸*Health Implications of Acrylamide in Foods*, reporte de una consulta coordinada entre la FAO y la OMS, Organización Mundial de la Salud, Génova, 2002.

⁷I. Blank, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **2005**, 1043, p. 30.



Moderno analizador termogravimétrico. El instrumento está equipado con una balanza controlada por temperatura y funciona en condiciones de humedad restringida. Cuenta con un portamuestras que adquiere diversas posiciones y es capaz de efectuar análisis automatizados de hasta 25 muestras. Una versión de este sistema se caracteriza por tener un horno de radiación infrarroja para calentar desde la temperatura ambiente hasta 1200°C. Todo el sistema está controlado por una computadora con un programa diseñado para técnicas específicas y métodos analíticos. (Cortesía de TA Instruments, New Castle, DE.)

La sección seis está formada por cuatro capítulos dedicados a diversos métodos instrumentales. En el capítulo 31 se estudian el análisis termogravimétrico, el análisis térmico diferencial, la calorimetría de barrido diferencial y el análisis microtérmico. La teoría y la práctica de los métodos radioquímicos, como el análisis de activación de neutrones y las técnicas de dilución de isótopos se tratan en el capítulo 32. Los principios, los instrumentos y las aplicaciones de los analizadores automatizados se explican en el capítulo 33; también se describen los analizadores de inyección de flujo, los sistemas de microfluidos y los analizadores discretos. En el capítulo 34, con el cual finaliza esta sección y el libro, se habla sobre los métodos analíticos para determinar las dimensiones de las partículas. Entre ellos están la dispersión de la luz con láser de ángulo pequeño, la dispersión dinámica de la luz y la fotosedimentación. La sección “Análisis instrumental” en acción presenta el caso de John Vollman, la primera investigación de un asesinato en la cual se aplicó el análisis de activación de neutrones.

SECCIÓN SEIS

Métodos diversos

- 31 Métodos térmicos
- 32 Métodos radioquímicos
- 33 Métodos automatizados de análisis
- 34 Determinación del tamaño de partículas

Análisis instrumental en acción
El caso John Vollman

Métodos térmicos

Las técnicas del análisis térmico son aquellas en las cuales una propiedad física de una sustancia o sus productos de reacción se miden en función de la temperatura. Por lo regular, la sustancia se somete a un programa de temperatura controlada durante el análisis. Hay más de una docena de métodos térmicos, pero en este capítulo el estudio se centra en cuatro métodos que proporcionan principalmente información química y no física respecto a las muestras de materia. Estos métodos son **análisis termogravimétrico, análisis térmico diferencial, calorimetría de barrido diferencial y análisis microtérmico.**

Los métodos térmicos difieren en las propiedades que se miden y en los programas de temperatura aplicados.¹ Los cuatro métodos que se tratan en este capítulo se usan ampliamente tanto en control de calidad como en investigación sobre polímeros, preparaciones farmacéuticas, arcillas, minerales, metales y aleaciones.

31A ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO

En un análisis termogravimétrico se registra continuamente la masa de una muestra colocada en una atmósfera controlada en función de la temperatura o del tiempo en que aumenta su temperatura (por lo general, en forma lineal con el tiempo). La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina *termograma* o *curva de descomposición térmica*.

31A.1 Instrumentos

Los instrumentos comerciales modernos empleados en termogravimetría constan de 1) una microbalanza sensible, también llamada termobalanza; 2) un horno, 3) un sistema de gas de purga para proporcionar una atmósfera inerte o, algunas veces, reactiva y 4) un sistema computarizado para el control del instrumento y la adquisición y el proceso de los datos. Además, existe la opción común de añadir un sistema para sustituir el gas de purga en aquellos casos en los que este gas se tiene que cambiar durante el experimento.

Balanza térmica

Se pueden encontrar en el comercio diferentes diseños de termobalanzas o balanzas térmicas que tienen la capacidad de proporcionar información cuantitativa sobre muestras cuyas masas van desde 1 mg hasta 100 g. Sin embargo, el tipo de balanza más común acepta sólo masas entre 1 y 100 mg. Muchas de las balanzas son capaces de detectar cambios en la masa de hasta 0.1 µg. Si bien el soporte de la muestra debe estar alojado en el horno, el resto de la balanza debe estar aislado térmicamente de aquél. La figura 31.1 muestra el esquema de un diseño de una termobalanza. Un cambio en la masa de la muestra causa una desviación del brazo, que interpone un obturador luminoso entre una lámpara y uno de dos fotodiodos. El desequilibrio resultante en la corriente fotodiodica

¹ Para una descripción detallada de los métodos térmicos, véase *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*, P. J. Haines, ed., Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2002; P. J. Haines, *Thermal Methods of Analysis*, Londres: Blackie, 1995; B. Wunderlich, *Thermal Analysis*, Boston: Academic Press, 1990; W. W. Wendlandt, *Thermal Analysis*, 3a. ed., Nueva York: Wiley, 1985. Para estudios recientes, véase S. Vyazovkin, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3875; *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3299; *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2749. Para una descripción de los instrumentos para análisis térmico véase B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 689A.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. En el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, encontrará clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

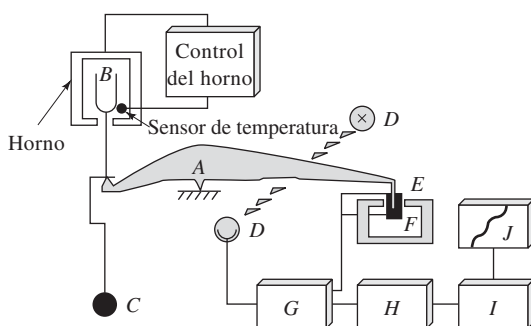


FIGURA 31.1 Componentes de una termobalanza. El brazo de la balanza es A, B es la copa y el portamuestra; C es un contrapeso, D es la lámpara y los fotodiodos, E es una bobina magnética y F es un imán permanente. Los sistemas de adquisición de datos, de proceso de datos y de control de la computadora son G, H e I. El componente J es la impresora y la pantalla. (Cortesía de Mettler-Toledo.)

se amplifica y alimenta la bobina E, que está situada entre los polos de un imán permanente F. El campo magnético generado por la corriente en la bobina devuelve al brazo su posición original. La corriente amplificada del fotodiodo se verifica y transforma en información sobre la masa o la pérdida de ella en el sistema de adquisición de datos. En la mayoría de los casos, los datos de masa frente a temperatura se representan en tiempo real o se almacenan para trabajar con ellos y desplegarlos después.

El horno

El intervalo de temperatura para la mayoría de los hornos para termogravimetría va desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, aunque algunos se usan con temperatura de hasta 1600°C. A menudo, las tasas de calentamiento se pueden seleccionar desde 0.1°C/min hasta 100°C/min. Algunos hornos se pueden calentar a 200°C/min. Para evitar la transferencia de calor a la balanza es necesario aislar y refrigerar el exterior del horno. Por lo regular se utiliza nitrógeno o argón para purgar el horno y evitar la oxidación de la muestra. En algunos análisis es necesario cambiar los gases de purga a lo largo del proceso. La figura 31.2 muestra un ejemplo en el que el gas de purga se cambió automáticamente de nitrógeno a oxígeno y luego volvió al nitrógeno. La muestra en este caso era carbón bituminoso. Se utilizó nitrógeno durante los primeros 18 minutos, mientras se registraba el contenido en humedad y el porcentaje de componentes volátiles. A continuación se cambió el gas por oxígeno, que fluyó durante 4 o 5 minutos, lo que provocó que el carbón se oxidara a dióxido de carbono. Para finalizar, se llevó a cabo una purga con nitrógeno que permitió medir el contenido de ceniza.

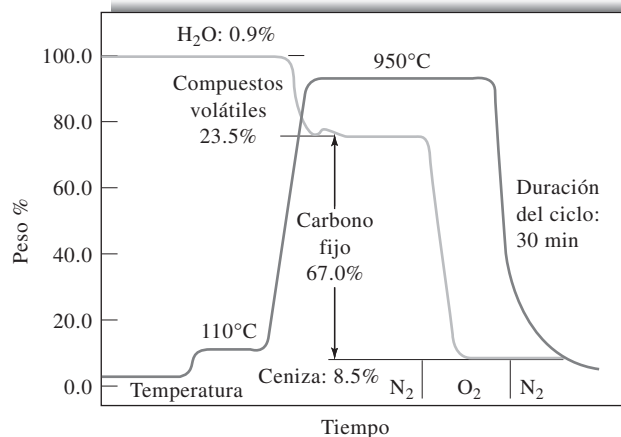


FIGURA 31.2 Termograma en atmósfera controlada de una muestra de carbón bituminoso. Se utilizó una atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 18 minutos seguida de una atmósfera de oxígeno durante 4 o 5 minutos. El análisis se completó con nitrógeno. (Reimpreso con autorización de C. M. Earnest, *Anal. Chem.*, 1984, 56, p. 1471A.)

El eje de la temperatura se calibra mediante un material cuyo punto Curie se conoce o se emplea un patrón de punto de fusión. El *punto Curie* es la temperatura a la cual un material ferromagnético se vuelve paramagnético. El material ferromagnético se suspende en un campo magnético orientado de tal manera que un componente vertical de la fuerza magnética actúa sobre la muestra. La fuerza magnética actúa como una masa magnética equivalente sobre el brazo de la balanza termogravimétrica para indicar una masa aparente de la muestra. Cuando la muestra se calienta y se deja que alcance su punto Curie, se pierde la masa magnética y la balanza indica una pérdida aparente de masa. La exactitud de la temperatura es mejor que 1°C en la mayoría de los hornos y la precisión de la temperatura es casi siempre $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Por lo regular, los hornos se enfrían mediante aire forzado. La mayoría de los hornos se puede enfriar desde 1000°C a 50°C en menos de 20 min.

Portamuestras

Por lo general, las muestras se colocan en recipientes hechos de platino, aluminio o alúmina. El platino se usa más porque es inerte y fácil de limpiar. Los volúmenes de los recipientes para la muestra varían de 40 μL a más de 500 μL . Hay accesorios tomadores de muestra automáticos para la mayoría de los sistemas termogravimétricos. En la mayoría de estas unidades, todos los aspectos son automáticos con ayuda de un programa de control. La tara del recipiente de la muestra, la carga y el peso; el calentamiento y el enfriamiento del horno, y la descarga del recipiente son completamente automáticos.

Control de la temperatura y manipulación de los datos

La temperatura registrada en un termograma es idealmente la temperatura real de la muestra. En principio, dicha temperatura puede obtenerse al introducir un pequeño termopar directamente en la muestra. Sin embargo, este procedimiento rara vez se sigue debido a las posibles descomposiciones catalíticas de las muestras, a la posible contaminación de las mismas y a los errores al determinar el peso que se generan en las terminales del termopar. Debido a estos problemas, las temperaturas registradas se miden con un pequeño termopar ubicado lo más cerca posible del recipiente de la muestra. Las temperaturas registradas tienen entonces un retraso o un adelanto respecto a la temperatura real de la muestra.

Los sistemas termogravimétricos modernos usan una rutina computarizada de control de la temperatura que de manera automática comparan el voltaje de salida del termopar con una tabla de voltaje contra temperatura almacenada en la memoria de la computadora. El ordenador utiliza la diferencia entre la temperatura del termopar y la temperatura especificada para ajustar el voltaje del calentador. En algunos sistemas, el mismo termopar realiza las funciones de elemento calentador y sensor de la temperatura. Con los sistemas modernos de control es posible lograr una concordancia excelente entre el programa de temperatura especificada y la temperatura de la muestra. La capacidad de reproducción de barrido a barrido para un programa concreto es de 2°C en todo el intervalo de operación del instrumento.

Instrumentos térmicos combinados

Varios fabricantes ofrecen sistemas que proporcionan mediciones simultáneas de flujo calorífico (véase la sección 31C para calorimetría de barrido diferencial) y cambio de masa, es decir, análisis termogravimétrico, o de cambio de energía (véase en la sección 31B el análisis térmico diferencial) y cambio de masa. Dichos instrumentos no sólo pueden rastrear la pérdida de material o un fenómeno de vaporización con la temperatura, sino también revelar transiciones relacionadas con estos procesos. Estas unidades combinadas tienen la capacidad de eliminar los efectos causados por los cambios en las dimensiones de la muestra, la homogeneidad y la forma. Muchos sistemas de análisis termogravimétrico producen la derivada del termograma así como el mismo termograma. Las gráficas de derivadas no son termogramas diferenciales verdaderos como los que se obtienen en los análisis térmicos dife-

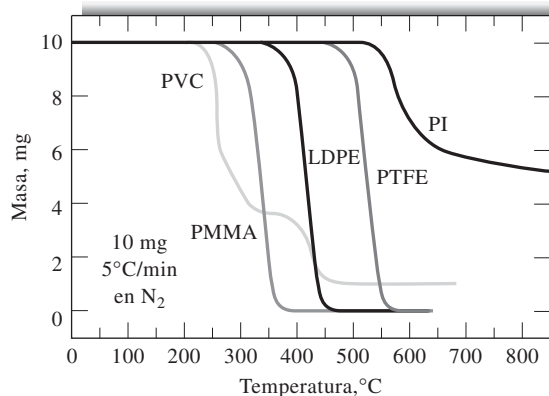


FIGURA 31.3 Termogramas de algunos materiales poliméricos comunes. PVC = policloruro de vinilo; PMMA = metacrilato de polimetilo; LDPE = polietileno de baja densidad; PTFE = politetrafluoroetileno; PI = polipiromelitimida aromática. (Tomado de J. Chiu en *Thermoanalysis of Fiber-Forming Polymers*, R. F. Schwenker, ed., Nueva York: Wiley, 1966.)

renciales, pero proporcionan información cualitativa similar. A menudo se les llama gráficas sencillas de análisis térmico diferencial.

Análisis termogravimétrico con espectrometría de masas y análisis termogravimétrico con IR y transformada de Fourier

Con el análisis termogravimétrico se determina la pérdida de masa a temperaturas específicas, pero este análisis no puede identificar las especies que la causan. Con el fin de obtener este tipo de información, la salida del analizador termogravimétrico se conecta con frecuencia a un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier o a un espectrómetro de masas. Varias compañías de instrumentos ofrecen dispositivos para conectar la unidad de análisis termogravimétrico con un espectrómetro. Algunas hasta afirman una verdadera integración de los programas de computadora y de los instrumentos de los sistemas de análisis termogravimétrico con espectrometría de masas y los de análisis termogravimétrico con IR y transformada de Fourier.

Análisis termogravimétrico de alta resolución

En esta clase de análisis, la tasa de calentamiento de la muestra fluctúa de modo que ésta se calienta con mayor rapidez durante los periodos de masa constante que durante los periodos en que ocurre el cambio de masa. Esto permite una resolución superior a la que se obtiene durante los periodos de interés y reduce el tiempo de inactividad.

31A.2 Aplicaciones

Puesto que el análisis termogravimétrico verifica la masa del analito con ayuda de la temperatura, la infor-



Clase interactiva: aprenda más acerca del **análisis termogravimétrico**.

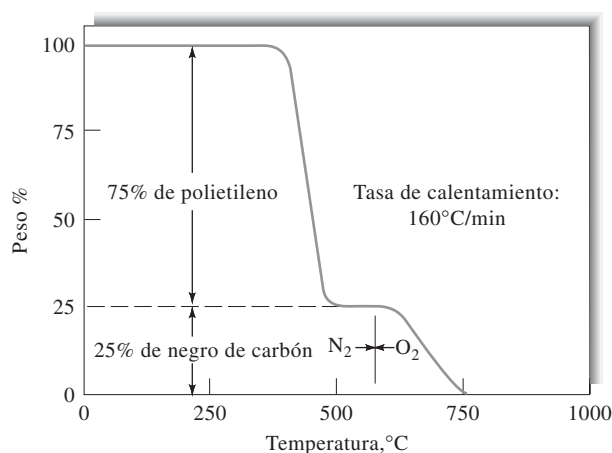


FIGURA 31.4 Determinación termogravimétrica de negro de carbón en polietileno. (Tomado de J. Gibbons, *Amer. Lab.*, 1981, 13 (1), p. 33. Copyright 1981 por International Scientific Communications, Inc.)

mación que proporciona es cuantitativa, pero limitada a las reacciones de descomposición y de oxidación, y a procesos como vaporización, sublimación y desorción. Entre las aplicaciones más importantes del análisis termogravimétrico² están el análisis de composición y los perfiles de descomposición de sistemas con múltiples componentes.

En los estudios sobre polímeros, los termogramas proporcionan información sobre los mecanismos de descomposición de diversas preparaciones poliméricas. Además, los patrones de descomposición son característicos de cada tipo de polímero y, en algunos casos, pueden utilizarse con fines de identificación. La figura 31.3 muestra los patrones de descomposición de cinco polímeros obtenidos por termogravimetría.

La figura 31.4 ilustra cómo se puede usar un termograma para analizar la composición de un material polimérico. La muestra es un polietileno que ha sido

²Si desea un análisis de las aplicaciones de los métodos térmicos, refiérase a A. J. Pasztor, in *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997, cap. 50.

contaminado con partículas finas de carbón para inhibir la degradación ocasionada por la exposición a la luz solar. Este análisis sería difícil de realizar con la mayor parte de los otros métodos analíticos.

En la figura 31.5 se muestra el termograma que se obtuvo al aumentar la temperatura del $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ puro a una tasa de 5°C/min. Las regiones horizontales perfectamente definidas corresponden a los intervalos de temperatura en los que los compuestos de calcio que se indican son estables. Esta figura ilustra una de las aplicaciones más importantes del análisis termogravimétrico, que es la definición de las condiciones térmicas necesarias para obtener una especie pura.

En la figura 31.6a se muestra una aplicación del análisis termogravimétrico al análisis cuantitativo de una mezcla de iones calcio, estroncio y bario. Los tres se han precipitado primero como oxalatos monohidratados. La masa en el intervalo de temperatura entre 320°C y 400°C corresponde a la de los tres compuestos anhidros, CaC_2O_4 , SrC_2O_4 y BaC_2O_4 , y la masa entre 580°C y 620°C corresponde al peso de los tres carbonatos. El cambio de peso en las dos siguientes etapas se debe a la pérdida de dióxido de carbono, ya que se forman primero CaO y, a continuación, SrO . Del termograma se obtienen suficientes datos para calcular el peso de cada uno de los tres elementos presentes en la muestra.

La figura 31.6b corresponde a la derivada del termograma que se muestra en la figura 31.6a. Algunas veces la curva derivada puede proporcionar información que no es detectable en un termograma ordinario. Por ejemplo, los tres picos a 140°C, 180°C y 205°C hacen pensar que los tres hidratos pierden humedad a diferentes temperaturas, pero todos ellos parecen perder dióxido de carbono de manera simultánea y, por tanto, dan un único pico agudo a 450°C.

Como el análisis termogravimétrico es capaz de proporcionar información cuantitativa, la determinación de niveles de humedad es otra importante aplicación. Se pueden determinar niveles de 0.5% y algunas veces menores.

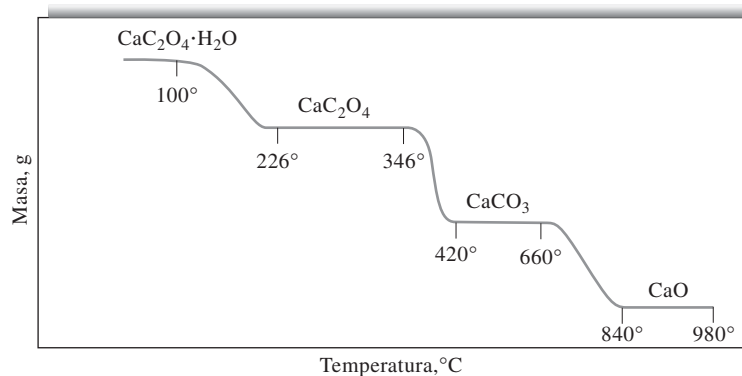


FIGURA 31.5 Termograma de la descomposición del $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en atmósfera inerte. (Tomado de S. Peltier y C. Duval, *Anal. Chim. Acta*, 1947, 1, p. 345. Con autorización.)

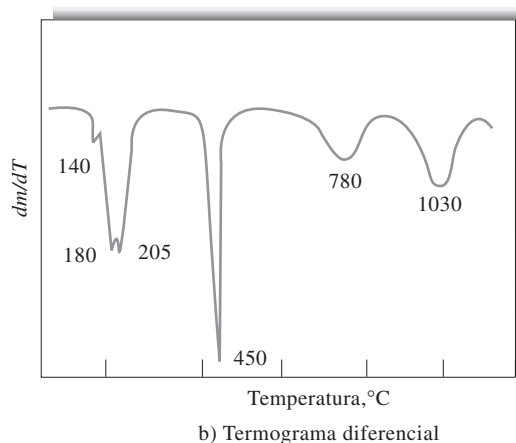
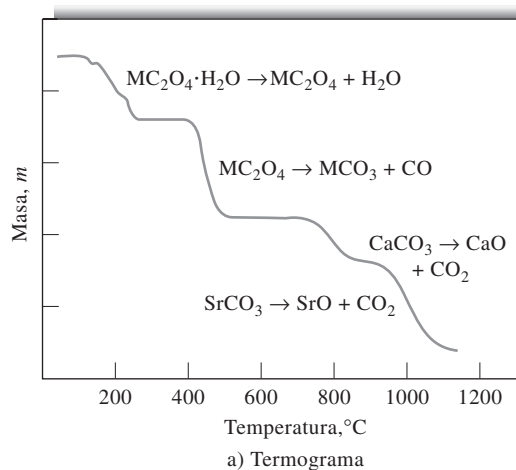


FIGURA 31.6 Descomposición de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{SrC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{BaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Tomado de L. Erdey, G. Liptay, G. Svehla y F. Paulike, *Talanta*, **1962**, 9, p. 490. Con autorización.)

31B ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL

El análisis térmico diferencial es una técnica en la que se mide la diferencia de temperatura entre una sustancia y un material de referencia en función de la temperatura cuando la sustancia y el patrón se someten a un programa de temperatura controlado. Por lo regular el programa de temperatura requiere el calentamiento de la muestra y el material de referencia de tal manera que la temperatura de la muestra T_s aumente linealmente con el tiempo. La diferencia de temperatura ΔT entre la temperatura de la muestra y la temperatura de la sustancia de referencia T_r ($\Delta T = T_s - T_r$) se controla y se grafica contra la temperatura de la muestra para dar un termograma diferencial como el que se muestra en la figura 31.7. (El significado de las diferentes partes de esta curva se aclara en la sección 31B.2.)

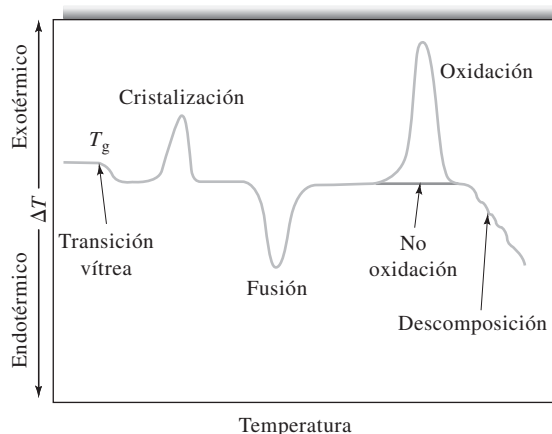


FIGURA 31.7 Termograma diferencial que muestra los tipos de cambios encontrados con materiales poliméricos. (Tomado de R. M. Schulken Jr., R. E. Roy Jr., y R. H. Cox, *J. Polymer Sci., parte C*, **1964**, 6, p. 18. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

31B.1 Instrumentos

En la figura 31.8 se muestra un esquema del horno de un analizador térmico diferencial. Unos pocos miligramos de muestra (M) y de una sustancia de referencia inerte (R) se introducen en pequeños platillos de aluminio colocados encima de unos termopares para la muestra y para la referencia en un horno que se calienta con corriente eléctrica. El material de referencia es una sustancia inerte, como la alúmina, el carburo de silicio o cuentas de vidrio.

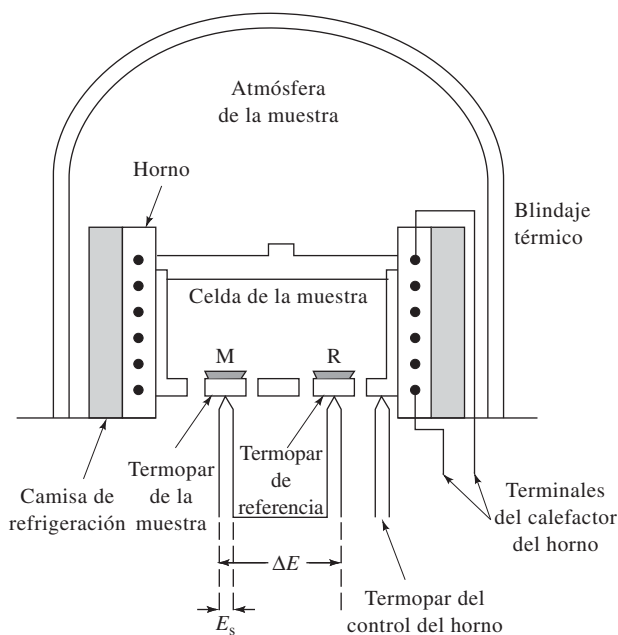


FIGURA 31.8 Esquema de un instrumento típico para análisis térmico diferencial.

El voltaje de salida digitalizado E_s del termopar de la muestra pasa a una computadora que controla la entrada de corriente al horno de tal manera que la temperatura de la muestra aumenta linealmente y a una velocidad predeterminada. La señal del termopar de la muestra se convierte también en temperatura T_s , y se registra entonces como la abscisa del termograma diferencial. La salida a través de los termopares de la muestra y de la referencia ΔE se amplifica y se convierte en una diferencia de temperatura ΔT , que se utiliza como ordenada del termograma.

En general, las cámaras de la muestra y de la referencia en un aparato para análisis térmico diferencial están diseñadas para permitir la circulación de un gas inerte, como nitrógeno, o un gas reactivo, como oxígeno o aire. Algunos sistemas también tienen la capacidad de funcionar a altas y bajas presiones.

31B.2 Principios generales

La figura 31.7 muestra un termograma diferencial ideal obtenido al calentar un polímero a un intervalo de temperatura suficiente para provocar su total descomposición. El descenso inicial de ΔT se debe a la transición vítrea, un fenómeno que se observa en los segmentos iniciales de muchos termogramas diferenciales de polímeros. La temperatura de transición vítrea T_g es aquella a la cual los polímeros amorfos vitrificados se hacen flexibles o similares al caucho debido a que se inicia el movimiento coordinado de los largos segmentos de las moléculas del polímero. Cuando éste se calienta a una cierta temperatura T_g , cambia de vidrio a goma. En esta transición no hay absorción o desprendimiento de calor, por lo que no da lugar a ningún cambio en la entalpía, es decir, $\Delta H = 0$. Sin embargo, la capacidad calorífica de un caucho es diferente de la de un vidrio, lo que da lugar a un descenso de la línea de base, tal como se muestra en la figura. En esta transición no se produce ningún pico porque el cambio de entalpía es cero.

En el termograma de la figura 31.7 se observan dos máximos y un mínimo. Los dos máximos son resultado de los procesos exotérmicos en los que el calor se desprende de la muestra, lo que causa que su temperatura aumente. El mínimo llamado “fusión” es la consecuencia de un proceso endotérmico en el que el calor es absorbido por el analito. Cuando se calientan hasta una temperatura característica, muchos polímeros amorfos empiezan a cristalizar formando microcristales y se libera calor en este proceso. La formación de cristales es la causante del primer pico exotérmico que se muestra en la figura 31.7.

El segundo pico de la figura es endotérmico e involucra la fusión de los microcristales formados en el

proceso exotérmico inicial. El tercer pico es exotérmico y se produce sólo si el calentamiento se efectúa en presencia de aire o de oxígeno; es el resultado de la oxidación exotérmica del polímero. El cambio negativo final en ΔT se debe a la descomposición endotérmica del polímero para dar lugar a una gran variedad de productos.

Como se sugiere en la figura 31.7, los picos de análisis térmico diferencial son el resultado tanto de cambios físicos como de reacciones químicas inducidos por los cambios de temperatura en la muestra. Entre los procesos físicos que son endotérmicos están: fusión, vaporización, sublimación, absorción y desorción. La adsorción y la cristalización por lo general son exotérmicas. Las reacciones químicas pueden ser también exotérmicas o endotérmicas. Entre las reacciones endotérmicas están la deshidratación, la reducción en una atmósfera gaseosa y la descomposición. Entre las reacciones exotérmicas están la oxidación en aire u oxígeno, la polimerización y las reacciones catalíticas.

31B.3 Aplicaciones

En general, el análisis térmico diferencial se considera una técnica cualitativa. Aunque es capaz de medir las temperaturas a las cuales ocurren varios cambios, es incapaz de medir la energía asociada con cada fenómeno.

El análisis térmico diferencial es una herramienta que se utiliza ampliamente para estudiar y caracterizar polímeros. La figura 31.7 ilustra los tipos de cambios físicos y químicos que se pueden estudiar en los materiales poliméricos con métodos térmicos diferenciales. Observe que las transiciones térmicas de un polímero a menudo tienen lugar en un extenso intervalo de temperatura, ya que incluso un polímero puro es una mezcla de homólogos y no es una especie química única.

El análisis térmico diferencial se utiliza mucho en la industria de la cerámica y de los metales. Esta técnica es apta para estudiar procesos a altas temperaturas (hasta 2400°C en algunos instrumentos) y tamaños de muestra relativamente grandes, por ejemplo, cientos de miligramos. En el caso de dichos materiales, el análisis térmico diferencial se utiliza para estudiar las temperaturas de descomposición, transiciones de fase, puntos de fusión y de cristalización y estabilidad térmica.

Un uso importante del análisis térmico diferencial está en la generación de diagramas de fase y en el estudio de las transiciones de fase. En la figura 31.9 se da un ejemplo, que es el termograma diferencial del azufre, en el cual el pico a 113°C corresponde al cambio de la fase sólida de la forma rómbica a la forma monoclinica. El pico a 124°C corresponde al punto de fusión del elemento. Se sabe que el azufre líquido existe en al menos tres formas, y el pico a 179°C aparentemente pasa por estas transiciones, mientras que el pico a 446°C corresponde al punto de ebullición del azufre.



Clase interactiva: aprenda más acerca del **análisis térmico diferencial**.

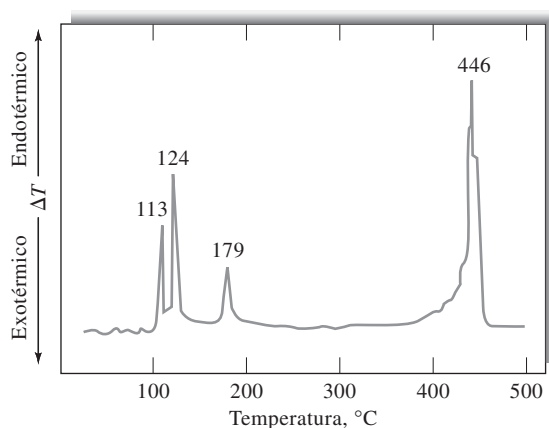


FIGURA 31.9 Termograma diferencial para el azufre. (Reimpreso de J. Chiu, *Anal. Chem.*, **1963**, 35, p. 933. Copyright 1963 American Chemical Society.)

El método térmico diferencial proporciona también una manera sencilla y exacta para determinar los puntos de fusión, ebullición y descomposición de compuestos orgánicos. En general, los resultados parecen ser más consistentes y más reproducibles que los obtenidos con una placa caliente o con un tubo capilar. La figura 31.10 ilustra los termogramas para el ácido benzoico a presión atmosférica (*A*) y a 13.79 bares (*B*). El primer pico corresponde al punto de fusión y el segundo al punto de ebullición del ácido.

31C CALORIMETRÍA DE BARRIDO DIFERENCIAL

Éste es el método de análisis térmico más usado, sobre todo por su rapidez, sencillez y disponibilidad. En la calorimetría de barrido diferencial la muestra y la referencia se colocan en recipientes especiales en el ins-

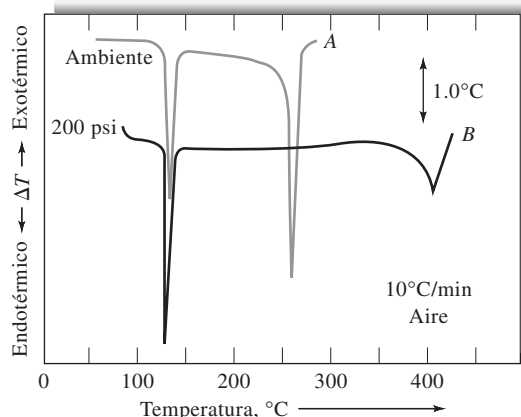


FIGURA 31.10 Termograma diferencial del ácido benzoico. La curva *A* fue tomada a presión atmosférica. La curva *B* fue tomada a una presión de 13.79 bares (200 lbs/in.²). (Tomado de P. Levy, G. Nieuweboer y L. C. Semanski, *Thermochim. Acta*, **1970**, 1, p. 433. Con autorización.)

trumento. Los calentadores suben la temperatura a una tasa especificada, por ejemplo, 5°C/min) o bien, mantienen la calorimetría de barrido diferencial a una temperatura determinada. El instrumento mide la diferencia en el flujo de calor entre la muestra y la referencia. La diferencia básica entre la calorimetría de barrido diferencial y el análisis térmico diferencial estriba en que la primera es un método calorimétrico en el que se miden diferencias de *energía*. Por el contrario, en el análisis térmico diferencial, se registran diferencias de temperatura. Los programas de temperatura para los dos métodos son similares. Se considera que la calorimetría de barrido diferencial es una técnica cuantitativa, a diferencia del análisis térmico diferencial.

31C.1 Instrumentación

Hay tres tipos distintos de instrumentos para calorimetría de barrido diferencial (DSC, por sus siglas en inglés): instrumentos para *DSC de potencia compensada*, *DSC de flujo de calor* y *DSC modulada*. Cada una genera una gráfica de potencia o flujo de calor contra temperatura, que se denomina *termograma*.³

Instrumentos para DSC de potencia compensada

En esta técnica, las temperaturas de la muestra y el material de referencia se mantienen iguales mientras se aumentan o disminuyen en forma lineal. Se registra la energía necesaria para conservar la temperatura de la muestra igual a la de la referencia.

En la figura 31.11 se presenta un esquema de un portamuestra y una unidad de calentamiento para DSC de potencia compensada. Se utilizan dos unidades de calentamiento independientes muy pequeñas, lo cual facilita el calentamiento, el enfriamiento y el equilibrio rápidos. Las unidades de calentamiento están empujadas en un amplio sumidero de calor de temperatura controlada. En los soportes de la muestra y de la referencia están insertados termómetros de resistencia de platino para controlar continuamente la temperatura de los dos materiales. Tanto la muestra como la referencia se mantienen a una temperatura programada mediante la aplicación de energía a los calentadores de la muestra y de la referencia. El instrumento registra la diferencia de energía necesaria para conservar la muestra y la referencia a la misma temperatura en función de la temperatura programada.

La DSC de potencia compensada proporciona menor sensibilidad que la DSC de flujo de calor, pero su tiempo de respuesta es más rápido. Esto hace que la técnica sea la más adecuada para estudios cinéticos en los que se requiere un equilibrio rápido al establecer

³Para descripciones de instrumentos para CBD que se encuentran en el comercio consulte B. E. Erickson, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 689A; D. Noble, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, p. 323A.

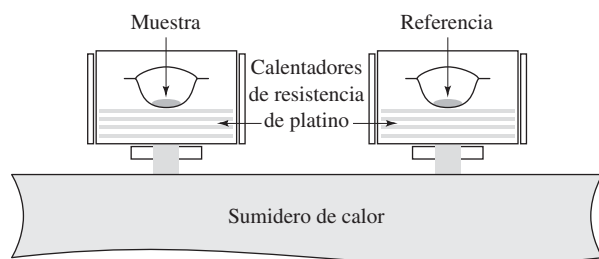


FIGURA 31.11 Soportes para la muestra y la referencia, y calentadores para calorimetría de barrido diferencial (DSC) de potencia compensada. El sistema de la computadora genera un programa de temperatura. Unos termómetros con resistencia de platino, en contacto con los soportes de la muestra y la referencia, detectan cualquier diferencia entre la temperatura programada y las temperaturas de la muestra y la referencia. La señal de error se usa para ajustar la potencia aplicada a la muestra y a los calentadores con resistencia de platino de la referencia. La señal de salida de la DSC es la diferencia en la potencia que se requiere entre la muestra y la referencia de modo que ambas igualen la temperatura programada.

nuevas temperaturas. Esta técnica también posee mayor capacidad de resolución que la DSC de flujo de calor.

Instrumentos para DSC de flujo de calor

En esta técnica se mide la diferencia en el flujo de calor en la muestra y en la referencia mientras la temperatura de la muestra cambia a un ritmo constante. Tanto la muestra como la referencia se calientan con una misma unidad calefactora. El calor fluye tanto hacia la muestra como hacia el material de referencia a través de un disco termoelectrónico de constantán calentado eléctricamente, como se puede ver en la figura 31.12. Los platillos pequeños de aluminio para la muestra y la referencia se colocan sobre plataformas elevadas formadas en el disco de constantán.⁴ El calor se transfiere a través de los discos hacia los materiales por medio de los dos platillos. El flujo de calor diferencial de la muestra y de la referencia se controla mediante unos termopares de superficie de Chromel-constantán formados por la unión entre la plataforma de constantán y los discos de Chromel unidos a la parte inferior de la plataforma. La diferencia entre la cantidad de calor que fluye hacia los dos platillos es directamente proporcional a la diferencia en las salidas de las dos uniones del termopar. La temperatura de la muestra se calcula por la unión de Chromel-alumel colocada debajo del disco de la muestra.

⁴El constantán es una aleación con 60% de cobre y 40% de níquel. El Chromel es una marca registrada para una serie de aleaciones que contienen cromo, níquel y, algunas veces, hierro. El alumel es una aleación de níquel con 2% de aluminio, 2% de manganeso y 1% de silicio.

En la calorimetría de barrido diferencial con flujo de calor es posible expresar el flujo total de calor dH/dt como

$$\frac{dH}{dt} = C_p \frac{dT}{dt} + f(T, t) \quad (31.1)$$

donde H es la entalpía en J mol^{-1} , C_p es la capacidad calorífica específica (capacidad calorífica por mol) en $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ y $f(T, t)$ es la respuesta cinética de la muestra en J mol^{-1} . Por consiguiente, se observa que el flujo de calor es la suma de dos términos, uno relacionado con la capacidad calorífica y otro relacionado con la respuesta cinética. En la figura 31.13 se ilustra un termograma típico de calorimetría de barrido diferencial. En la gráfica se ven varios procesos que ocurren cuando cambia la temperatura. Un incremento en el flujo de calor evidencia un proceso exotérmico y una disminución indica un proceso endotérmico.

Instrumentos para calorimetría de barrido diferencial modulada

En esta técnica se usa la misma configuración de celda y calefactores que en el método de flujo de calor. Se superpone una función sinusoidal en el programa de temperatura global con el fin de producir un microciclo de calentamiento y enfriamiento cuando la temperatura total aumenta o disminuye de manera uniforme. Al aplicar los métodos de transformada de Fourier, la señal total se desconvoluciona matemáticamente en dos partes, a saber, una señal de flujo de calor reversible y una señal de flujo de calor irreversible. La primera se relaciona con el componente de la capacidad calorífica del termograma y la segunda se relaciona con los procesos cinéticos. Por lo regular las transiciones por etapas, como la transición vítrea, aparecen sólo en la señal de flujo calorífico reversible y en los fenómenos exotérmicos o endotérmicos podrían aparecer alguna de las dos o ambas señales.

En la figura 31.14 se ilustra una gráfica en la que se puede ver la descomposición de la señal de flujo de

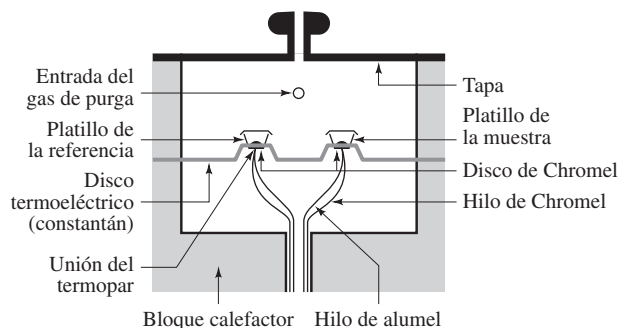


FIGURA 31.12 Calorimetría de barrido diferencial de flujo de calor. (Cortesía de TA Instruments, New Castle, DE.)

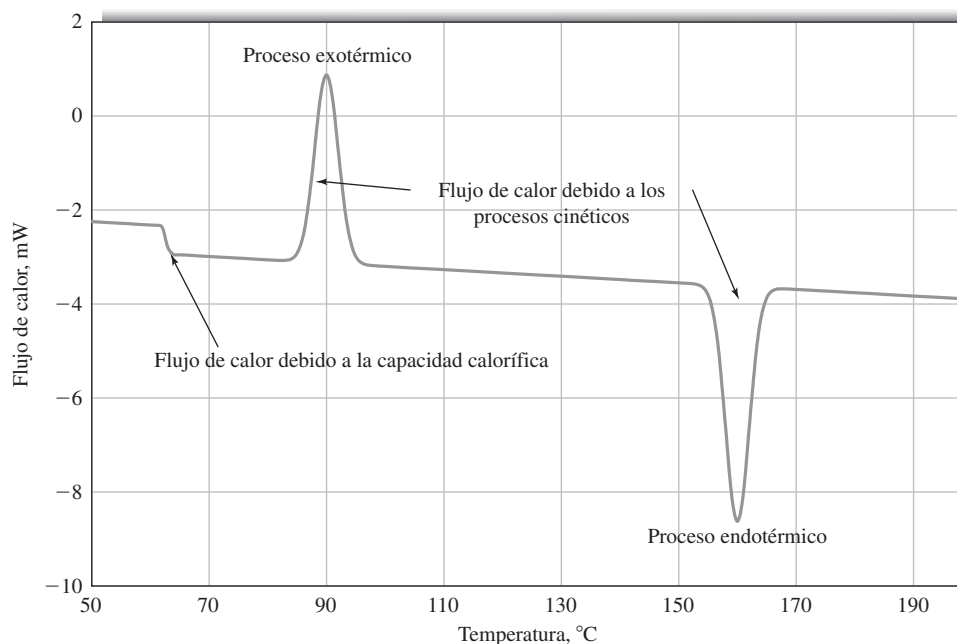


FIGURA 31.13 Barrido con DSC característico para un material polimérico. Observe la transición por etapas a casi 63°C. Hay un fenómeno exotérmico a casi 90°C y uno endotérmico a 160°C. Note también que el termograma representa la suma del flujo de calor debido a la capacidad calorífica y los procesos cinéticos. (Cortesía de TA Instruments, New Castle, DE.)

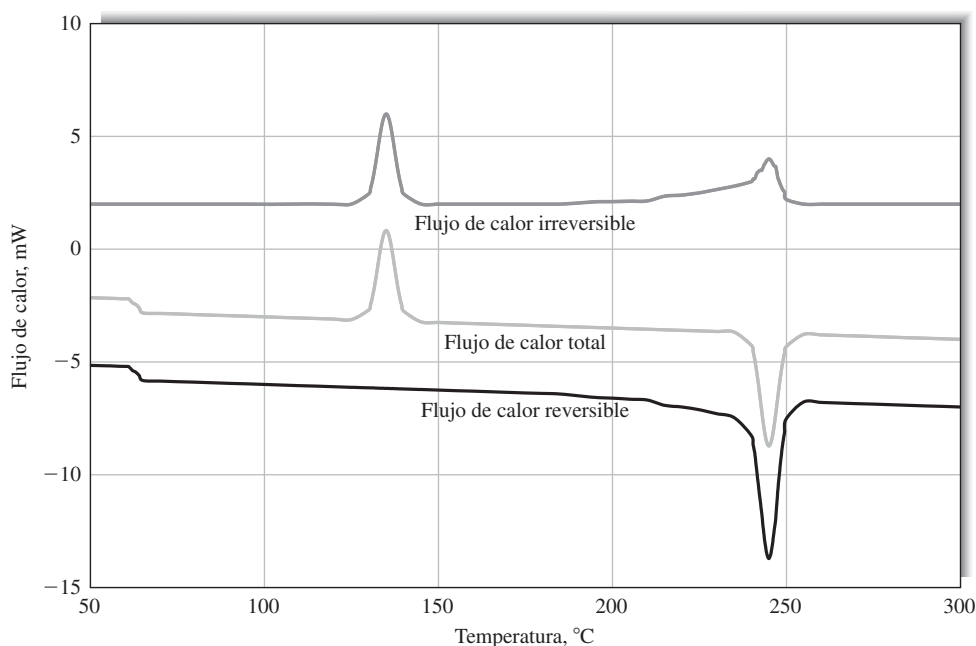


FIGURA 31.14 Termograma desconvolucionado a partir de un aparato de calorimetría de barrido diferencial modulada en el que se muestran los componentes irreversible y reversible del flujo de calor. (Cortesía de TA Instruments, New Castle, DE.)

calor total en el componente reversible y en el componente irreversible. Observe que la transición cerca de 60°C aparece en el componente de flujo de calor reversible asociada con la parte de capacidad calorífica del

flujo de calor total. El proceso endotérmico cercano a 250°C también aparece en el componente reversible y el proceso exotérmico cercano a 150°C aparece en el componente irreversible.

Experimento de calorimetría de barrido diferencial

Un experimento característico de DSC inicia con la determinación del peso de un platillo vacío para la muestra. Los platillos casi siempre están hechos de aluminio, pero también se utiliza oro, acero inoxidable y ampollas de vidrio. A menudo se usan platillos herméticos. Luego se transfiere una pequeña cantidad de la muestra de tal manera que quede una capa uniforme en el fondo del recipiente. Este recipiente se sella en forma hermética y luego se pesa de nuevo. Cuando los recipientes de la muestras y de la referencia ya están en su posición, se aplica el gas de purga. Algunos instrumentos están equipados con muestreadores automáticos, con los que se pueden tener múltiples recipientes para muestras en un soporte para ser sometidos a estudio en forma sucesiva. Los gases de purga más comunes son el helio o el nitrógeno, pero a veces se utiliza aire u oxígeno para estudiar los procesos de oxidación. El gas de purga ayuda a extraer la humedad y el oxígeno de la muestra y favorece la transferencia de calor al recipiente de la misma.

Los instrumentos modernos de calorimetría de barrido diferencial están controlados mediante una computadora de modo que el experimento se efectúa en forma automática luego de que el usuario indica los parámetros, como el programa de temperatura y los diversos valores de calibración.

Calibración en la calorimetría de barrido diferencial

Por lo general, el sistema de DSC se calibra de varias maneras. La calibración de referencia se desarrolla sin recipientes en el lugar que les corresponde. La calibra-

ción mide la pendiente de la línea de referencia y el desplazamiento que tiene en los valores de temperatura de interés. El sistema de la computadora que controla la calorimetría de barrido diferencial almacena estos valores y resta la pendiente y el desplazamiento de la línea de referencia de los valores que se obtienen en los estudios posteriores de la muestra para reducir al mínimo sus efectos.

Después de efectuar la calibración de la línea de referencia, se lleva a cabo la calibración del flujo de calor fusionando una cantidad conocida de un material con un calor de fusión muy bien conocido. El indio es el patrón que se usa con más frecuencia. Se coloca el indio en el recipiente para la muestra y se barre comparándolo con un recipiente vacío, que es el que contendrá la referencia. El área del pico de fusión se relaciona con la entalpía de fusión conocida mediante un factor de calibración denominado *constante de la celda*. Este procedimiento también calibra el eje de temperatura a partir de la temperatura de fusión conocida del indio. Asimismo, la calibración de la temperatura también se puede efectuar en un amplio intervalo de valores de temperatura si se miden los puntos de fusión de varios patrones muy bien conocidos.

Por lo que se refiere a las determinaciones de la capacidad calorífica con sistemas de calorimetría de barrido diferencial normal y DSC modulada, la calibración de la capacidad calorífica se efectúa barriendo un patrón de capacidad calorífica, como el zafiro. Éste calibra el sistema respecto a los valores de C_p y se usa para separar los componentes de la capacidad calorífica y el flujo de calor total.

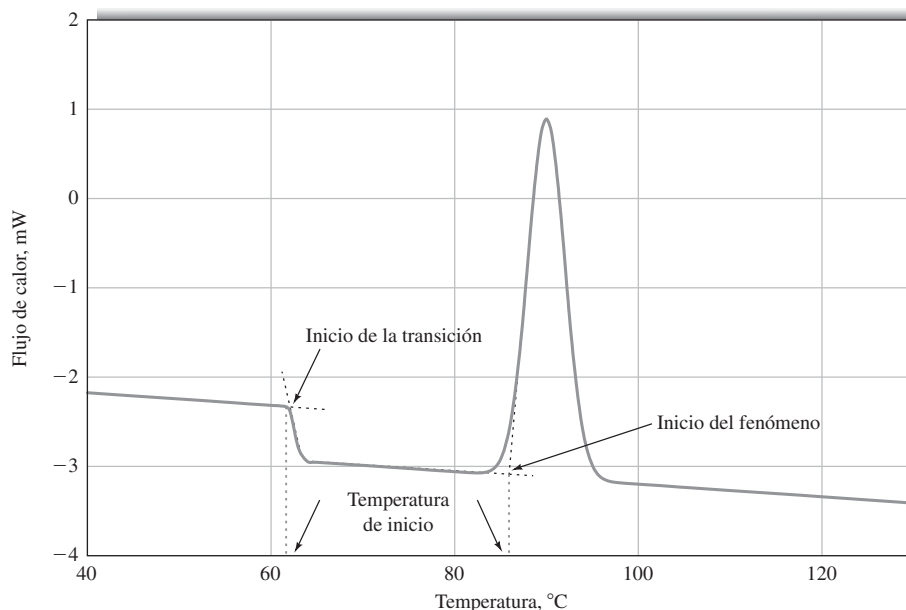


FIGURA 31.15 Determinación de las temperaturas de inicio para una transición y un proceso exotérmico (cristalización).

Análisis de datos de la CBD

En el caso de los instrumentos modernos para calorimetría de barrido diferencial, los programas para computadora ayudan al usuario a determinar los puntos de fusión, las temperaturas de transición vítreas y los valores de capacidad calorífica. Las temperaturas de las transiciones en etapa y los fenómenos cinéticos se determinan casi siempre como temperaturas de inicio. Una temperatura de inicio se define como aquella a la cual una línea tangente a la línea de base interseca otra línea tangente a la pendiente de transición, como se ilustra en la figura 31.15. En algunos casos las temperaturas de transición, como la de la transición vítrea, se toman como el punto medio de la transición y no como el inicio.

La etapa en una transición, como la transición vítrea, se relaciona con el cambio en la capacidad calorífica a medida que el material pasa por la transición desde una etapa a otra. Por lo general el cambio en la capacidad calorífica se calcula como la diferencia entre la capacidad calorífica al inicio y al final de la transición. La entalpía de fusión o de cristalización se determina al calcular el área de la endoterma o exoterma representativa mediante integración.

31C.2 Aplicaciones

La calorimetría de barrido diferencial tiene muchas aplicaciones para determinar las características de los materiales. Entre las aplicaciones cuantitativas están la determinación de los calores de fusión y el grado de cristalización de materiales cristalinos. Las temperaturas de transición vítrea y los puntos de fusión son útiles en la clasificación cualitativa de materiales, aunque los métodos térmicos no se pueden usar solos para la identificación. Asimismo, los puntos de fusión son muy útiles para establecer la pureza de varias preparaciones. Por tanto, los métodos térmicos se aplican a menudo en el control de calidad.

Temperaturas de transición vítrea

La determinación de la temperatura de transición vítrea T_g es una de las aplicaciones más importantes de la calorimetría de barrido diferencial. Las propiedades físicas de un polímero sufren cambios impresionantes a la T_g , en la que el material pasa de un estado vítreo a un estado similar al del caucho. En la transición del vidrio, el polímero manifiesta cambios en su volumen y en la expansión, en el flujo de calor y en la capacidad calorífica. El cambio en esta última se mide con facilidad mediante calorimetría de barrido diferencial.

Cristalinidad e índice de cristalización

En el caso de los materiales cristalinos, el grado de cristalinidad es un factor importante para determinar las propiedades del polímero. Los grados de cristalinidad se determinan mediante espectroscopía en el infrarrojo, difracción de rayos X, mediciones de la densidad y métodos térmicos. En la mayoría de los casos la calorimetría de barrido diferencial es uno de los métodos más fáciles para determinar niveles de cristalinidad. El grado de cristalinidad se obtiene al medir la entalpía de fusión para una muestra $(\Delta H_f)_{\text{muestra}}$ y compararla con la entalpía de fusión para todo el material cristalino $(\Delta H_f)_{\text{cristal}}$. La cristalinidad fraccionaria es entonces

$$\text{Cristalinidad fraccionaria} = (\Delta H_f)_{\text{muestra}} / (\Delta H_f)_{\text{cristal}} \quad (3.12)$$

Asimismo, los métodos calorimétricos se usan para estudiar los índices de cristalización. La cristalización es un fenómeno exotérmico, como se ilustra en la figura 31.15. La tasa de liberación de calor y, por consiguiente, los procesos cinéticos de la cristalización se pueden seguir mediante calorimetría de barrido diferencial.

Propiedades cinéticas de las reacciones

Muchas reacciones químicas, como las de formación de polímeros, son exotérmicas y se supervisan fácilmente con los métodos de calorimetría de barrido diferencial. En este caso, la determinación de la tasa de liberación de calor, dH/dt , se utiliza para determinar el grado de reacción en función del tiempo. Los mecanismos cinéticos de la polimerización se pueden estudiar mediante un barrido de temperatura y de un modo isotérmico. En el caso de algunos sistemas de polímeros, factores como la volatilidad y la viscosidad de un monómero afectan las propiedades cinéticas medidas.

31D ANÁLISIS MICROTÉRMICO

En este tipo de análisis⁵ se combina el análisis térmico con la microscopía de fuerza atómica. En realidad, es una familia de técnicas de microscopía térmica de barrido en la cual las propiedades térmicas de una superficie se miden en función de la temperatura y se usan para generar una imagen térmica. En el análisis microtérmico, la punta de un microscopio de fuerza atómica se reemplaza por una sonda térmicamente sensible, como un termistor o un termopar.

En la figura 31.16 se muestra una microfotografía de una sonda térmica. El tipo más común es la sonda resistiva que se basa en un alambre de Wollaston. Éste

⁵Para revisiones del análisis microtérmico y sus aplicaciones consulte H. M. Pollock y A. Hammiche, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2001**, 34, p. R23; C. Q. M. Craig, V. L. Kett, C. S. Andrews y P. G. Royall, *J. Pharm. Sci.*, **2002**, 91, p. 1201.



Clase interactiva: aprenda más acerca de la calorimetría de barrido diferencial.



FIGURA 31.16 Una sonda de análisis microtérmica. (Reimpreso de P. G. Royall, D. Q. M. Craig y D. B. Grandy, *Thermochim. Acta*, **2001**, 380 (2), pp. 165-173 con autorización de Elsevier.)

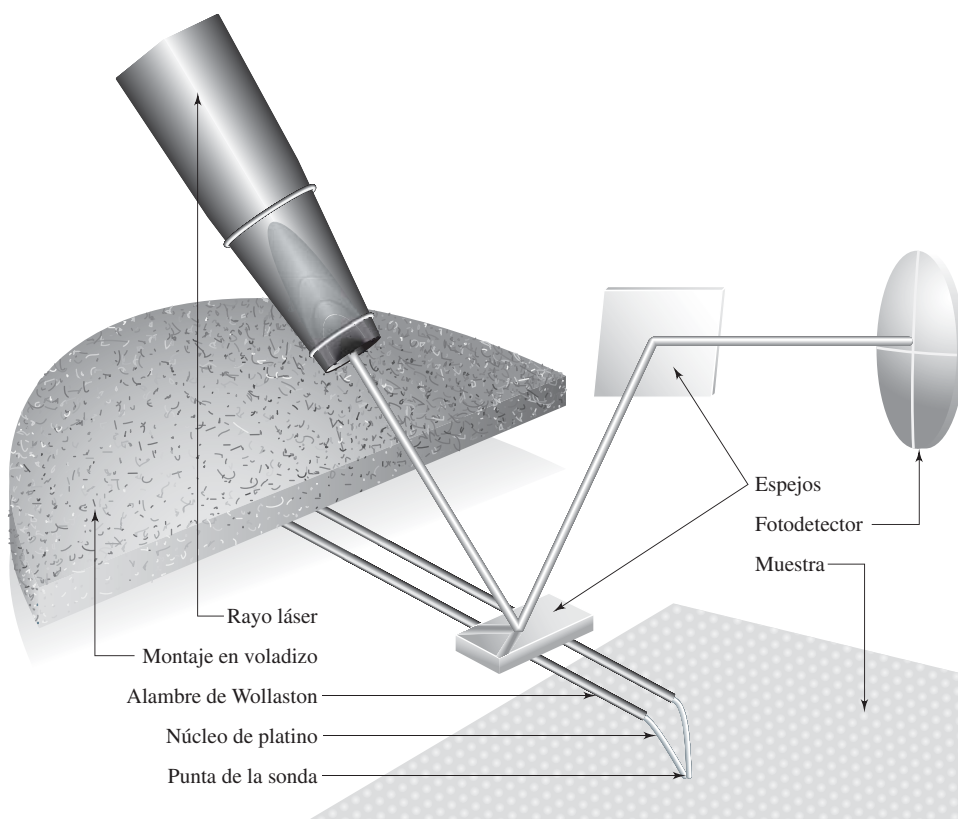


FIGURA 31.17 Aparato de análisis microtérmico.

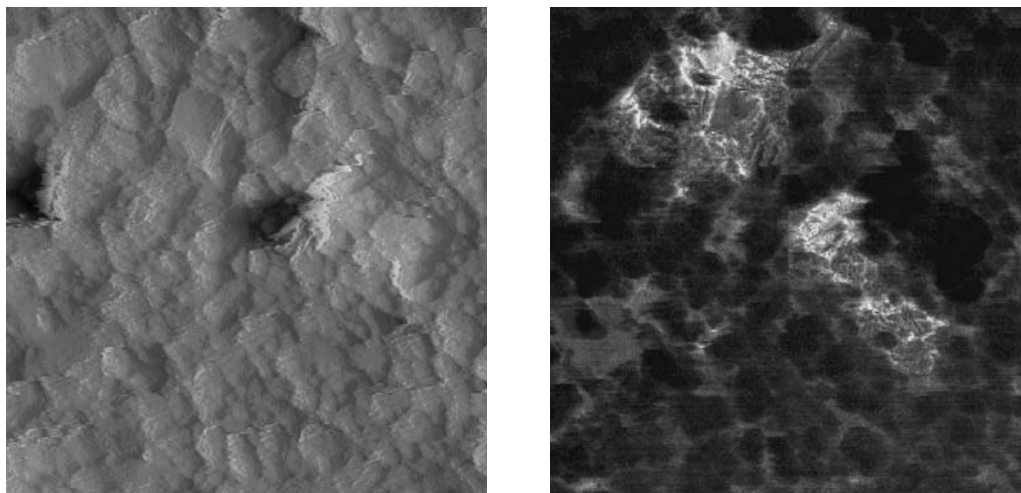


FIGURA 31.18 Comparación de una imagen topográfica común con microscopio de fuerza atómica *a)* con la imagen térmica *b)* de una tableta de paracetamol. (Reimpreso de H. M. Pollock y A. Hammiche, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2001**, 34, p. R23. Con autorización.)

lleva un grueso revestimiento de plata encima de un núcleo delgado de platino o de una aleación de platino y rodio. En la punta de la sonda, la plata está tratada al ácido para exponer el alambre desnudo. Ya hay también sondas micromaquinadas en las cuales casi toda la resistencia eléctrica se localiza en la punta. Como resultado, al aplicar una corriente eléctrica, sólo la punta se calienta. La resistencia eléctrica de la punta también es una medida de la temperatura.

Un aparato de análisis microtérmico, que se puede ver en la figura 31.17, funciona en el modo de temperatura constante o en el modo de corriente constante. El primero es el más simple y el que más se usa; en él, la energía eléctrica necesaria para mantener constante la temperatura de la sonda se obtiene a medida que la sonda explora la superficie de la muestra en el modo de contacto (véase sección 21G.2). Conforme la sonda detecta partes de la superficie que difieren en cuanto a sus propiedades térmicas, cantidades variables de ca-

lor fluyen desde la sonda hasta la muestra. Cuando la sonda toca una región de alta conductividad térmica se enfría, por lo que se requiere más energía para conservar la temperatura constante. En cambio, si toca una región de baja conductividad térmica, se requiere menos energía. Por tanto, se pueden obtener imágenes de la conductividad térmica de la superficie de una muestra. En la figura 31.18 se compara la imagen térmica de una preparación farmacéutica con la de una imagen topográfica común. También se emplean varias técnicas de modulación para verificar la conductividad térmica en diferentes profundidades de la muestra al variar la frecuencia de modulación.

Aunque el análisis microtérmico es una técnica muy nueva, ya hay instrumentos en el mercado. Se han dado a conocer aplicaciones en productos farmacéuticos, polímeros y alimentos. La técnica también se aplica en la industria de la cerámica y para obtener imágenes de muestras biomédicas.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

31.1 Indique qué cantidad se mide y cómo se llevan a cabo las mediciones en cada una de las siguientes técnicas: *a)* análisis termogravimétrico; *b)* análisis térmico diferencial; *c)* calorimetría de barrido diferencial; *d)* análisis microtérmico.

***31.2** Se disolvió una muestra de 0.6025 g y se precipitaron los iones Ca^{2+} y Ba^{2+} presentes como $\text{BaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Los oxalatos se calentaron entonces en un aparato termogravimétrico y produjeron un residuo que pesó

0.5713 g en el intervalo de 320°C a 400°C y 0.4673 g en el intervalo de 580°C a 620°C. Calcule el porcentaje de Ca y de Ba en la muestra.

31.3 La siguiente tabla resume algunos datos sobre tres cloruros de hierro(III).

Compuesto	Peso molecular	Punto de fusión, °C
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270	37
$\text{FeCl}_3 \cdot \frac{5}{2}\text{H}_2\text{O}$	207	56
FeCl_3	162	306

Dibuje la curva termogravimétrica esperada si una muestra de 25.0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ se calienta de 0°C a 400°C.

- 31.4** ¿Por qué la endoterma a baja temperatura y presión ambiente de la figura 31.10 está a la misma temperatura que la de 13.79 bares, si los picos para las dos presiones se encuentran a temperaturas diferentes?
- 31.5** Debería ser posible definir al menos de manera parcial las características de una muestra de lutita bituminosa con las técnicas que se estudiaron en este capítulo. Analice brevemente dos técnicas que puedan ser adecuadas para este objetivo. Dibuje las curvas térmicas típicas y analice la información que se podría obtener y los problemas que se podrían esperar.
- 31.6** En los métodos térmicos de análisis, ¿por qué el termopar para medir la temperatura de la muestra rara vez está sumergido directamente en la muestra?
- 31.7** Enumere los tipos de cambios físicos que pueden dar lugar a picos exotérmicos y endotérmicos en el análisis térmico diferencial y en la calorimetría de barrido diferencial.
- 31.8** Enumere los tipos de cambios químicos que pueden dar lugar a picos exotérmicos y endotérmicos en el análisis térmico diferencial y en la calorimetría de barrido diferencial.
- 31.9** ¿Por qué las aplicaciones de la termogravimetría son más limitadas que las de la calorimetría de barrido diferencial?
- 31.10** ¿Por qué la transición vítrea de un polímero no produce ni un pico exotérmico ni uno endotérmico?
- 31.11** Señale la diferencia entre los instrumentos para calorimetría de barrido diferencial de potencia compensada y los de flujo de calor.

Problema de reto

- 31.12** En la industria farmacéutica se tiene que poner mucha atención en la pureza, la calidad, la estabilidad y la seguridad de los fármacos. Los compuestos farmacéuticos tienen a menudo varias estructuras diferentes y distintas geometrías moleculares. Estos compuestos también son susceptibles a la degradación térmica, a la captación y retención de agua y a la fotodescomposición. Uno de los mejores métodos para determinar las características de los compuestos farmacéuticos, desde las materias primas hasta la etapa de producto terminado, es el análisis térmico. Las siguientes preguntas se relacionan con las aplicaciones de los métodos de análisis térmico a los productos farmacéuticos.
- a) La determinación de la pureza de los fármacos es una de las pruebas más importantes que se efectúan en la industria farmacéutica. Una de tales pruebas se basa en la determinación del punto de fusión del fármaco de interés

por medio de la calorimetría de barrido diferencial y la siguiente relación termodinámica:

$$\frac{d \ln X_1}{dT} = \frac{\Delta H_f}{RT^2}$$

donde X_1 es la fracción molar del fármaco cuya pureza se desea determinar, ΔH_f es la entalpía de fusión, R es la constante de los gases y T es la temperatura. A partir de esta ecuación deduzca la siguiente ecuación modificada de van't Hoff:

$$\frac{1}{f} = \frac{\Delta H_f}{R} \frac{(T_0 - T)}{T_0^2} \frac{1}{X_2^0}$$

donde f es la fracción de la muestra que se funde a la temperatura T , T_0 es el punto de fusión del fármaco puro y X_2^0 es la fracción molar de la impureza en el compuesto original.

Sugerencia: suponga que el fármaco está cercano a la pureza de modo que $\ln X_1$ se puede aproximar mediante

$$\ln X_1 = \ln(1 - X_2) \approx -X_2$$

A medida que la temperatura aumenta hacia el verdadero punto de fusión T_0 , la fracción molar en el estado líquido X_2 se reduce de manera constante de acuerdo con

$$X_2 = X_2^0(1/f)$$

- b) La fracción f se puede determinar a partir de A/A_T , donde A es el área de la endoterma de fusión hasta la temperatura T y A_T es el área total de la endoterma de fusión. Al dividir la endoterma en áreas de fusión parciales, la fracción f se puede calcular a diferentes temperaturas. Reacomode la ecuación de van't Hoff modificada para llegar a la temperatura de fusión T en función de $1/f$. Demuestre que una gráfica de T contra $1/f$ debe ser lineal con una ordenada al origen T_0 y una pendiente de $-RT_0X_2/\Delta H_f$. Si se conoce el calor de fusión, se puede determinar X_2 .
- c) Revise el artículo de H. Staub y W. Perron, *Anal. Chem.*, **1974**, 46, p. 128. Proporcione algunas de las limitaciones del enfoque de la calorimetría de barrido diferencial para la determinación de impurezas. Explique el método del “calentamiento por etapas” que utilizan los autores. ¿En qué se diferencia de la calorimetría de barrido diferencial normal?
- d) ¿Qué tipo de calorimetría de barrido diferencial, de energía compensada o de flujo de calor, sería más útil para determinar la pureza? ¿Por qué?
- e) ¿Qué técnica de análisis térmico sería apropiada para determinar las características y cuantificar el contenido de humedad en una muestra farmacéutica? ¿Por qué?
- f) Describa cómo se puede usar el análisis térmico para determinar el grado de hidratación de un compuesto farmacéutico.
- g) Al ser calentados, muchos materiales farmacéuticos manifiestan una variedad de fenómenos térmicos, como fusión, transiciones a estados vítreos, pérdida de humedad, relajamiento térmico y, en algunos casos, descomposición. ¿Cómo se pueden distinguir los fenómenos cinéticos irreversibles de los fenómenos reversibles de flujo de calor?
- h) Describa cómo el análisis microtérmico podría ser útil en los estudios de materiales farmacéuticos. Considere problemas como las estructuras polimórficas, las impurezas y la identificación de estados vítreos en su respuesta.

Métodos radioquímicos

La disponibilidad de isótopos radiactivos tanto naturales como artificiales ha hecho posible el desarrollo de métodos analíticos (métodos radioquímicos) que son a la vez sensibles y específicos. En general, estos procedimientos son exactos y aplicables a una amplia gama de problemas. Asimismo, algunos métodos radioquímicos reducen o eliminan separaciones químicas que son necesarias en otros métodos analíticos. En este capítulo se tratan los principios, los instrumentos y las aplicaciones de los métodos radioquímicos.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

Los métodos radioquímicos son de tres tipos según sea el origen de la radiactividad.¹ En el *análisis por activación*, la radiactividad es inducida en uno o más elementos de la muestra por difusión de radiación o partículas apropiadas, casi siempre, neutrones de un reactor nuclear. A continuación se mide la radiactividad resultante. En la segunda categoría están los métodos en los que la radiactividad se introduce físicamente en la muestra por adición de una cantidad medida de una especie radiactiva denominada *marcador radioquímico*. Los métodos cuantitativos más importantes que se basan en la introducción de radiotrazadores son los de *dilución isotópica*, en los que una cantidad en peso de analito, marcado radiactivamente y que tiene una actividad conocida, se añade a una cantidad medida de la muestra. Después de mezclar perfectamente para asegurar la homogeneidad, se aísla y purifica una fracción del analito. Luego se mide la actividad de esta fracción aislada y se usa para determinar la masa del componente que interesa en la muestra original. Además, los químicos orgánicos e inorgánicos utilizan a menudo marcadores radioquímicos para investigar los mecanismos de reacción. En la tercera clase de métodos se requieren mediciones de la radiactividad natural de una muestra. Ejemplos de este tipo de métodos son la medición de radón en el aire de una casa o de uranio en materiales de loza y cerámica.

32A NÚCLIDOS RADIATIVOS

Todos los núcleos atómicos están constituidos por un conjunto de protones y de neutrones, excepto el hidrógeno, que consta de un solo protón. Las propiedades químicas de un átomo están determinadas por su número atómico Z , que es el número de protones que contiene su núcleo. Un *núclido* se caracteriza por la cantidad de protones y neutrones que hay en el núcleo. La suma de la cantidad de neutrones y de protones en un núcleo es el número de masa A .² Los isótopos de un elemento son átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número de masa; es decir, los núcleos de los isótopos de un elemento contienen la misma cantidad de protones pero diferente cantidad de neutrones.

¹ Para un tratamiento detallado de los métodos radioquímicos, véase K. H. Lieser, *Nuclear and Radiochemistry*, 2a. ed., Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2001; *Handbook of Radioactivity Analysis*, M. F. L'Annunziata, ed., San Diego: Academic Press, 1998; *Chemical Analysis by Nuclear Methods*, Z. B. Alfassi, ed., Chichester, UK: Wiley, 1994; W. D. Ehmann y D. E. Vance, *Radiochemistry and Nuclear Methods of Analysis*, Nueva York: Wiley, 1991.

² La composición nuclear de los isótopos del elemento X está indicada por el símbolo ${}^A_ZX$ o, a veces, simplemente por ${}^AX$, donde A es la cantidad de protones más la cantidad de neutrones (número de masa) y Z es el número atómico o la cantidad de protones.

TABLA 32.1 Características de los productos comunes de la desintegración radiactiva

Producto	Símbolo	Carga	Número de masa
Partículas alfa	α	+2	4
Partículas beta			
Negatrón	β^-	-1	1/1840 (~0)
Positrón	β^+	+1	1/1840 (~0)
Rayos gamma	γ	0	0
Rayos X	X	0	0
Neutrón	n	0	1
Neutrino/ antineutrino	$\nu/\bar{\nu}$	0	0

Los *núclidos estables* son aquellos que nunca se han desintegrado en forma espontánea. En cambio, los *radionúclidos* sí experimentan desintegración espontánea, la cual da lugar finalmente a núclidos estables. La *desintegración radiactiva* se produce con la emisión de radiación electromagnética en forma de rayos X o rayos gamma (rayos γ); con la formación de electrones, positrones y núcleos de helio; o por *fisión*, en la que un núcleo se rompe en núcleos más pequeños.

32A.1 Productos de la desintegración radiactiva

En la tabla 32.1 se enumeran los tipos más importantes de radiación (desde el punto de vista de un químico) que se producen en la desintegración radiactiva. Cuatro de estos tipos — partículas alfa, partículas beta, fotones de rayos gamma y fotones de rayos X — se detectan y cuentan con varios de los detectores que se describieron en la sección 12B.4. La mayoría de los métodos radioquímicos se basa en el conteo de los pulsos de electricidad que se producen cuando estas partículas de desintegración o fotones chocan con un detector de radiación.

32A.2 Procesos de desintegración

Diversos tipos de procesos de desintegración radiactiva dan lugar a los productos que se enlistan en la tabla 32.1.

Desintegración alfa

La desintegración alfa es un proceso radiactivo que sucede por lo regular en los radionúclidos más pesados. Aquellos con número de masa menor que 150 aproximadamente ($Z \approx 60$) rara vez producen partículas alfa. La partícula alfa es un núcleo de helio que tiene una masa de 4 y una carga de +2. Un ejemplo de desintegración alfa se muestra mediante la ecuación



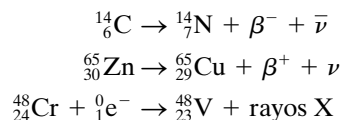
En este caso, el uranio-238 (${}^{238}\text{U}$) se transforma en torio-234 (${}^{234}\text{Th}$), núclido *hijo* que tiene un número atómico que es dos unidades menor que el del *progenitor*.

Las partículas alfa de un proceso de desintegración particular son monoenergéticas o están distribuidas en un intervalo relativamente pequeño de energías distintas. Por ejemplo, el proceso de desintegración que se muestra en la ecuación 32.1 tiene lugar por dos caminos distintos. El primero, que sucede en 77% de las desintegraciones, produce partículas alfa con una energía de 4.196 MeV.³ El segundo (23% de las desintegraciones) produce partículas alfa que tienen una energía de 4.149 MeV, las cuales están acompañadas por la liberación de un rayo gamma de 0.047 MeV.

Las partículas alfa pierden progresivamente su energía debido a los choques que sufren al atravesar la materia y, con el paso del tiempo, se convierten en átomos de helio luego de capturar dos electrones de su entorno. Su masa y carga relativamente elevadas hacen que las partículas alfa sean muy efectivas en la producción de pares de iones en la materia que atraviesan; esta propiedad facilita su detección y medición. Debido a su elevada masa y carga, las partículas alfa tienen un bajo poder de penetración en la materia. La identidad de un radionúclido que sea un emisor alfa puede establecerse si se mide la distancia (o alcance) a la cual las partículas alfa emitidas producen pares de iones en un medio concreto, que es a menudo el aire. Las partículas alfa que tienen su origen en la desintegración radiactiva son relativamente ineficaces para producir núclidos artificiales debido a su bajo poder de penetración. Sin embargo, las partículas alfa se han utilizado como fuentes en los espectrómetros de rayos X con protones alfa que se usaron en la misión del transbordador a Marte (*Mars Pathfinder*) y en los vehículos que se desplazaron por la superficie marciana.

Desintegración beta

Cualquier proceso de desintegración en el que el número atómico Z cambia, pero el número de masa A permanece constante se considera una desintegración β . Existen tres tipos de desintegración β : *emisión de un negatrón*, *emisión de un positrón* y *captura de electrones*. Ejemplos de los tres procesos son los siguientes:



En este caso, $\bar{\nu}$ y ν representan un antineutrino y un neutrino, respectivamente. La tercera ecuación mues-

³ Las energías asociadas con las reacciones nucleares se expresan por lo regular en millones de electrón-volts (MeV) o miles de electrón-volts (keV).

tra un proceso de desintegración denominada *captura de electrones*. En este caso, la captura de un electrón por el núcleo de $^{48}_{24}\text{Cr}$ produce $^{48}_{23}\text{V}$, pero este proceso deja uno de los orbitales atómicos (por lo regular el 1s, u orbital K, en cuyo caso el proceso se denomina *captura K*) del vanadio con un electrón menos. Cuando un electrón de uno de los orbitales externos llena el hueco que quedó libre en el proceso de captura, se produce la emisión de rayos X. Hay que destacar que la emisión de un fotón de rayos X no es un proceso nuclear, pero sí lo es cuando el núcleo captura un electrón.

Se crean dos tipos de partículas β por desintegración radiactiva. Los negatrones (β^-) son electrones que se forman cuando uno de los neutrones en el núcleo se transforma en un protón. En cambio, los positrones (β^+), cuya masa es la del electrón, se forman cuando el número de protones en el núcleo disminuye en una unidad. El positrón tiene una existencia transitoria; su destino es ser aniquilado en una reacción con un electrón para dar dos fotones de 0.511 MeV.

En contraste con la emisión alfa, la desintegración beta se caracteriza por producir partículas con un espectro continuo de energías que van desde casi cero hasta un máximo que es característico de cada proceso de desintegración. La partícula β no es ni con mucho tan efectiva como la partícula alfa en la producción de pares de iones en la materia debido a su pequeña masa (alrededor de 1/7000 la de una partícula alfa). Al mismo tiempo, su poder de penetración es sustancialmente mayor que el de una partícula alfa. Las energías de las partículas beta se expresan a menudo en función del espesor de una sustancia absorbente, por lo regular aluminio, necesario para detener la partícula.

Emisión de rayos gamma

Muchos procesos de emisión alfa y beta dejan un núcleo en estado excitado, que vuelve al estado fundamental en una o más etapas cuantizadas con la liberación de fotones de rayos gamma monoenergéticos. Es importante señalar que los rayos gamma no se distinguen de los rayos X de igual energía, excepto por su fuente. Los rayos gamma se producen por relajaciones nucleares y los rayos X provienen de relajaciones de los electrones. El espectro de emisión de los rayos gamma es característico para cada núclido y, por tanto, útil para identificar radionúclidos.

No es sorprendente que la radiación gamma sea muy penetrante. En su interacción con la materia, los rayos gamma pierden energía por tres mecanismos. El que predomine uno u otro depende de la energía del fotón de rayos gamma. Con radiación gamma de baja energía, predomina el *efecto fotoeléctrico*. En este caso, el fotón de rayos gamma desaparece después de expulsar un electrón de un orbital del átomo diana (por lo

regular, un orbital K). La energía del fotón se consume por completo en superar la energía de enlace del electrón y en proporcionar energía cinética al electrón expulsado. El *efecto Compton* aparece con rayos gamma relativamente energéticos. En este caso, también es expulsado un electrón del átomo, pero adquiere sólo parte de la energía del fotón. El fotón, ahora con menor energía, sale del electrón y puede dar lugar a nuevos efectos Compton o interacciones fotoeléctricas. Si el fotón de radiación gamma posee energía lo suficientemente elevada (al menos 1.022 MeV), puede tener lugar una *producción de pares*. En este caso, el fotón es totalmente absorbido y se crea un positrón y un electrón en el campo que rodea al núcleo.

Emisión de rayos X

Muchos procesos producen la pérdida de electrones de los orbitales más internos de un átomo. Los rayos X se forman entonces a partir de transiciones electrónicas en las que los electrones más externos llenan los huecos vacantes creados por el proceso nuclear. Uno de los procesos es la *captura de electrón*, que ya se trató antes. Un segundo proceso que puede producir rayos X es la *conversión interna*, un tipo de proceso nuclear que es otra posibilidad aparte de la emisión de rayos gamma. En este caso, una interacción electromagnética entre el núcleo excitado y un electrón extranuclear produce la expulsión de un electrón de un orbital cuya energía cinética es igual a la diferencia entre la energía de transición nuclear y la energía de enlace del electrón (véase sección 12A.3). La emisión de este denominado *electrón de conversión interna* deja un hueco en el orbital K, L u otro orbital más alto. Los rayos X se emiten cuando el orbital se llena por una transición electrónica.

32A.3 Velocidades de desintegración radiactiva

La desintegración radiactiva es un proceso totalmente aleatorio. Por tanto, aunque no se puede hacer ninguna predicción respecto al tiempo de vida de un núcleo concreto, el comportamiento de un gran conjunto de núcleos idénticos se puede describir mediante una ecuación de velocidad de primer orden

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (32.2)$$

donde N representa el número de núcleos radiactivos de un determinado tipo en la muestra en un tiempo t y λ es la *constante de desintegración* característica del ra-



Simulación: aprenda más acerca de **velocidades de conteo y desintegración**.

dionúclido. Al reordenar esta ecuación e integrar en el intervalo entre $t = 0$ y $t = t$ (durante el cual el número de núcleos radiactivos en la muestra disminuye de N_0 a N), se obtiene

$$\ln \frac{N}{N_0} = -\lambda t \quad (32.3)$$

o bien

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (32.4)$$

La *vida media* $t_{1/2}$ de un núclido radiactivo se define como el tiempo necesario para que se desintegre la mitad de los átomos radiactivos en una muestra. Por consiguiente, la vida media es el tiempo requerido para que N disminuya a $N_0/2$. Al sustituir $N_0/2$ por N en la ecuación 32.3 se obtiene

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0.693}{\lambda} \quad (32.5)$$

Las vidas medias de las especies radiactivas oscilan entre pocas fracciones de segundo a muchos miles de millones de años.

La actividad A de un radionúclido se define como su velocidad de desintegración. Así, a partir de la ecuación 32.2, resulta

$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (32.6)$$

La actividad se expresa en unidades de segundos recíprocos. El *becquerel* (Bq) corresponde a una desintegración por segundo. Es decir, $1 \text{ Bq} = 1 \text{ s}^{-1}$. Una unidad antigua de actividad, pero todavía muy utilizada, es el *curie* (Ci), que fue originalmente definido como la actividad de 1 g de radio-226. Un curie es igual a $3.7 \times 10^{10} \text{ Bq}$. En radioquímica analítica las actividades de los analitos oscilan por lo regular entre un nanocurie o menos hasta unos pocos microcuries.

En el laboratorio rara vez se miden actividades absolutas, ya que la eficacia de los detectores no es de 100%. En su lugar, se utiliza la *velocidad de conteo* R , donde $R = cA$. Si se sustituye esta relación en la ecuación 32.6 se obtiene

$$R = cA = c\lambda N \quad (32.7)$$

En este caso, c es una constante denominada *eficiencia de detección absoluta*, la cual depende de la naturaleza del detector, la disposición geométrica de la muestra y el detector, y de otros factores. La ley de desintegración dada por la ecuación 32.4 puede escribirse como

$$R = R_0 e^{-\lambda t} \quad (32.8)$$

En el ejemplo 32.1 se ilustra el uso de las ecuaciones de la velocidad de desintegración.

EJEMPLO 32.1

En un periodo de conteo inicial, la velocidad de conteo para una determinada muestra fue de 453 cpm (conteos por minuto). En un segundo experimento llevado a cabo 420 minutos más tarde, la misma muestra presentó una velocidad de conteo de 285 cpm. Si se supone que todos los conteos son el resultado de la desintegración de un solo radionúclido, ¿cuál es la vida media de éste?

Solución

Con la ecuación 32.8 se calcula la constante de desintegración, λ ,

$$\begin{aligned} 285 \text{ cpm} &= 453 \text{ cpm } e^{-\lambda(420 \text{ min})} \\ \ln \left(\frac{285 \text{ cpm}}{453 \text{ cpm}} \right) &= -\lambda(420 \text{ min}) \\ \lambda &= 1.10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1} \end{aligned}$$

Se utiliza la ecuación 32.5 para calcular la vida media

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0.693}{1.10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}} = 630 \text{ min}$$

32A.4 Estadísticas del conteo

Tal como se estudia en la sección 32B, la radiactividad se mide mediante un detector que produce un pulso de electricidad, es decir, un *conteo*, cada vez que la radiación choca contra el detector. La información cuantitativa sobre las velocidades de desintegración se obtiene al contar estos impulsos durante cierto perio-

TABLA 32.2 Variaciones en las mediciones de un minuto de una fuente radiactiva.

Minutos	Conteos	Minutos	Conteos
1	180	7	168
2	187	8	170
3	166	9	173
4	173	10	132
5	170	11	154
6	164	12	167

Conteos totales = 2004.

Conteos/min promedio = $\bar{x}$ = 167.

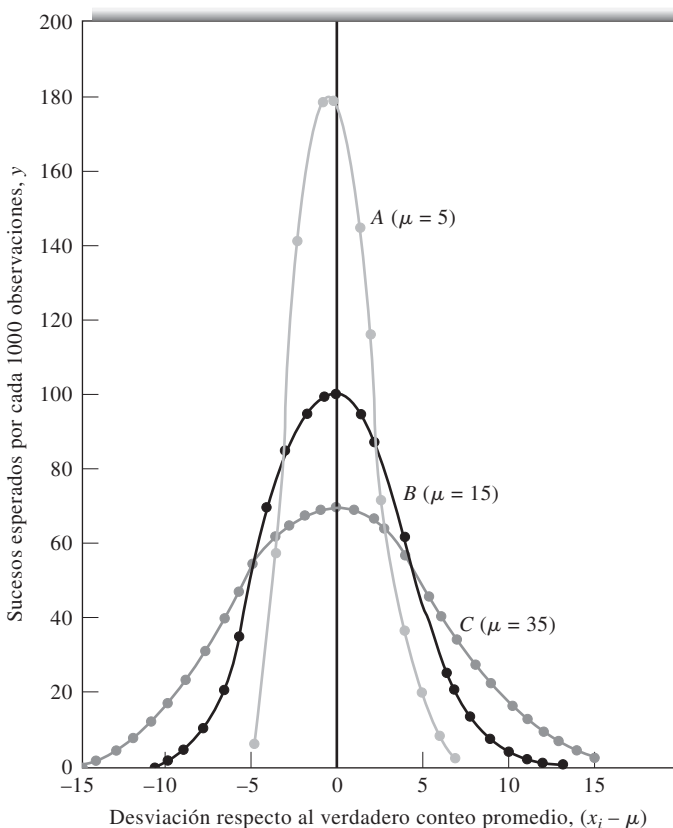


FIGURA 32.1 Frecuencia esperada de desviaciones con respecto al conteo promedio verdadero $(x_i - \mu)$ contra las desviaciones. Se muestran curvas uniformes, pero la función de Poisson está definida sólo para valores enteros, los cuales se señalan con los puntos.

do.⁴ La tabla 32.2 muestra los datos de desintegración característicos obtenidos por mediciones sucesivas de un minuto de una fuente radiactiva. Se observa una variación considerable de los resultados debido a que el proceso de desintegración es aleatorio. Por consiguiente, en la tabla 32.2 los conteos por minuto (cpm) oscilan entre un mínimo de 132 y un máximo de 187.

A pesar de que el proceso de desintegración radiactiva es aleatorio, los datos (sobre todo para conteos bajos) no se distribuyen de acuerdo con la ecuación a1.14 (Apéndice 1), porque los procesos de desintegración no siguen un comportamiento gaussiano. La razón por la cual los datos de desintegración no tienen una distribución normal es que la radiactividad consta de una serie de sucesos discretos que no pueden variar de manera continua como lo hacen los errores indeterminados para los que se aplica la distribución gaussiana. Además, no son posibles los conteos negativos. Por tanto, los datos no se pueden distribuir simétricamente respecto a la media.

Con objeto de describir con toda exactitud el comportamiento de una fuente radiactiva es necesario suponer una *distribución de Poisson*, que se expresa mediante la ecuación

$$y = \frac{\mu^{x_i}}{x_i!} e^{-\mu} \quad (32.9)$$

donde y es la frecuencia con la que sucede un conteo dado x_i y μ es la media para un conjunto grande de datos de conteo.⁵

Los datos que se representan en la figura 32.1 se obtuvieron con la ayuda de la ecuación 32.9. Estas curvas muestran la desviación $(x_i - \mu)$ respecto al conteo promedio verdadero que debería esperarse si se hubieran hecho 1000 observaciones repetidas en la misma muestra. La curva A muestra la distribución de una sustancia para la cual el conteo promedio verdadero μ para un periodo seleccionado es 5; las curvas B y C corresponden a muestras cuyas medias verdaderas son 15 y 35. Hay que señalar que las desviaciones *absolutas* aumentan a medida que se incrementa μ , pero las desviaciones *relativas* se hacen más pequeñas. Observe también que para los dos números más pequeños de conteo, la simetría es inexistente.

⁴Para una discusión más completa, véase G. Friedlander, J. W. Kennedy, E. S. Macias y J. M. Miller, *Nuclear and Radiochemistry*, 3a. ed., cap. 9, Nueva York: Wiley, 1981.

⁵Al deducir la ecuación 32.9 se supuso que el periodo de conteo es corto respecto a la vida media, por lo que no tiene lugar un cambio significativo en el número de átomos radiactivos. Otras limitaciones incluyen un detector que responda a la desintegración de un solo radionúclido y una geometría de conteo invariable para que el detector responda a una fracción constante de los procesos de desintegración que ocurran.

Desviación estándar de los datos de conteo

En contraste con la ecuación a1.14 (Apéndice 1) para una distribución gaussiana, la ecuación 32.9 no contiene el término correspondiente a la desviación estándar para una distribución de Poisson. Se puede demostrar que la anchura de curvas como las de la figura 32.1 depende sólo del número total de conteos para un periodo cualquiera.⁶ Es decir,

$$\sigma_M = \sqrt{M} \quad (32.10)$$

donde M es el número de conteos para un periodo cualquiera y σ_M es la desviación estándar para una distribución de Poisson.

La desviación estándar relativa σ_M/M viene dada por

$$\frac{\sigma_M}{M} = \frac{\sqrt{M}}{M} = \frac{1}{\sqrt{M}} \quad (32.11)$$

Por consiguiente, aunque la desviación estándar aumenta con el número de conteos, la desviación estándar relativa disminuye.

La velocidad de conteo R es igual a M/t . Para obtener la desviación estándar en R , se aplica la ecuación a1.29 (Apéndice 1), y se obtiene

$$\sigma_R^2 = \left(\frac{\partial R}{\partial M} \right)^2 \sigma_M^2 + \left(\frac{\partial R}{\partial t} \right)^2 \sigma_t^2$$

En general, el tiempo puede medirse con una precisión suficientemente elevada como para que $\sigma_t^2 \approx 0$. La derivada parcial de R respecto a M es $1/t$. Entonces,

$$\sigma_R^2 = \frac{\sigma_M^2}{t^2}$$

Al extraer la raíz cuadrada de esta ecuación y sustituir la ecuación 32.10 se tiene que

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{M}}{t} = \frac{\sqrt{Rt}}{t} = \sqrt{\frac{R}{t}} \quad (32.12)$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{\sqrt{R/t}}{R} = \sqrt{\frac{1}{Rt}} \quad (32.13)$$

El ejemplo 32.2 ilustra el uso de estas ecuaciones para conocer los valores estadísticos del conteo.

EJEMPLO 32.2

Calcule las desviaciones estándar absoluta y relativa de la velocidad de conteo para a) el primer dato de la tabla 32.2 y b) la media de todos los datos de la tabla.

⁶Véase la nota 4.

Solución

a) La aplicación de la ecuación 32.12 da

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{M}}{t} = \frac{\sqrt{180}}{1 \text{ min}} = 13.4 \text{ cpm}$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{13.4 \text{ cpm}}{180 \text{ cpm}} \times 100\% = 7.4\%$$

b) Para el grupo entero,

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{2004}}{12} = 3.73 \text{ cpm} = 3.7 \text{ cpm}$$

$$\frac{\sigma_R}{R} = \frac{3.73}{167} \times 100\% = 2.2\%$$

Intervalos de confianza para los conteos

En la sección a1B.2 (Apéndice 1), el intervalo de confianza para una medida se define como los límites alrededor de una cantidad medida en los que puede esperarse que esté la media verdadera con una cierta probabilidad. Si la opinión es que la desviación estándar medida es una buena aproximación de la desviación estándar verdadera ($s \rightarrow \sigma$), el intervalo de confianza IC se expresa mediante la ecuación a1.20:

$$\text{IC para } \mu = \bar{x} \pm z\sigma$$

Para las velocidades de conteo, la ecuación se transforma en

$$\text{IC para } R = R \pm z\sigma_R \quad (32.14)$$

donde z depende del nivel de confianza deseado. Algunos valores de z se dan en la tabla a1.3. El ejemplo 32.3 ilustra el cálculo de los intervalos de confianza.

EJEMPLO 32.3

Calcule el intervalo de confianza de 95% para a) el primer dato de la tabla 32.2 y b) la media de todos los datos de la tabla.

Solución

a) En el ejemplo 32.2 se encontró que $\sigma_R = 13.4 \text{ cpm}$. La tabla a1.3 (Apéndice 3) muestra que $z = 1.96$ para un nivel de confianza de 95%. Entonces, para R

$$95\% \text{ IC} = 180 \text{ cpm} \pm (1.96 \times 13.4 \text{ cpm})$$

$$= 180 \pm 26 \text{ cpm}$$

b) En este caso se encontró que σ_R era 3.73 cpm y

$$95\% \text{ IC para } R = 167 \text{ cpm} \pm (1.96 \times 3.73 \text{ cpm})$$

$$= 167 \pm 7 \text{ cpm}$$

Por tanto, hay 95 oportunidades por cada 100 de que la velocidad verdadera para R (para un promedio de 12 minutos de conteo) se encuentre entre 160 y 174 conteos/minuto. Para el recuento sencillo del inciso *a*), 95 de cada 100 veces la velocidad verdadera se hallará entre 154 y 206 conteos/minuto.

La figura 32.2 ilustra la relación entre los conteos totales y los niveles tolerables de incertidumbre calculados de acuerdo con la ecuación 32.14. Hay que tener en cuenta que el eje de las abscisas es logarítmico; por tanto, una disminución de diez veces en la incertidumbre relativa requiere un aumento de cien veces en el número de conteos.

Correcciones del fondo

El número de conteos registrados en un análisis radioquímico incluye el aporte de fuentes distintas de la muestra. La actividad de fondo se puede deber a la existencia de pequeñas cantidades de radionúclidos de radón en la atmósfera, a los materiales utilizados en la construcción del laboratorio, a la contaminación accidental dentro del laboratorio, a radiación cósmica y a la emisión de materiales radiactivos en la atmósfera de la Tierra. Entonces, con el fin de obtener una valoración exacta es necesario corregir los conteos medidos en función del ruido de fondo. El periodo de conteo requerido para establecer la corrección del fondo difiere con frecuencia del de la muestra; por tanto, es más conveniente utilizar velocidades de conteo como se muestra en la ecuación 32.15.

$$R_c = R_x - R_b \quad (32.15)$$

donde R_c es la velocidad de conteo corregida y R_x y R_b son las velocidades para la muestra y el fondo, respectivamente. La desviación estándar de la velocidad de conteo corregida se puede obtener al aplicar la ecuación (1) de la tabla a1.6 (Apéndice 1). Así,

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\sigma_{R_x}^2 + \sigma_{R_b}^2}$$

Al sustituir la ecuación 32.12 en esta ecuación se obtiene

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\frac{R_x}{t_x} + \frac{R_b}{t_b}} \quad (32.16)$$

EJEMPLO 32.4

Una muestra produce 1800 conteos en un periodo de 10 minutos. Se obtuvo un ruido de fondo de 80 conteos en 4 minutos. Calcule la incertidumbre absoluta en la velocidad de conteo corregida para un nivel de confianza de 95 por ciento.

Solución

$$R_x = \frac{1800}{10} = 180 \text{ cpm}$$

$$R_b = \frac{80}{4} = 20 \text{ cpm}$$

Al sustituir en la ecuación 32.16 se obtiene

$$\sigma_{R_c} = \sqrt{\frac{180}{10} + \frac{80}{4}} = 6.2 \text{ cpm}$$

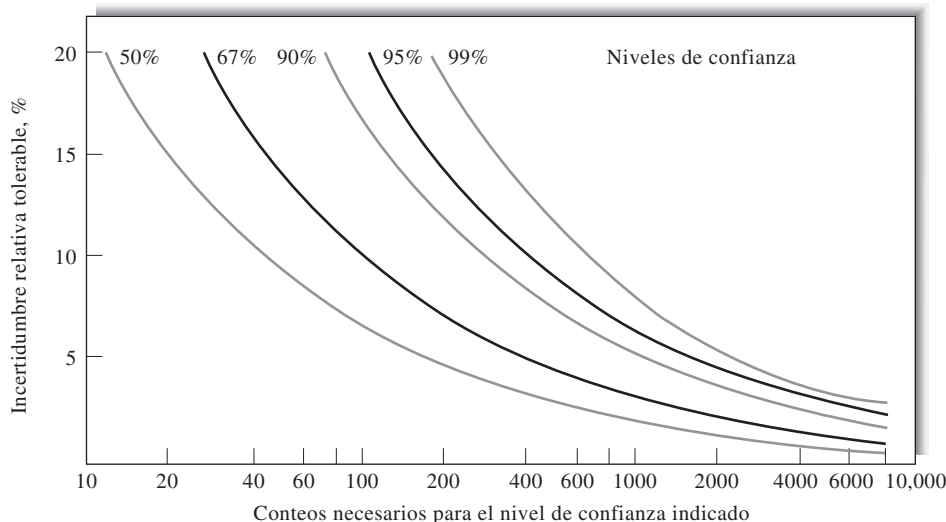


FIGURA 32.2 Incertidumbre relativa en el conteo.

En el nivel de confianza de 95%,

$$\begin{aligned}\text{Nivel de conf. para } R_c &= (180 - 20) \pm 1.96 \times 6.2 \\ &= 160 \pm 12 \text{ cpm}\end{aligned}$$

En este caso, las probabilidades de que el conteo verdadero esté entre 148 y 172 cpm son de 95 en 100.

Observe que la inclusión de las contribuciones del fondo causa invariablemente un incremento en la incertidumbre de la determinación que se da a conocer.

32B INSTRUMENTOS

La radiación que producen las fuentes radiactivas se detecta y se mide de la misma manera que la radiación X (secciones 12B.4 y 12B.5). Las cámaras llenas de gas, los contadores de centelleo y los detectores semiconductores son sensibles a las partículas alfa y beta y a los rayos gamma porque la absorción de estas partículas produce ionización o fotoelectrones que pueden, a su vez, producir miles de pares de iones. Por tanto, se produce un pulso eléctrico detectable por cada partícula que llega al transductor.

32B.1 Medición de partículas alfa

En general, con el fin de disminuir la autoabsorción, las muestras emisoras de partículas alfa se cuentan en forma de capas delgadas preparadas por electrodeposición o por vaporización. A menudo estas capas se sellan con otras capas delgadas de material y se cuentan en contadores proporcionales de flujo de gas sin ventanas o en cámaras de ionización. También se pueden colocar justo al lado de un detector de estado sólido, con frecuencia al vacío, para el conteo. Cada vez se utilizan más los contadores de centelleo líquido (véase la siguiente sección) para el conteo de emisores de partículas alfa, dada la facilidad de preparación de la muestra y su mayor sensibilidad para la detección.

Puesto que los espectros de partículas alfa tienen como característica picos de energía distintos, son muy útiles para la identificación. Los analizadores de altura de pulsos (sección 12B.5) facilitan registrar los espectros de partículas alfa.

32B.2 Medición de partículas beta

Para las fuentes de partículas beta cuya energía es mayor que 0.2 MeV, se cuenta por lo regular con una capa uniforme de la muestra con un contador Geiger

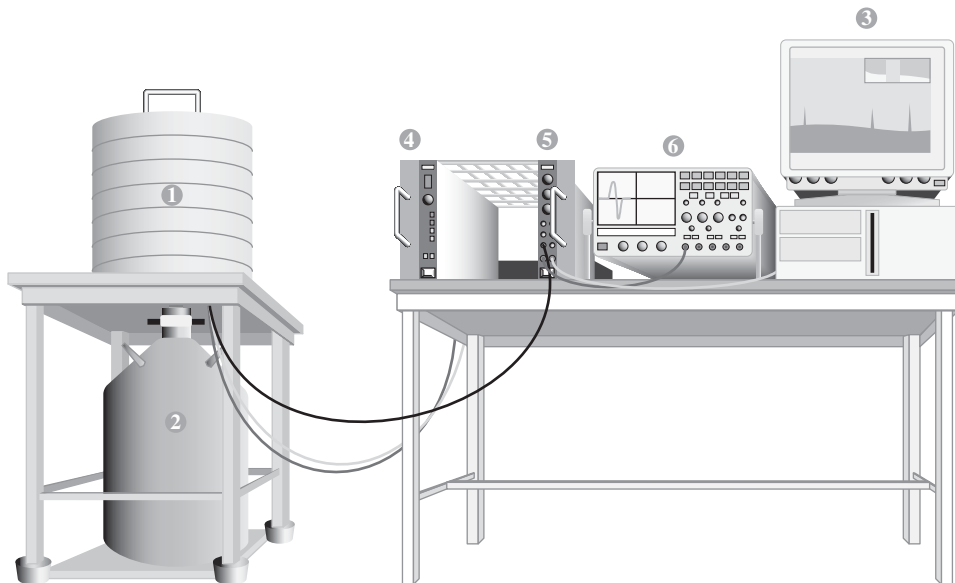


FIGURA 32.3 Esquema de un espectrómetro de rayos gamma equipado con un detector de germanio de elevada pureza: 1) detector de germanio de elevada pureza con protección de plomo; 2) vaso Dewar con criostato y preamplificador; 3) computadora con programas para conversión de señales analógicas en digitales y analizador multicanal; 4) fuente de polarización del detector; 5) amplificador; 6) osciloscopio. (Adaptación de Laboratorio de Física Nuclear, Universidad de Chipre, con autorización.)

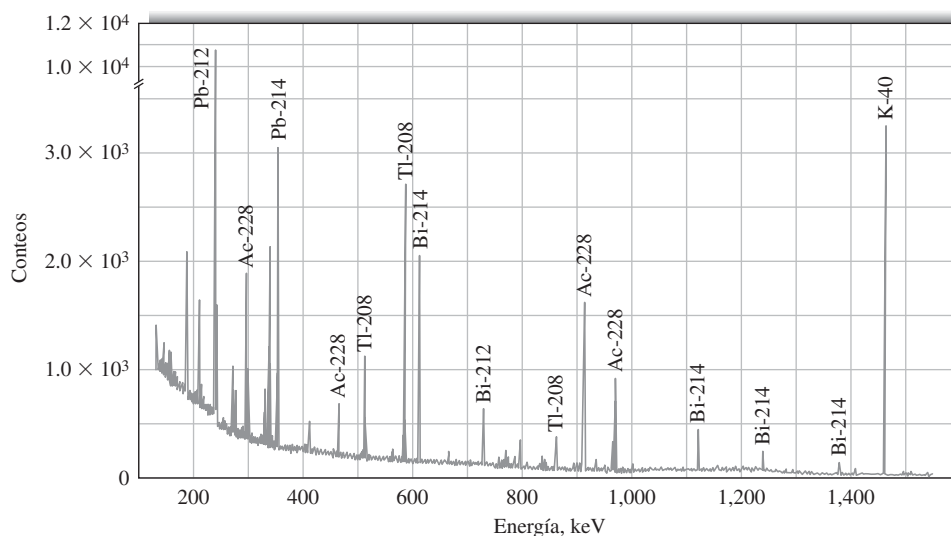


FIGURA 32.4 Espectro de rayos gamma de una muestra de suelo obtenido mediante un detector de germanio de alta pureza. (Adaptación del Laboratorio de Física Nuclear, Universidad de Chipre, con autorización.)

de ventana delgada o de tubo proporcional. Para emisores beta de baja energía, como carbono-14, azufre-35 y tritio son preferibles los contadores de centelleo líquido (sección 12B.4). En este caso, la muestra se disuelve en una solución del compuesto centelleante. Un frasco que contiene la solución se coloca entre dos tubos fotomultiplicadores situados en un contenedor hermético a la luz. La salida de los dos tubos alimenta a un contador de coincidencia, un dispositivo electrónico que registra un conteo sólo cuando los pulsos de los dos transductores llegan al mismo tiempo. El contador de coincidencia reduce el ruido de fondo de los detectores y de los amplificadores debido a la poca probabilidad que tiene de afectar a los dos sistemas de manera simultánea. El conteo mediante centelleo líquido es el que más se utiliza en las determinaciones de partículas beta debido al amplio uso de esta técnica en los laboratorios clínicos. Puesto que los espectros beta son de ordinario continuos, los análisis de altura de pulsos son menos útiles que con las partículas alfa.

32B.3 Medición de la radiación gamma

La radiación gamma se detecta y se mide con los métodos que se analizaron en las secciones 12B.4 y 12B.5 para la radiación X. La interferencia que ocasionan las radiaciones alfa y beta se elimina con facilidad al filtrar la radiación con una pieza delgada de aluminio o plástico.

Los *espectrómetros de rayos gamma*⁷ son similares a los analizadores de altura de pulsos descritos en la sección 12B.5. Un montaje característico se observa en la figura 32.3. La figura 32.4 ilustra un espectro de rayos gamma de una muestra de suelo que se obtuvo mediante un espectrómetro de alta resolución capaz de medir rayos gamma de entre 50 y 3000 keV. En este caso, los picos característicos de los distintos elementos están superpuestos a un espectro continuo que aparece principalmente a causa del efecto Compton.

La figura 32.5 es un esquema de un contador de centelleo tipo pozo que se utiliza para el conteo de rayos gamma. La muestra está contenida en un pequeño frasco colocado en un agujero cilíndrico o pozo en el cristal centelleante del contador.

Los espectrómetros de rayos gamma se utilizaron con resultados satisfactorios en la exploración de las superficies de la Luna y de Marte; además, un espectrómetro de rayos gamma fue un componente importante en la misión de exploración en Marte. Sus objetivos eran determinar de manera cuantitativa la abundancia de elementos en la superficie de ese planeta, ubicar la distribución de agua, estudiar los casquetes polares de acuerdo con las estaciones e investigar la naturaleza de las explosiones de rayos gamma cósmicos.

⁷Véase G. Gilmore y J. D. Hemingway, *Practical Gamma-Ray Spectrometry*, Nueva York: Wiley, 1995.

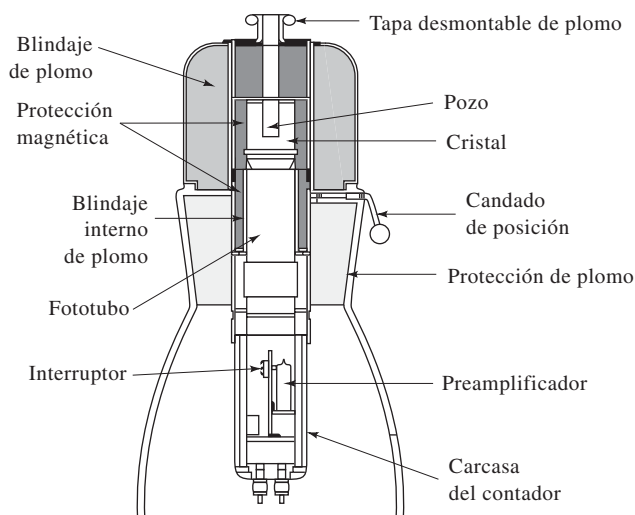


FIGURA 32.5 Contador de centelleo tipo pozo con un cristal NaI(Tl).

32C MÉTODOS DE ACTIVACIÓN DE NEUTRONES

Los *métodos de activación* se basan en la medición de la radiactividad o la radiación que se produce en muestras cuando son irradiadas con neutrones o partículas cargadas, como los iones hidrógeno, deuterio o helio.⁸ El tipo más común de activación de neutrones se ilustra en la figura 32.6. Un neutrón es capturado por el núcleo diana para formar un núcleo compuesto excitado. La excitación del núcleo compuesto cesa casi de manera instantánea mediante la emisión de uno o más *rayos gamma inmediatos* característicos. En muchos casos se forma un nuevo núcleo radiactivo, el cual puede pasar por la desintegración β^- hasta llegar a un núcleo producto excitado con la emisión de otro *rayo gamma retrasado* característico.

El análisis mediante activación de neutrones se puede efectuar con mediciones de los rayos gamma inmediatos durante la irradiación o con la medición de los rayos gamma retrasados. Es más común esta última.

⁸Mayor información sobre los métodos de activación se encuentra en *Handbook of Prompt Gamma Activation Analysis with Neutron Beams*, G. Molnar, ed., Dordrecht, Países Bajos: Kluwer Academic Publishers, 2004; Z. B. Alfassi y C. Chung, *Prompt Gamma Neutron Activation Analysis*, Boca Ratón, FL: CRC Press, 1995; S. J. Parry, *Activation Spectrometry in Chemical Analysis*, Nueva York: Wiley, 1991; *Activation Analysis*, vols. 1 y 2, Z. B. Alfassi, ed., Boca Ratón, FL: CRC Press, 1989.

32C.1 Neutrones y fuentes de neutrones

En los métodos de activación de neutrones se utilizan tres fuentes de neutrones: *reactores*, *radionúclidos* y *aceleradores*. Los tres producen neutrones de alta energía (del orden de megaelectrón-volts), que atraviesan por lo regular un material moderador que reduce su energía a pocas centésimas de un electrón-volt. La pérdida de energía en el moderador se produce por *dispersión elástica*, en la que los neutrones salen del núcleo del material moderador y transfieren parte de su energía cinética al núcleo con el que chocan. Finalmente, los núcleos llegan a un equilibrio térmico con su entorno. Los neutrones con estas temperaturas (energías de alrededor de 0.04 eV) se llaman *neutrones lentos* o *térmicos* y el proceso de transformación de los neutrones de alta energía en condiciones térmicas se llama *termalización*. Los moderadores más efectivos son sustancias que contienen hidrógeno, como agua, óxido de deuterio y parafina.

La mayoría de los métodos de activación utiliza neutrones térmicos, que reaccionan eficazmente con la mayoría de los elementos de interés analítico. Sin embargo, para algunos de ellos más ligeros, como nitrógeno, oxígeno, flúor y silicio, los *neutrones rápidos* que tienen una energía de casi 14 MeV son más eficaces para inducir radiactividad. Por lo regular, estos neutrones de alta energía se producen en los aceleradores de partículas.

Reactores

Los reactores nucleares son una fuente de neutrones térmicos y se utilizan ampliamente para el análisis de activación. Un reactor típico que se utiliza en investigación tiene un flujo de neutrones de 10^{11} a 10^{14} $n \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (n es el número de neutrones). Esta elevada densidad de neutrones permite obtener límites de detección que, para muchos elementos, oscilan entre 10^{-3} y $10 \mu\text{g}$.

Fuentes de neutrones radiactivas

Los radionúclidos son fuentes de neutrones adecuadas y relativamente baratas para los análisis de activación. Sus densidades de flujo de neutrones oscilan entre alrededor de 10^5 y 10^{10} $n \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Debido a los flujos bajos, los límites de detección no son tan buenos como los alcanzados cuando se utiliza un reactor como fuente.

Una fuente de neutrones radiactiva ordinaria es un elemento transuránico que experimenta una fisión espontánea en la que se producen neutrones. El ejemplo más común de este tipo de fuentes es el ^{252}Cf (californio 252), que tiene una vida media de 2.6 años. Alrededor

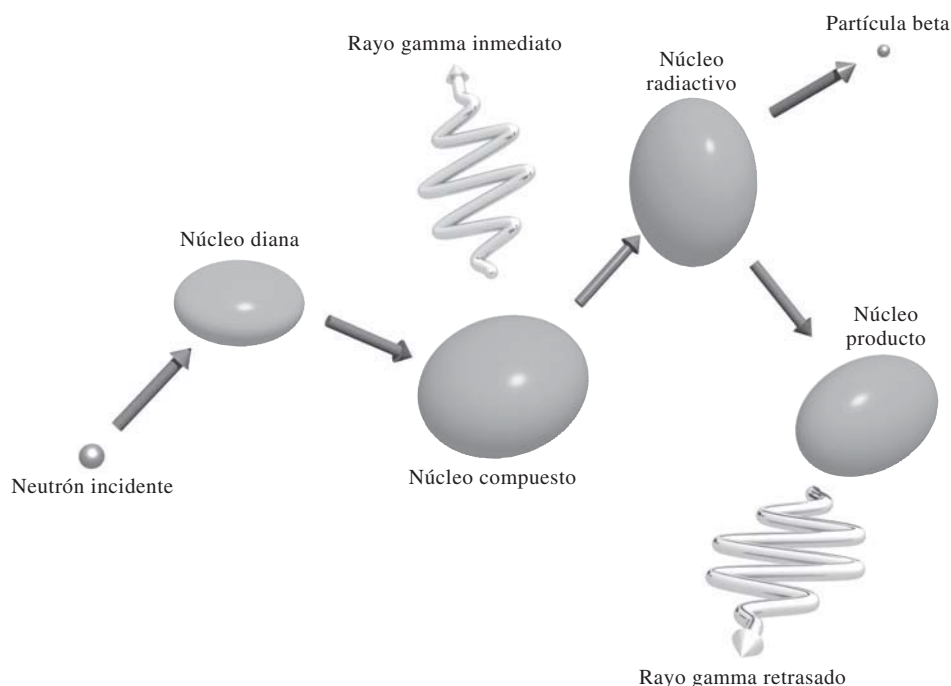
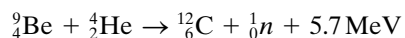


FIGURA 32.6 Panorama del proceso de activación de neutrones. El núcleo diana captura al neutrón incidente para producir un núcleo compuesto excitado, la excitación cesa con la emisión de un rayo gamma inmediato. El núcleo radiactivo formado se desintegra mediante la emisión de una partícula beta. Si se forma un núcleo producto excitado, puede emitir un rayo gamma retrasado. Si la desintegración es directamente hacia el estado basal del núcleo producto no se emite ningún rayo gamma.

de 3% de su desintegración se debe a una fisión espontánea, que produce 3.8 neutrones por fisión. Con este tipo de fuente se puede obtener una densidad de flujo térmico de alrededor de $10^7 \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ o superior.

Los neutrones también se pueden producir al preparar una mezcla de un emisor alfa, como plutonio, americio o curio, con un elemento ligero, como berilio. Una fuente de este tipo que se utiliza comúnmente sigue la reacción

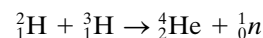


Para producir neutrones térmicos, se utiliza parafina como moderador.

Aceleradores

Existen en el mercado pequeños aceleradores de partículas cargadas, de los que se pueden colocar en una mesa, para la generación de neutrones. Un generador típico consta de una fuente que libera iones deuterio en un área donde son acelerados por un potencial de

algunos cientos de kV hacia un objetivo que contiene tritio adsorbido sobre titanio o circonio. La reacción es



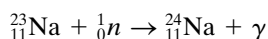
Los neutrones con energías superiores que se producen de esta manera se utilizan en especial para la activación de elementos más ligeros.

32C.2 Interacciones de los neutrones con la materia

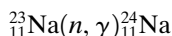
Las características fundamentales de los neutrones se enlistan en la tabla 32.1. Los neutrones libres no son estables y se desintegran a una vida media de alrededor de 10.2 minutos para dar protones y electrones. Sin embargo, los neutrones libres no duran el tiempo suficiente para desintegrarse de esta manera, debido a su gran tendencia a reaccionar con el material del entorno. La elevada reactividad de los neutrones proviene de su carga cero, que les permite acercarse a los nú-

cleos cargados sin que haya interferencia de las fuerzas de Coulomb.

La *captura de neutrones* es la reacción más importante de los métodos de activación. En este caso, los neutrones son capturados por el núcleo del analito, por lo que se forma un isótopo con el mismo número atómico, pero con un número de masa que es superior en una unidad. El nuevo núclido está en un estado excitado muy elevado, debido a que adquiere energía de varios MeV por la unión del neutrón. Este exceso de energía es liberado por la *emisión inmediata de rayos gamma* o por emisión de una o más partículas nucleares, como neutrones, protones o partículas alfa. Un ejemplo de una reacción que produce la emisión inmediata de rayos gamma es



Por lo regular, las ecuaciones de este tipo se escriben en la forma abreviada



Los rayos gamma inmediatos formados por reacciones de captura son de interés analítico en algunos casos, pero el radionúclido producido (${}^{24}\text{Na}$) y sus radiaciones de desintegración se usan con más frecuencia en el análisis mediante activación de neutrones.

32C.3 Teoría de los métodos de activación

Cuando se expone a un flujo de neutrones, la velocidad de formación de núcleos radiactivos a partir de un isótopo sencillo puede expresarse con

$$\frac{dN^*}{dt} = N\phi\sigma$$

donde dN^*/dt es la velocidad de reacción (s^{-1}), N es el número de átomos diana estables, ϕ es la densidad de flujo promedio ($n \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y σ es la sección transversal de captura en (cm^2).⁹ Esta última es una medida de la probabilidad de que los núcleos reaccionen con un neutrón a la energía del neutrón utilizada. Las tablas de sección transversal de reacción para neutrones térmicos ofrecen una lista de valores para σ en *barns* b, donde $1 \text{ b} = 10^{-24} \text{ cm}^2$.

Una vez que se forma, el núcleo radiactivo se desintegra a una velocidad de $-dN^*/dt$ dada por la ecuación 32.2. Es decir,

$$-\frac{dN^*}{dt} = \lambda N^*$$

⁹En este caso se usa el símbolo N^* para distinguir entre la cantidad de núcleos radiactivos y la cantidad de núcleos estables N .

Entonces, durante la irradiación con un flujo uniforme de neutrones, la velocidad neta de formación de partículas activas es

$$\frac{dN^*}{dt} = N\phi\sigma - \lambda N^*$$

Cuando esta ecuación se integra desde un tiempo 0 hasta t , se obtiene

$$N^* = \frac{N\phi\sigma}{\lambda} [1 - \exp(-\lambda t)]$$

Si se sustituye la ecuación 32.5 en el término exponencial se tiene

$$N^* = \frac{N\phi\sigma}{\lambda} \left[1 - \exp\left(-\frac{0.693t}{t_{1/2}}\right) \right]$$

Esta última ecuación se puede reordenar para dar el producto λN^* , que es la actividad A (véase la ecuación 32.6). Por tanto,

$$A = \lambda N^* = N\phi\sigma \left[1 - \exp\left(-\frac{0.693t}{t_{1/2}}\right) \right] = N\phi\sigma S \quad (32.17)$$

donde S es el factor de saturación, que es igual a 1 menos el término exponencial.

La ecuación 32.17 se puede escribir en términos de mediciones experimentales de la velocidad al sustituirla en la ecuación 32.7 para dar

$$R = cN\phi\sigma \left[1 - \exp\left(-\frac{0.693t}{t_{1/2}}\right) \right] = N\phi\sigma cS \quad (32.18)$$

La figura 32.7 es una gráfica de esta relación a tres niveles de densidad de flujo de neutrones. El eje de las abscisas es la relación entre el tiempo de irradiación y la vida media del isótopo ($t/t_{1/2}$). En cada caso, la velocidad de conteo se aproxima a un valor constante en el que las velocidades de formación y de desintegración del radionúclido se acercan entre sí. Es evidente que la irradiación durante periodos superiores a cuatro o cinco veces la vida media de un isótopo mejora poco la sensibilidad.

En muchos análisis, la irradiación de la muestra y de los patrones se lleva a cabo durante un tiempo suficientemente largo para alcanzar la saturación, de modo que S se aproxime a la unidad. En esta circunstancia, todos los términos del segundo miembro de la ecuación 32.18, menos N son constantes, y el número de radionúclidos del analito es directamente proporcional a la velocidad de conteo. Si el núclido progenitor, o diana, existe en la naturaleza, la masa del analito m se puede obtener a partir de N multiplicado por el núme-

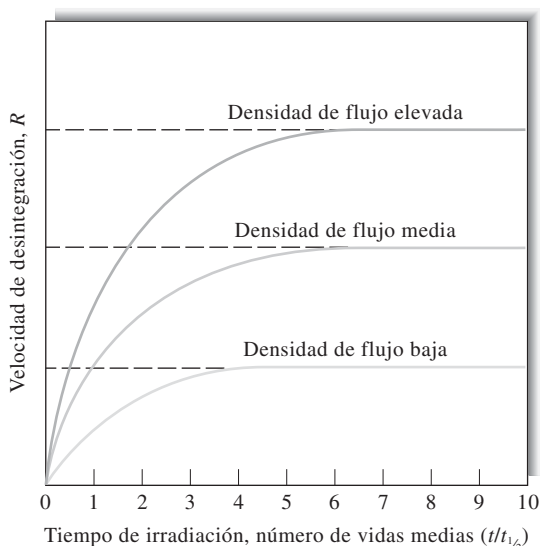


FIGURA 32.7 Efecto del flujo de neutrones y del tiempo en la actividad inducida en una muestra.

ro de Avogadro, la abundancia natural del núclido del analito y la masa atómica. Como todas son constantes, la masa del analito es directamente proporcional a la velocidad de conteo. Así, si se utilizan los subíndices x y s para representar la muestra y el patrón, respectivamente, se puede escribir

$$R_x = km_x \quad (32.19)$$

$$R_s = km_s \quad (32.20)$$

donde k es una constante de proporcionalidad. Al dividir una ecuación entre la otra y reacomodar los términos se obtiene una ecuación sencilla para calcular la masa del analito en una muestra desconocida:

$$m_x = \frac{R_x}{R_s} m_s \quad (32.21)$$

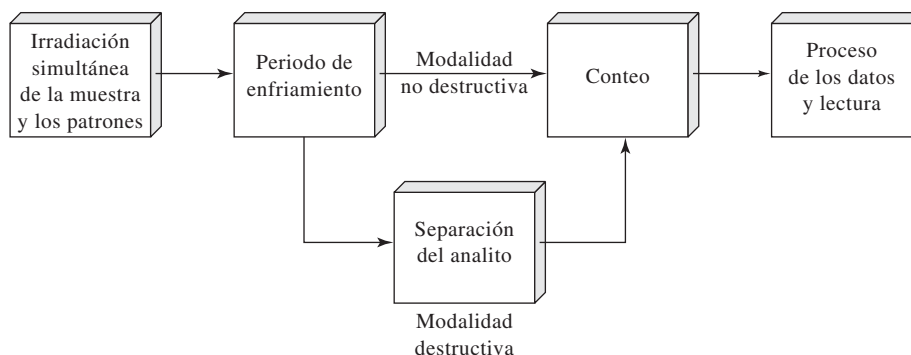


FIGURA 32.8 Diagrama de flujo para dos tipos de métodos de activación de neutrones.

32C.4 Consideraciones experimentales en los métodos de activación

La figura 32.8 es un diagrama de bloques que indica el flujo de la muestra y los patrones en los dos tipos más comunes de métodos de activación, *destructivo* y *no destructivo*. En ambos procedimientos, la muestra y uno o más patrones son irradiados simultáneamente con neutrones u otro tipo de radiación. Las muestras pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas, pero las dos primeras son más comunes. Los patrones se deben parecer a la muestra lo más posible tanto física como químicamente. En general, las muestras y los patrones están en pequeños frascos de polietileno y, en ocasiones, también se utilizan frascos de cuarzo sellados con calor. Se ha de cuidar que las muestras y los patrones estén expuestos al mismo flujo de neutrones. El tiempo de irradiación depende de varios factores y, a menudo, se determina en forma empírica. A menudo se aplica un tiempo de exposición de casi tres a cinco veces la vida media del producto del analito (véase figura 32.7). Los tiempos de irradiación varían desde pocos minutos hasta varias horas.

Cuando la irradiación termina, se deja que la muestra y los patrones se desintegren, o se “enfrien” durante un periodo que oscila entre unos pocos minutos y varias horas o más. Durante el proceso de enfriamiento las interferencias de vida corta se desintegran sin afectar el resultado del análisis. Otra razón para dejar que una muestra irradiada se enfríe es que se reduce el riesgo para la salud asociado con los altos niveles de radiactividad.

Métodos no destructivos

Como se muestra en la figura 32.8, en el método no destructivo la muestra y los estándares se cuentan directamente después del enfriamiento. En este caso, la capacidad de un espectrómetro de rayos gamma para discriminar entre las radiaciones de diferente energía

proporciona selectividad. La ecuación 32.21 se utiliza entonces para calcular la cantidad de analito en la muestra desconocida, como se ilustra con el ejemplo 32.5.

EJEMPLO 32.5

Se realizó un análisis por activación de neutrones de dos alícuotas de 5.00 mL de agua de río. A una de ellas se le añadió exactamente 1.00 mL de una solución patrón que contenía 1.00 μg de Al^{3+} y a la otra alícuota se le añadió 1.00 mL de agua desionizada. Las dos muestras se irradiaron en forma simultánea con un flujo de neutrones homogéneo. Después de un breve periodo de enfriamiento, se contó la radiación gamma de la desintegración del ^{28}Al en cada muestra. La solución que fue diluida con agua dio una velocidad de conteo de 2315 cpm, y la solución que contenía el Al^{3+} añadido dio una lectura de 4197 cpm. Calcule la masa de Al en la muestra de 5.00 mL.

Solución

Se trata de un problema de adición estándar simple que se puede resolver al sustituir los datos en las ecuaciones 32.19 y 32.20. Entonces,

$$2315 = km_x$$

$$4197 = k(m_x + m_s) = k(m_x + 1.00)$$

Luego de resolver estas dos ecuaciones se tiene

$$m_x = 1.23 \mu\text{g}$$

Sin duda, el éxito del método no destructivo requiere que el espectrómetro sea capaz de aislar la señal de rayos gamma producida por el analito de las señales de los otros componentes. El que sea posible o no una adecuada resolución depende de la complejidad de la muestra, de la presencia o ausencia de elementos que produzcan rayos gamma de casi la misma energía que la del analito y del poder de resolución del espectrómetro. Las mejoras en el poder de resolución, que se han conseguido en las décadas pasadas a causa del desarrollo de los detectores de germanio de alta pureza (sección 12B.4) han ampliado mucho el campo de aplicación del método no destructivo. La gran ventaja de esta modalidad es su sencillez en términos de manipulación de la muestra y el tiempo mínimo de operación que se requiere para completar el análisis. De hecho, los modernos equipos de activación están ampliamente automatizados. Con frecuencia, la técnica instrumental puramente no destructiva se denomina análisis instrumental mediante activación de neutrones.

Métodos destructivos

Como se muestra en la trayectoria de la parte baja de la figura 32.8, un método destructivo requiere que el analito se separe de los otros componentes de la muestra antes del conteo. Si se utiliza un método de separación química, esta técnica se llama *activación de neutrones radioquímica*. En este caso, una cantidad conocida de la muestra irradiada se disuelve y el analito se separa por precipitación, extracción, intercambio iónico o cromatografía. El material aislado o una fracción conocida del mismo se cuenta entonces para conocer su actividad gamma (o beta). Los patrones son irradiados simultáneamente y tratados de igual manera que en el método no destructivo. Se utiliza la ecuación 32.21 para calcular los resultados del análisis.

32C.5 Aplicación de la activación de neutrones

Los métodos de activación de neutrones ofrecen varias ventajas, entre las que están la alta sensibilidad, la preparación mínima de la muestra y la fácil calibración. A menudo estos procedimientos son no destructivos y por ello se aplican al análisis de objetos de arte, monedas, muestras forenses y objetos arqueológicos. La mayor desventaja de los métodos de activación es que necesitan un equipo grande y caro e instalaciones especiales para la manipulación y para el desecho de materiales radiactivos. Otra desventaja es el largo tiempo de análisis que se requiere cuando se utilizan radionúclidos de vida larga.

Campo de aplicación

La figura 32.8 muestra que la activación neutrónica es potencialmente aplicable a la determinación de 69 elementos. Además, cuatro de los gases inertes forman radionúclidos con neutrones térmicos y, por tanto, también se pueden determinar. Para finalizar, tres elementos adicionales, oxígeno, nitrógeno e itrio pueden ser activados con neutrones rápidos. La lista de los tipos de materiales a los que el método se ha aplicado es enorme y en ella hay metales, aleaciones, objetos arqueológicos, semiconductores, muestras biológicas, rocas, minerales y agua. La aceptación en los tribunales jurídicos de la evidencia obtenida por medio del análisis por activación ha dado lugar a un amplio uso en química forense. En este caso, su elevada sensibilidad y su carácter de método no destructivo son particularmente útiles. La mayoría de las aplicaciones permite determinar trazas de varios elementos.¹⁰

¹⁰Para la primera aplicación forense del análisis mediante activación de neutrones véase "Análisis instrumental en acción" al final de la sección 6.

[illegible]

FIGURA 32.9 Sensibilidad estimada de los métodos de activación de neutrones. Los números en gris claro corresponden a la sensibilidad β en microgramos; los números en negro a la sensibilidad γ en microgramos. En cada caso, las muestras fueron irradiadas durante una hora o menos con un flujo térmico de 1.8×10^{-12} n/cm²/s. (Tomado de V. P. Guinn y H. R. Lukens Jr., en *Trace Analysis: Physical Methods*, G. H. Morrison, ed., p. 345, Nueva York:

Exactitud

Los principales errores que se presentan en análisis por activación surgen de la autoprotección, del flujo desigual de neutrones en la muestra y los patrones, de las incertidumbres en los recuentos y de los errores en el conteo debido a la dispersión, la absorción y a diferencias en la geometría entre la muestra y el patrón. Por lo regular, los errores por estas causas se pueden reducir a menos de 10% relativo. A menudo se obtienen incertidumbres entre uno y tres por ciento.

Sensibilidad

La característica más importante del método de activación de neutrones es su notable sensibilidad para muchos elementos. En la figura 32.9, por ejemplo, se observa que es posible detectar hasta 10^{-5} µg de diversos elementos. Hay que tener en cuenta también las amplias variaciones de sensibilidad entre los elementos; por tanto, para la determinación del hierro se requieren alrededor de 50 µg de este metal y sólo 10^{-6} µg en el caso del europio.

La eficacia de la recuperación química, en caso de que se requiera, podría limitar la sensibilidad de un análisis por activación. Otros factores son la sensibilidad del equipo de detección para la radiación emitida, el grado en que disminuye la actividad de la muestra entre la irradiación y la valoración, el tiempo disponible para el conteo y la magnitud del conteo del fondo respecto al de la muestra. Con objeto de disminuir la duración del periodo de conteo es deseable tener una velocidad de desintegración elevada. Sin embargo, concomitante con las velocidades de desintegración elevadas está la necesidad de establecer con exactitud el lapso entre el cese de la irradiación y el inicio del proceso de conteo. Una complicación potencial adicional se relaciona con el *tiempo muerto* del sistema de conteo, durante el cual el contador es insensible a los fenómenos. Si las velocidades de conteo son muy altas, se pueden pasar por alto fenómenos. En este caso, se debe introducir una corrección para tener en cuenta la diferencia entre el tiempo de conteo transcurrido (cronometrado) y el tiempo real.

32D MÉTODOS DE DILUCIÓN ISOTÓPICA

Los métodos de dilución isotópica, que son anteriores a los de activación, todavía se aplican ampliamente a problemas en todas las ramas de la química. Estos métodos están entre los más selectivos de que disponen

los químicos. En la técnica de dilución isotópica se utilizan tanto los núclidos estables como los radiactivos. Sin embargo, estos últimos son los más adecuados debido a la facilidad con que se puede determinar la concentración del isótopo. En este texto sólo se estudian los métodos que utilizan especies radiactivas.

32D.1 Fundamentos del procedimiento de dilución isotópica

Los métodos de dilución isotópica requieren la preparación de una cantidad de analito en una forma radiactiva. Una cantidad conocida de esta especie marcada isotópicamente se mezcla con la muestra que se desea analizar. Después de un tratamiento que asegure la homogeneidad entre la especie activa y la no activa, una parte del analito se aísla químicamente en forma de un compuesto purificado. Si se cuenta una porción conocida de este producto, se puede calcular el grado de dilución del material activo y relacionarlo con la cantidad de sustancia no activa en la muestra original. Hay que destacar que no es necesaria la recuperación cuantitativa de las especies. Por consiguiente, a diferencia de las separaciones analíticas características, se pueden utilizar diversas etapas para asegurar un producto de elevada pureza para realizar el análisis. Esta independencia de la necesidad de aislamiento cuantitativo es lo que proporciona la elevada selectividad del método de dilución isotópica.

Para desarrollar una ecuación que relacione la actividad de la mezcla aislada y purificada del analito y el marcador radiactivo con la cantidad original de analito, se supone que una masa m_t del marcador que tiene una velocidad de conteo de R_t se añade a una muestra que contiene una masa m_x de analito inactivo. La velocidad de conteo para los gramos $m_x + m_t$ resultantes de la mezcla será la misma que para los m_t gramos del marcador radiactivo o R_t . Si ahora se cuentan los m_m gramos de la mezcla aislada y purificada de las especies activa e inactiva, la velocidad de conteo R_m será $m_m/(m_x + m_t)$ de R_t debido a la dilución. Por tanto, es posible escribir

$$R_m = R_t \left(\frac{m_m}{m_x + m_t} \right) \quad (32.22)$$

que luego de reacomodar términos se vuelve

$$m_x = \frac{R_t}{R_m} m_m - m_t \quad (32.23)$$

Por tanto, la masa de las especies originalmente presentes se obtiene a partir de las cuatro cantidades que se midieron en el segundo miembro de la ecuación 32.23 como se ilustra en el ejemplo 32.6.



Clase interactiva: aprenda más acerca de los **métodos radioquímicos**.

EJEMPLO 32.6

Se añade 1.00 mg de triptófano a una muestra de hidrolizado de proteína. El triptófano está marcado con ^{14}C y presenta una velocidad de conteo de 584 cpm sobre el ruido de fondo. Después de mezclar con cuidado este compuesto marcado con la muestra, la mezcla se pasó a través de una columna de intercambio iónico. Se recolectó la fracción de eluyente que sólo contenía triptófano y se aisló de ella una muestra de 18.0 mg de triptófano puro. La velocidad de conteo de la muestra aislada fue de 204 cpm en el mismo contador. ¿Cuál era la cantidad de triptófano en la muestra original?

Solución

Al sustituir en la ecuación 32.23 se tiene

$$m_x = \left(\frac{584 \text{ cpm}}{204 \text{ cpm}} \times 18.0 \text{ mg} \right) - 1.00 \text{ mg} = 50.5 \text{ mg}$$

32D.2 Aplicación del método de dilución isotópica

Esta técnica se ha utilizado para determinar alrededor de 30 elementos en distintas matrices. Los procedimientos de dilución isotópica también se usan ampliamente para identificar compuestos que tienen interés en química orgánica y bioquímica. Por eso se han ideado métodos para la determinación de distintas sustancias como vitamina D, vitamina B₁₂, sacarosa, insulina, penicilina, diversos aminoácidos, corticosterona, distintos alcoholes y tiroxina. El análisis de dilución isotópica se aplica menos desde el surgimiento de los métodos de activación. Sin embargo, cabe esperar que el procedimiento se siga usando debido a la relativa sencillez del equipo requerido. Además, la dilución isotópica es a menudo aplicable cuando los métodos de activación fallan.

Un ejemplo de una técnica en la que se aplica el principio de la dilución de isótopos en las reacciones anticuerpo-antígeno es el radioinmunoensayo. El perfeccionamiento de esta técnica le dio a Rosalyn Yalow el Premio Nobel en Fisiología o Medicina en 1977. En esta técnica se prepara una mezcla de un antígeno radiactivo, que por lo general contiene ^{125}I o ^{131}I y anticuerpos específicos para el antígeno. Luego se añaden cantidades conocidas de antígenos sin marcar, los cuales compiten por los sitios de enlace en el anticuerpo. A medida que aumenta la concentración de antígeno sin marcar, más antígeno radiactivo es desplazado de los anticuerpos y se incrementa la relación entre antígeno libre y enlazado. Para determinar esta relación, el antígeno libre y el antígeno unido al anticuerpo se separan y se mide la emisión gamma de ^{125}I o ^{131}I . A partir de las cantidades conocidas de antígeno añadidas se elabora una curva de enlace estándar. Las muestras desconocidas se someten después al mismo procedimiento y se determina la relación entre antígeno libre y antígeno enlazado al anticuerpo. Luego se determina la cantidad de antígeno sin marcar presente en las muestras a partir de la curva de enlace.

Es interesante señalar que el fundamento de la dilución tiene también otras aplicaciones no radiactivas. Un ejemplo es su uso para determinar las dimensiones de los bancos de salmones que van a desovar en los ríos costeros de Alaska. En este caso se captura una cantidad pequeña de salmones, se marca en forma mecánica y se devuelve al río. Se efectúa una segunda captura a unos 15 km río arriba y se determina la fracción de salmones marcados. La población total de salmones se calcula con facilidad a partir de esta información y de la cantidad originalmente marcada. Por supuesto que debe suponerse que la población de salmones se mantiene homogénea durante el viaje entre las estaciones de captura.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

32.1 Identifique X en cada una de las siguientes reacciones:

- $^{68}_{30}\text{Zn} + {}^1_0n \rightarrow {}^{65}_{28}\text{Ni} + \text{X}$
- $^{30}_{15}\text{P} \rightarrow {}^{30}_{14}\text{Si} + \text{X}$
- $^{214}_{82}\text{Pb} \rightarrow {}^{214}_{83}\text{Bi} + \text{X}$
- $^{235}_{92}\text{U} + {}^1_0n \rightarrow 4({}^1_0n) + {}^{72}_{30}\text{Zn} + \text{X}$
- $^{130}_{52}\text{Te} + {}^2_1\text{H} \rightarrow {}^{131}_{53}\text{I} + \text{X}$
- $^{64}_{29}\text{Cu} + \text{X} \rightarrow {}^{64}_{28}\text{Ni}$

-  **32.2** El potasio 42 es un emisor β con una vida media de 12.36 horas. Calcule la fracción de este radionúclido que permanece en una muestra después de 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 100 horas. Grafique la fracción remanente contra el tiempo. Determine el tiempo que se requiere para que la fracción baje a uno por ciento.
-  **32.3** Calcule la fracción de cada uno de los siguientes radionúclidos que queda después de un día, 2 días, 3 días y 4 días (las vidas medias se dan entre paréntesis): hierro-59 (44.51 días), titanio-45 (3.078 h), calcio-47 (4.536 días) y fósforo-33 (25.3 días).
- *32.4** Una muestra de PbSO_4 contiene 1 microcurie de Pb-200 ($t_{1/2} = 21.5$ h). ¿Qué tiempo de almacenamiento es necesario para asegurar que su actividad sea inferior a 0.01 microcurie?
- *32.5** Determine la desviación estándar y la desviación estándar relativa asociadas con conteos de a) 100, b) 750, c) 7.00×10^3 , d) 2.00×10^4 .
- *32.6** Determine la incertidumbre absoluta y relativa asociada con una medición que involucra 800 conteos en el
- nivel de confianza de 90 por ciento.
 - nivel de confianza de 95 por ciento.
 - nivel de confianza de 99 por ciento.
- *32.7** En el caso de una muestra radiactiva particular, la velocidad de conteo total (muestra más ruido de fondo) fue de 450 cpm, y este valor se obtuvo durante un periodo de conteo de 15.0 minutos. El ruido de fondo se contó durante 2.0 minutos y fue de 7 cpm. Calcule
- la velocidad de conteo corregida R_c .
 - la desviación estándar asociada con la velocidad de conteo corregida σ_{R_c} .
 - el intervalo de confianza de 95% asociado con la velocidad de conteo corregida.
- *32.8** La velocidad de recuento del ruido de fondo de un laboratorio fue calculada aproximadamente en 9 cpm cuando se midió durante un periodo de tres minutos. El objetivo es mantener la desviación estándar relativa de la velocidad de conteo corregida inferior a 5% ($\sigma_{R_c}/R_c < 0.05$). ¿Qué cantidad total de conteos se debe realizar si la velocidad de conteo total es a) 70 cpm y b) 400 cpm?
- *32.9** Una muestra de ^{64}Cu presenta 3250 cpm. Después de 10.0 h, la misma muestra presentó 2230 cpm. Calcule la vida media del ^{64}Cu .
- *32.10** La mitad de la actividad total de una determinada muestra se debe al ^{38}Cl ($t_{1/2} = 87.2$ minutos). La otra mitad de la actividad se debe al ^{35}S ($t_{1/2} = 37.5$ días). Se debe medir la emisión beta del ^{35}S porque este núclido no emite fotones gamma. Por tanto, es deseable esperar hasta que la actividad del ^{38}Cl haya descendido a un nivel insignificante. ¿Cuánto tiempo debe transcurrir antes de que la actividad del ^{38}Cl haya disminuido a sólo 0.1% de la actividad remanente causada por el ^{35}S ?
- 32.11** Demuestre que la desviación estándar relativa de la velocidad de conteo σ_R/R es simplemente $M^{-1/2}$, donde M es el número de conteos.
- 32.12** ¿En qué condiciones se puede pasar por alto el segundo término de la ecuación 32.23?
- *32.13** Se inyectó en el torrente sanguíneo de un perro 2.00 mL de una solución que contiene 0.120 microcuries por mililitro de tritio. Después de esperar un tiempo para la homogeneización, se observó que una muestra de 1.00 mL de la sangre

- tenía una velocidad de conteo de 15.8 conteos por segundo. Calcule el volumen de sangre del animal.
- *32.14** Se determinó la penicilina de una muestra al agregar 0.981 mg de un compuesto marcado con ^{14}C que tiene una actividad específica de 5.42×10^3 cpm/mg. Después del equilibrio, se aislaron 0.406 mg de penicilina cristalina pura. Este material tuvo una actividad neta de 343 cpm. Calcule los miligramos de penicilina en la muestra.
- *32.15** En un experimento de dilución isotópica se determinó el contenido de cloruro al agregar 5.0 mg de cloruro de sodio que contenía ^{38}Cl ($t_{1/2} = 37.3$ minutos) a una muestra. La actividad específica del NaCl añadido fue de 4.0×10^4 cps/mg. ¿Cuál es la cantidad total de cloruro presente en la muestra original si se aislaron 400 mg de AgCl puro y éste presentó una velocidad de conteo de 35 cps sobre el ruido de fondo 148 minutos después de la adición del marcador?
- 32.16** Se hidrolizó una muestra de 10.0 g de proteína. Se adicionó al hidrolizado 30 mg de treonina marcada con ^{14}C cuya actividad específica era de 1000 cpm/mg. Después de mezclar, se aislaron 11.5 mg de treonina pura que presentaron una actividad específica de 20 cpm/mg.
- ¿Qué porcentaje de esta proteína es treonina?
 - Si se hubiera utilizado ^{11}C ($t_{1/2} = 20.3$ minutos) en vez de ^{14}C , ¿cómo cambiaría su respuesta?
- Suponga que todos los valores numéricos son iguales que en el inciso a) y que el tiempo transcurrido entre las dos mediciones de actividad específica fue de 32 minutos.
- *32.17** Se determinó estreptomicina en 500 g de un caldo por adición de 1.34 mg del antibiótico puro que contenía ^{14}C . La actividad específica de este preparado fue de 223 cpm/mg para un conteo de 30 minutos. De la mezcla se aislaron 0.112 mg de estreptomicina purificada que produjo 654 conteos en 60.0 minutos. Calcule la concentración en partes por millón de estreptomicina en la muestra.
- 32.18** Demuestre mediante un cálculo que la energía cinética promedio de una población de neutrones térmicos es aproximadamente de 0.04 eV.
- 32.19** El manganeso presente en la naturaleza es 100% ^{55}Mn . Este núclido tiene una sección transversal de captura de neutrones térmicos de 13.3×10^{-24} cm². El producto de la captura neutrónica es ^{56}Mn , que es un emisor beta y gamma con una vida media de 2.50 h. Al elaborar la figura 32.9 se supuso que la muestra se irradiaba durante una hora a un flujo de 1.8×10^{12} neutrones/(cm² s) y que se detectaban 10 cpm sobre el ruido de fondo.
- Calcule la masa mínima de manganeso que se podría detectar.
 - Explique por qué el valor calculado es inferior al valor tabulado.

Problema de reto

- 32.20** a) Consulte las referencias sobre el análisis mediante activación de neutrones o investigue en la red. Describa con detalle los instrumentos y las diferencias radioquímicas entre la activación de neutrones inmediatos de rayos gamma y la activación de neutrones retrasados de rayos gamma.
- ¿Cuáles son los tipos de elementos para los cuales es más aplicable el análisis mediante activación de rayos gamma inmediatos?
 - ¿Por qué la emisión de rayos gamma retrasada es la que más se usa en el análisis mediante activación de neutrones?

- d) ¿Por qué se considera que el análisis mediante activación de neutrones es un método muy selectivo y sensible?
- e) Se estudia un cristal de fluoruro de potasio por análisis mediante activación de neutrones. La tabla siguiente resume el comportamiento de todos los isótopos naturales que se encontraron en el cristal.

Abundancia natural

100%	$^{19}_9\text{F} (n, \gamma) ^{20}_9\text{F}$	$t_{1/2} = 11 \text{ s}$	$^{20}_{10}\text{Ne} + \beta^- + \bar{\nu}$
93%	$^{39}_{19}\text{K} (n, \gamma) ^{40}_{19}\text{K}$		
0.01%	$^{40}_{19}\text{K} (n, \gamma) ^{41}_{19}\text{K}$		
7%	$^{41}_{19}\text{K} (n, \gamma) ^{42}_{19}\text{K}$	$t_{1/2} = 12.4 \text{ h}$	$^{42}_{20}\text{Ca} + \beta^- + \bar{\nu}$

El ^{19}F , el ^{20}Ne , el ^{39}K , el ^{41}K y el ^{42}Ca son estables y se puede suponer que también lo es el ^{40}K porque su vida media es de 1.3×10^9 años. ¿Qué tipo de irradiación y de secuencia de detección se debe aplicar si desea basar su análisis en el flúor?

- f) ¿Qué clase de irradiación y de secuencia de detección se debe aplicar si desea basar su análisis en el potasio?
- g) Refiérase al inciso e) y calcule la actividad debida al ^{20}F y al ^{42}K en una muestra de 58 mg (1.0 milimoles) de fluoruro de potasio puro que ha sido irradiada durante 60 s. Las secciones transversales de los neutrones térmicos para el ^{19}F y el ^{41}K son $0.0090 \times 10^{-24} \text{ cm}^2$ y $1.1 \times 10^{-24} \text{ cm}^2$, respectivamente. Suponga un flujo de $1.0 \times 10^{13} \text{ neutrones cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- h) Busque en las publicaciones especializadas un método que describa el uso del análisis mediante activación de neutrones para determinar selenio en ecosistemas de agua dulce. Explique el método con detalle. No olvide la fuente de neutrones, el tiempo de irradiación y los cálculos usados. Mencione cuáles son las ventajas y las desventajas del método respecto a otras técnicas analíticas.

Métodos automatizados de análisis

Uno de los principales adelantos de la química analítica durante las tres últimas décadas es la presencia en el mercado de sistemas automáticos para análisis que proporcionan información analítica y de control con la mínima intervención del operador. Al inicio, estos sistemas se utilizaron en los laboratorios clínicos, donde 30 especies o más se determinan en forma rutinaria con fines de diagnóstico y preventivos. La automatización de los laboratorios pronto se extendió al control de los procesos industriales y después a los laboratorios farmacéuticos, ambientales, forenses, gubernamentales y de investigación en las universidades. En la actualidad, una gran cantidad de las determinaciones de rutina, así como muchos de los análisis más comunes, se ejecutan con sistemas parcialmente automatizados.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

33A PANORAMA GENERAL

Hay muchas definiciones de automatización, pero el sentido práctico es el desarrollo de operaciones sin la intervención del hombre. En el contexto de la química analítica, la automatización se refiere a operaciones como la preparación de muestras, la medición de las respuestas y el cálculo de los resultados.¹ En la figura 33.1 se ilustran los pasos comunes en el análisis químico ordinario y los métodos de automatización que se emplean. En algunos casos se pueden omitir uno o más de los pasos que aparecen a la izquierda de la figura. Por ejemplo, si la muestra ya es un líquido, se puede omitir el paso de la disolución. De igual manera, si el método es muy selectivo, el paso de la separación podría ser innecesario. Los pasos que se proporcionan en la figura 33.1 reciben algunas veces el nombre de *operaciones unitarias*.

En este capítulo se mencionan los analizadores que están altamente automatizados, como los de inyección de flujo y los analizadores discretos. Además, también se estudian los sistemas robóticos para laboratorio que se están volviendo cada vez más comunes para el manejo y preparación de las muestras. Los adelantos más modernos en la automatización comprenden el perfeccionamiento de los sistemas de microflujo, a los que se les llama a veces *laboratorio en un circuito integrado* o *sistemas de análisis total con circuitos integrados*. Estos adelantos recientes también se incluyen en este capítulo. Es importante hacer notar que los mismos principios de análisis automático que se analizan aquí se aplican también a los sistemas de control de los procesos, los cuales analizan el estado de un proceso y luego, a través de retroalimentación modifican las variables experimentales de tal manera que el estado actual y el estado deseado sean casi idénticos.

33A.1 Ventajas y limitaciones de los análisis automatizados

Los instrumentos automatizados ofrecen una importante ventaja económica porque ahorran el costo de la mano de obra, pero para aprovecharla se requiere que el volumen de trabajo sea lo suficientemente grande con el fin de compensar la inversión inicial de capital. En el caso de los laboratorios clínicos y de pruebas, que realizan todos los días un elevado número de análisis de rutina, se puede lograr un ahorro enorme con la automatización.

La segunda ventaja importante de los instrumentos automatizados es que la cantidad de determinaciones

¹ Para monografías sobre automatización de laboratorios, véase *Laboratory Automation in the Chemical Industries*, D. G. Cork y T. Sugawara, eds., Nueva York: Dekker, 2002; *Automation in the Laboratory*, W. J. Hurst, ed., Nueva York: Wiley, 1995; V. Cerda y G. Ramis, *An Introduction to Laboratory Automation*, Nueva York: Wiley, 1990.

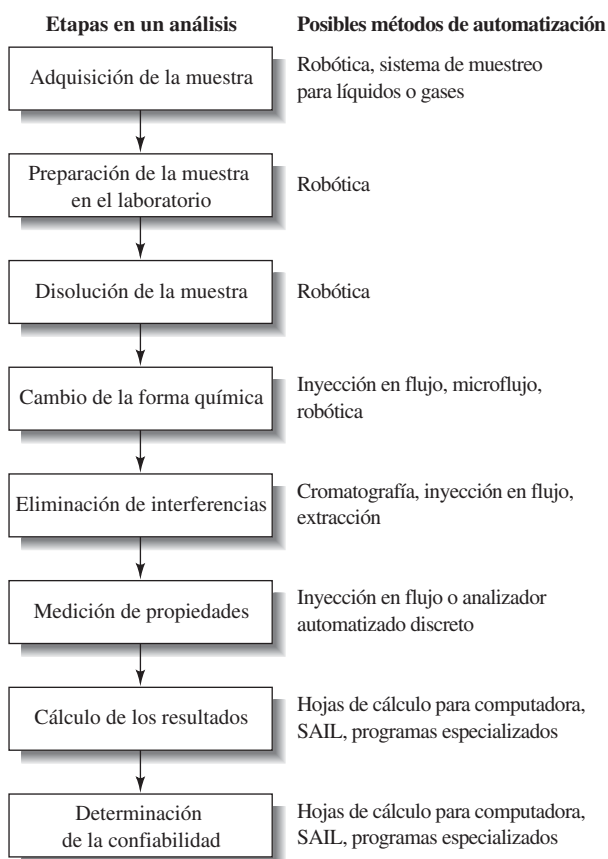


FIGURA 33.1 Etapas en el proceso analítico que muestra los posibles métodos de automatización. SAIL = Sistema de administración de la información del laboratorio.

por día es mucho más alta que con los métodos manuales. En algunos casos se debe a que la velocidad de un analizador automatizado es muy superior a la de un instrumento equivalente pero manual. En otros casos, la mayor producción se debe a que el instrumento automatizado puede estar funcionando más horas al día que un empleado. De hecho, la alta producción posibilita a menudo la supervisión continua de la composición de los productos mientras están siendo fabricados. A su vez, esta información permite modificar las condiciones para mejorar la calidad. Asimismo, el control continuo es útil en medicina, disciplina en la que los resultados analíticos se usan para determinar la situación actual del paciente y su respuesta a cierto tratamiento; y en el análisis ambiental, ya que los resultados se usan para medir la efectividad de los procedimientos de eliminación de contaminantes.

La tercera ventaja de la automatización es que con un analizador de buen diseño se pueden conseguir a menudo resultados más reproducibles en un periodo largo que los que obtiene un operador humano con un instrumento manual. Se considera que este aumento

de la precisión de un dispositivo automatizado se debe a dos razones. En primer lugar, las máquinas no se fatigan ni se aburren; está demostrado que esto afecta de manera adversa los resultados cuando se obtienen de forma manual. Un factor que contribuye de manera muy importante a la precisión es la elevada capacidad de los instrumentos automatizados de reproducir medidas sincronizadas sucesivas, lo cual rara vez se puede lograr con los métodos manuales. Por ejemplo, los analizadores automáticos permiten usar reacciones colorimétricas sin alcanzar el punto final, o las que dan lugar a productos cuya estabilidad no es apta para realizar en ellos mediciones manuales. De igual manera, las técnicas de separación, como diálisis o extracción con solventes, en las que la recuperación del analito es incompleta, siguen siendo aplicables si se utilizan sistemas automatizados. En ambos casos, la gran capacidad de reproducir la medida del tiempo de las secuencias de operación garantiza que las muestras y los patrones se procesen de la misma manera y durante el mismo lapso.

Entre otras ventajas de la automatización están la capacidad para procesar muestras en situaciones peligrosas para un ser humano, la reducción al mínimo de los errores de cálculo y el registro directo de los resultados en bases de datos y sistemas de almacenamiento de archivos. En algunos casos, con los sistemas automatizados se utilizan procedimientos más largos y más complicados que los que se ejecutan en forma manual.

En los primeros días de la automatización en los laboratorios prevalecía la opinión de que los instrumentos automatizados reemplazarían al analista humano o que reducirían su papel. Pero resulta que el trabajo del analista no ha dejado de ser importante en los laboratorios automatizados e incluso se le ha revalorado. Los químicos analíticos son en última instancia los responsables del estado y de la calidad de los resultados del laboratorio. Esto quiere decir que el analista debe conocer muy bien las ventajas y desventajas de los métodos automatizados que se aplican y estar al tanto de los métodos de calibración y validación. De hecho, los químicos analíticos modernos son en la actualidad responsables no sólo de la calidad de la información, sino también de especificar los instrumentos para adaptar o modificar procedimientos y para investigar nuevos métodos para el manejo de muestras, la separación de interferencias y la evaluación de la confiabilidad de la información, que es un papel distinto, pero de vital importancia.

33A.2 Tipos de sistemas automáticos

Los sistemas analíticos automáticos son de dos tipos: *analizadores discretos* y *analizadores de flujo continuo*; a veces se puede encontrar una combinación de ambos. En un instrumento discreto cada una de las muestras

se mantiene como una entidad independiente y se colocan en recipientes separados durante cada una de las operaciones unitarias que se indican en la figura 33.1. Por el contrario, en los sistemas de flujo continuo la muestra forma parte de la corriente en la que varias de las etapas se efectúan mientras dicha muestra es transportada desde el punto de inyección o introducción de la muestra hasta una unidad de medición, y de aquí a la salida o al desecho. Tanto los instrumentos discretos como los continuos están controlados casi siempre por una computadora.

Como los instrumentos discretos están equipados con recipientes individuales, se elimina totalmente la contaminación entre muestras. En cambio, en los sistemas de flujo continuo las interacciones entre las muestras siempre dan problemas, sobre todo al aumentar la velocidad de muestreo. En este caso hay que tomar medidas precautorias especiales para reducir al mínimo la contaminación de las muestras.

En general, los analizadores de flujo continuo modernos son más sencillos desde el punto de vista mecánico y más baratos que los discretos. De hecho, en muchos sistemas de flujo continuo las únicas partes móviles son las bombas y las válvulas interruptoras que son componentes baratos y confiables. Por el contrario, en los sistemas discretos hay a menudo una serie de elementos móviles, como jeringas, válvulas y dispositivos mecánicos para transportar las muestras o los paquetes de reactivos de una parte a otra del sistema. En los sistemas discretos más complejos, las operaciones unitarias se ejecutan con la ayuda de multifacéticos robots computarizados, que son capaces de trabajar de forma muy similar a la de un operador humano.

Algunas operaciones unitarias no son posibles en los sistemas de flujo continuo porque éstos sólo pueden manipular muestras líquidas. Entonces, cuando hay que analizar sólidos o cuando hay que triturar, pesar, calcinar, fundir o filtrar para un análisis, la automatización sólo es posible con sistemas discretos o mediante la combinación de robótica con una unidad de flujo continuo.

En este capítulo se estudia primero el análisis por inyección en flujo (AIF), un método continuo, reciente e importante de flujo continuo. Luego se tratan los sistemas de microflujo, los cuales son tipos miniaturizados de unidades de flujo continuo. Después se describen varios tipos de sistemas automáticos discretos, algunos de los cuales utilizan robots.

33B ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO

Los métodos de inyección en flujo fueron descritos por primera vez a mediados de los años setenta por Ruzicka y Hansen en Dinamarca y Stewart y colaboradores

en Estados Unidos.² Son una consecuencia de los métodos de flujo segmentado, muy utilizados en los laboratorios clínicos entre los años sesenta y setenta para la determinación rutinaria y automática de distintas especies en muestras de sangre y orina para diagnóstico médico. En los sistemas de flujo segmentado las muestras eran transportadas a través del sistema hasta el detector por medio de una solución acuosa que contenía una serie de burbujas de aire muy próximas entre sí. La misión de éstas era reducir al mínimo la dispersión excesiva de la muestra, impulsar la mezcla turbulenta entre muestras y reactivos y evitar la contaminación entre muestras sucesivas. Era necesario sacar las burbujas de aire antes de la detección con ayuda de un eliminador de burbujas o bien anular sus efectos en forma electrónica. Los descubridores del análisis por inyección en flujo observaron que los sistemas de flujo continuo se podían simplificar en gran medida liberando las burbujas y empleando sincronización reproducible mediante la inyección de la muestra en un flujo en movimiento.³ Dichos sistemas se pueden diseñar con contaminación mínima de las muestras sucesivas.

La ausencia de burbujas de aire confiere ventajas importantes a la medición de inyección en flujo, como 1) análisis más rápidos (por lo regular entre 100 y 300 muestras/hora); 2) mejores tiempos de respuesta (a menudo menores de un minuto desde la inyección de la muestra hasta la respuesta del detector); 3) menor tiempo entre el encendido y el apagado (menos de 5 min para cada uno) y 4) equipo mucho más sencillo y versátil, excepto por el sistema de inyección. Estas dos últimas ventajas tienen una especial importancia, porque hacen posible y económico efectuar mediciones automáticas a una cantidad pequeña de un tipo poco común. Por tanto, los métodos de flujo continuo ya no deben estar restringidos a situaciones en las que hay un gran número de muestras y el método analítico es por completo rutinario. Además, la sincronización precisa en la inyección en flujo causa una *dispersión controlada*, que puede ser ventajosa en la producción de mezclas reproducibles, de gradientes en la concentración de la muestra o el reactivo y en la reducción al mínimo del consumo de reactivos. A causa de estas mejoras, muchos sistemas de flujo segmentado han sido reemplazados por métodos de inyección en flujo, pero también por sistemas discretos que utilizan robots. En la actualidad varias compañías fabrican instrumentos completos para el análisis de inyección en flujo.

² K. K. Stewart, G. R. Beecher y P. E. Hare, *Anal. Biochem.*, **1976**, 70, p. 167; J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, 78, p. 145.

³ Monografías sobre el análisis de inyección en M. Trojanowicz, *Flow Injection Analysis*, River Edge, NJ: World Scientific Publishing Co., 2000; B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*, Nueva York: Elsevier, 1989; J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1988; M. Valcarcel y M. D. Luque de Castro, *Flow Injection Analysis: Principles and Applications*, Chichester, UK: Ellis Horwood, 1987.

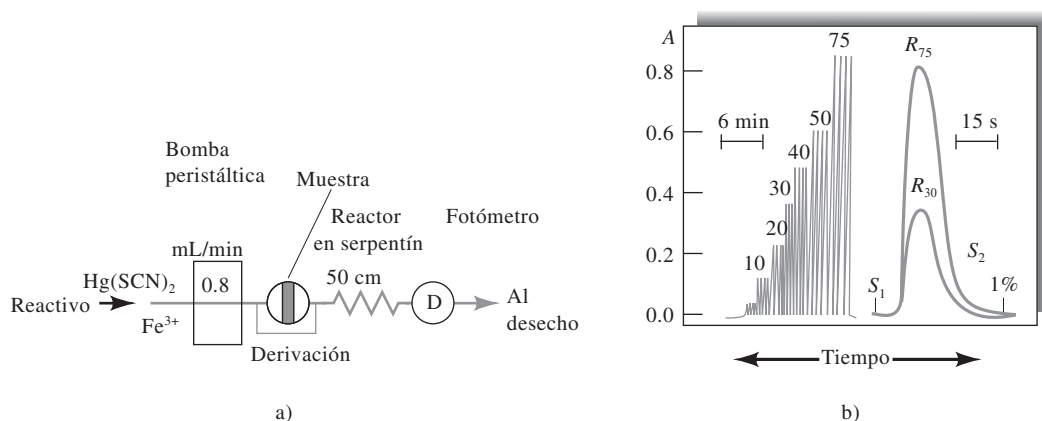
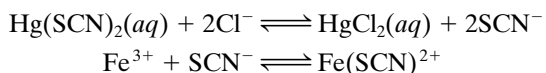


FIGURA 33.2 Determinación de cloruro por inyección en flujo: a) diagrama de flujo; b) registro de trazas de patrones que contienen de 5 a 75 ppm de ion cloruro (izquierda) y barrido rápido de dos de los patrones para demostrar la poca contaminación del analito desde una serie a otra (menos de 1%), a la derecha. Observe que el punto marcado con 1% corresponde al punto donde empezaría la respuesta de una muestra inyectada en un tiempo S_2 . (Tomado de J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Methods*, 2a. ed., p. 16, Nueva York: Wiley, 1988. Reimpreso con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

33B.1 Instrumentos

La figura 33.2a es un diagrama de flujo de la configuración más simple del sistema de inyección en flujo. En este caso, mediante una bomba peristáltica se impulsa un reactivo colorimétrico para la determinación del ion cloruro hasta una válvula, la cual permite inyectar las muestras en la corriente de fluido. Después, la muestra y el reactivo pasan por un reactor de 50 cm en forma de serpentín en que el reactivo se difunde hacia el interior del bolo o bache de muestra, lo que origina un compuesto coloreado debido a las siguientes reacciones



La disolución que sale del reactor en serpentín pasa a través de un fotómetro para flujo provisto de un filtro de interferencia de 480 nm.

A la izquierda de la figura 33.2b se muestra la señal de salida de este sistema para una serie de patrones que contienen de 5 a 75 ppm de cloruro. Observe que se ejecutaron cuatro inyecciones de cada uno de los patrones para demostrar la capacidad de reproducción del sistema. Las dos curvas de la derecha de la figura representan los barridos a gran velocidad de una de las muestras que contiene 30 ppm de cloruro (R_{30}) y de otra que contiene 75 ppm (R_{75}) de cloruro. Estas curvas demuestran que la contaminación entre muestras es mínima en un flujo no segmentado. Por consiguiente, en la celda de flujo queda menos de 1% del primer analito transcurridos 28 s, que es el momento de la siguiente inyección (S_2). Este sistema se ha utilizado satisfactoriamente en la determinación rutinaria de ion cloruro en aguas salobres y residuales, así como en muestras de suero.

Sistema de transporte para muestras y reactivos

Por lo general, en un análisis por inyección en flujo, la solución circula por un tubo flexible en el sistema impulsada por medio de una bomba peristáltica, un dispositivo que comprime, mediante unos rodillos, un fluido, gas o líquido, que se encuentra en el interior de un tubo de plástico. La figura 33.3 ilustra el principio de operación de una bomba peristáltica. La leva de resorte o banda comprime en forma continua el tubo contra dos o más rodillos para lograr una corriente constante de fluido a través del tubo. Las bombas modernas tienen de 8 a 10 rodillos dispuestos en configuración circular para que en todo momento la mitad de ellos presione sobre el tubo. Este diseño produce un flujo relativamente libre de pulsos. La tasa de flujo se controla mediante la velocidad del rotor, que debe ser superior a 30 rpm, y por el diámetro interno (d.i.) del tubo. En el mercado hay una amplia variedad de tubos y diámetros (d.i. = 0.25 a 4 mm) para lograr tasas de flujo tan pequeñas como 0.0005 mL/min y tan grandes como 40 mL/min. Las válvulas para la inyección en flujo han llegado a la miniaturización con los capilares de sílice fundida (diámetro interno de 25 a 100 μm) o mediante la *técnica de laboratorio en un circuito integrado* (véase sección 33C). En las bombas peristálticas ordinarias los rodillos son lo suficientemente largos como para poder bombear varias corrientes de muestras y reactivos a la vez. Se recurre también a las bombas de jeringa y la electroósmosis para inducir el flujo en los sistemas de inyección en flujo.

Como se observa en la figura 33.2a, los sistemas de inyección en flujo a veces llevan el tubo enrollado en forma de serpentín (el diámetro normal del serpentín es del orden de 1 cm o menos) para aumentar la disper-

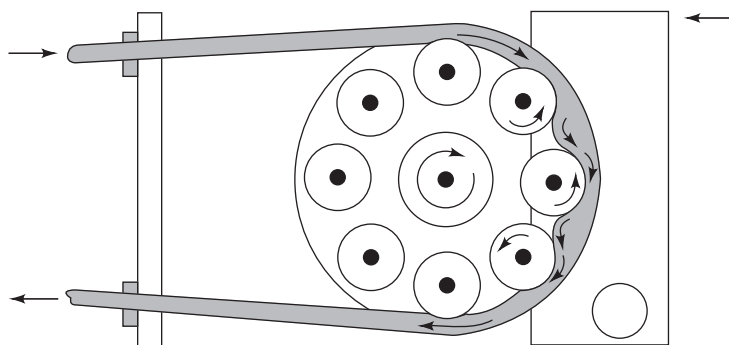


FIGURA 33.3 Diagrama de un canal de una bomba peristáltica. Se pueden ubicar tubos adicionales en la parte inferior del canal que se muestra, debajo del plano del diagrama, para tener varios canales de reactivo o muestra. (Tomado de B. Karlberg y G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis: A Practical Guide*, p. 34, Nueva York: Elsevier, 1989. Con autorización de Elsevier Science Publishers.)

sión axial e incrementar el mezclado radial de la muestra y el reactivo, lo que origina picos más simétricos.

Inyectores de muestra y detectores

Los inyectores y detectores que se emplean en análisis por inyección en flujo son similares en cuanto a tipo y funcionamiento a los utilizados en la cromatografía de líquidos de alta resolución. Los tamaños de la muestra en los procedimientos de inyección en flujo abarcan desde 1 μL hasta 200 μL , pero los más usuales en la mayoría de las aplicaciones son los de 10 a 30 μL . En un análisis satisfactorio, es vital que la solución de la muestra se inyecte con rapidez, de golpe o como un bolo de líquido; además, las inyecciones no deben alterar el flujo de la corriente portadora. Los sistemas inyectores más útiles y convenientes se basan en ciclos de muestreo similares a los que se usan en cromatografía (por ejemplo, véanse las figuras 27.5 y 28.6). En la figura 33.2a se ilustra el método de operación del ciclo de muestreo. Cuando la válvula está en la posición mostrada, los reactivos fluyen por una derivación. Cuando una muestra ha sido inyectada en el ciclo y la válvula gira 90°, la muestra entra en la corriente y forma una zona perfectamente definida. En la práctica, cuando la válvula está en esta posición, cesa el flujo a través de la derivación porque el diámetro del ciclo de muestra es mucho mayor que el del tubo fino de la derivación.

En los procedimientos de inyección en flujo, los detectores más comunes son espectrofotómetros, fotómetros y fluorímetros. También se utilizan detectores electroquímicos, de quimioluminiscencia, de emisión atómica y de absorción atómica.

Separaciones en análisis por inyección en flujo

Las separaciones por diálisis, extracción líquido-líquido y difusión gaseosa se pueden efectuar rápida y automáticamente con los sistemas de inyección en flujo.⁴

⁴Para una revisión de las aplicaciones del análisis de inyección en flujo en la preparación de muestra y separaciones, véase G. D. Clark, D. A. Whitman, G. D. Christian y J. Ruzicka, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1990**, 21 (5), p. 357.

Diálisis y difusión de gas. La diálisis se usa con frecuencia en los métodos de flujo continuo para separar iones inorgánicos, como cloruro o sodio, y pequeñas moléculas orgánicas, como glucosa, de especies de peso molecular elevado como las proteínas. Los iones y moléculas pequeñas se difunden relativamente rápido a través de las finas membranas hidrófilas de acetato o nitrato de celulosa, mientras que las moléculas grandes no pueden pasar. Por lo general, la diálisis precede a la determinación de iones o moléculas pequeñas en sangre total o suero.

La figura 33.4 es un esquema de un módulo de diálisis en el que los analitos, iones o moléculas pequeñas se difunden desde la solución de la muestra, a través de la membrana, hasta una corriente que contiene una especie que reacciona con el analito para formar un compuesto coloreado que se determina por medios fotométricos. Las moléculas grandes que interfieren en la determinación permanecen en la corriente original hasta que van al desecho. La membrana se coloca entre dos bloques de teflón en los que se han abierto los canales complementarios para que puedan circular las dos corrientes en lados opuestos de la membrana. Por

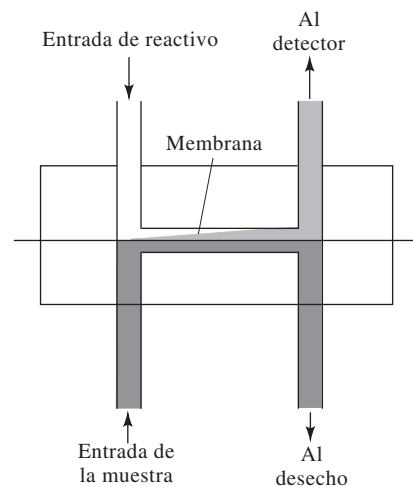


FIGURA 33.4 Módulo de flujo para diálisis. La membrana está apoyada en dos bloques de teflón con ranuras.

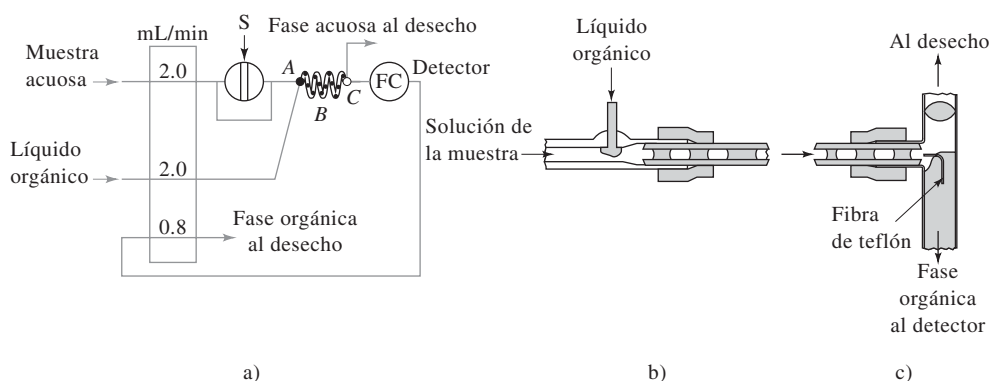


FIGURA 33.5 a) Diagrama de flujo de un sistema de inyección en flujo con un módulo de extracción (ABC). b) Detalle del punto A, sistema inyector de la fase orgánica. c) Detalle del punto C, separador. (Adaptado de J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2a. ed., Nueva York: Wiley, 1988. Con autorización de Wiley & Sons.)

lo general, la transferencia de especies pequeñas a través de la membrana es incompleta, a menudo menor de 50%. Por tanto, para un buen análisis cuantitativo hay que controlar rigurosamente la temperatura y las tasas de flujo tanto de las muestras como de los patrones. El control es fácil en los sistemas de inyección en flujo automatizados.

Una técnica muy selectiva que se utiliza a menudo en el análisis por inyección en flujo es la difusión de gases desde una corriente donadora que contiene un analito gaseoso hasta una corriente aceptora que incluye un reactivo que permite determinarlo. Las separaciones tienen lugar en un módulo similar al de la figura 33.4. Sin embargo, para este propósito la membrana suele ser de un material hidrófobo microporoso, como teflón o polipropileno isotáctico. Un ejemplo de este tipo de separación es la determinación del carbonato total en una solución acuosa. En este caso, la muestra se inyecta en una corriente portadora de ácido sulfúrico diluido que se dirige hacia el módulo de difusión de gases y, una vez ahí, el dióxido de carbono que se libera se difunde hasta la corriente aceptora que contiene un indicador ácido-base. A continuación, esta corriente atraviesa un detector fotométrico que origina una señal proporcional al contenido de carbonato en la muestra.

Extracción de solvente. Otra técnica habitual de separación, adaptada con facilidad a los métodos de flujo continuo, es la extracción de solvente. La figura 33.5a ilustra un diagrama de flujo de un sistema para la determinación colorimétrica de un catión inorgánico mediante extracción en solución acuosa de la muestra con cloroformo que contiene un agente complejante, como 8-hidroxiquinolina. La solución orgánica se inyecta en el punto A en la corriente portadora que contiene

a la muestra. En la figura 33.5b se observa que en este punto la corriente se vuelve segmentada y que está constituida por burbujas sucesivas de la solución acuosa y del solvente orgánico. La extracción del complejo metálico se produce en el serpentín. La separación de los dos líquidos inmiscibles tiene lugar en un sencillo separador en forma de T que se ilustra en la figura 33.5c. El separador contiene una tira o hebra de teflón que guía la fase orgánica más pesada fuera del brazo inferior de la T, desde donde va hasta el detector marcado como FC de la figura 33.5a. Este tipo de separación se puede emplear en líquidos más ligeros si se invierte el separador.

Es importante insistir que ningún tipo de separación llega a ser completa en los métodos de análisis de inyección en flujo. Pero esto carece de importancia porque los patrones y las muestras se tratan exactamente igual. La sincronización reproducible en esta técnica asegura que aun cuando las separaciones sean incompletas, no hay pérdida en la precisión ni en la exactitud, como sucede en el caso de las operaciones manuales.

33B.2 Fundamentos del análisis de inyección en flujo

En un equipo de inyección en flujo, inmediatamente después de inyectar la muestra mediante una válvula, la zona de la muestra tiene el perfil de concentración rectangular que se muestra en la figura 33.6a. Al ir circulando por el interior del tubo, tiene lugar un ensanchamiento de la zona o *dispersión*. La forma de la zona resultante depende de dos fenómenos; uno es la convección debida al flujo laminar, en el cual el centro del



Animación: aprenda más acerca del **análisis de inyección en flujo**.

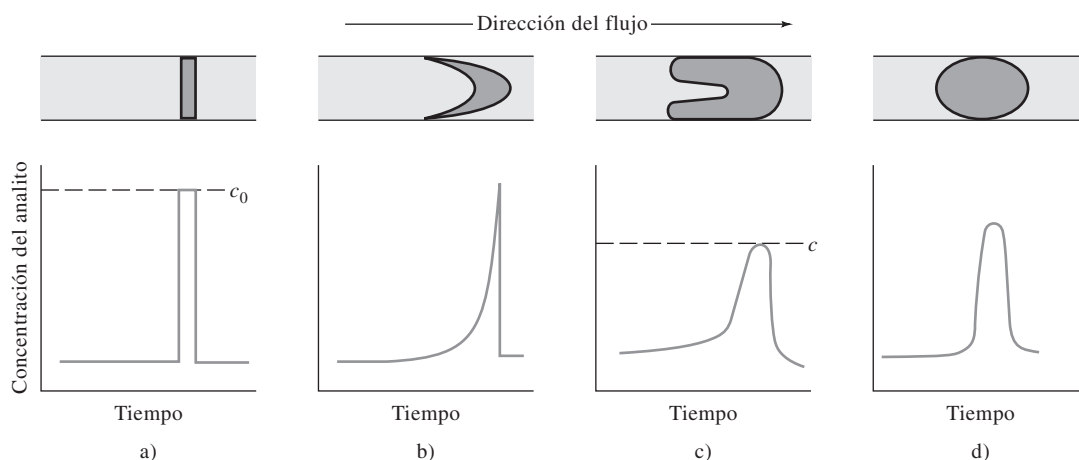


FIGURA 33.6 Efecto de la convección y de la difusión en los perfiles de concentración del analito en el detector: a) sin dispersión; b) dispersión por convección; c) dispersión por convección y por difusión radial; d) dispersión por difusión. (Reimpreso con autorización de D. Betteridge, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, p. 836A. Copyright 1978 American Chemical Society.)

fluido avanza con mayor rapidez que el líquido adyacente a las paredes, lo que origina un frente parabólico y un perfil de zona sesgado que se muestra en la figura 33.6b. También se produce ensanchamiento de zona por la difusión. En principio, ocurren dos tipos de difusión: radial, que es perpendicular a la dirección del flujo, y longitudinal, que es paralela al flujo. Se ha demostrado que la difusión longitudinal es insignificante en un tubo estrecho y que la difusión radial es mucho más importante. En efecto, para tasas de flujo pequeñas, la difusión radial es la principal causa de dispersión. Cuando se dan estas circunstancias, el perfil se aproxima a la distribución simétrica de la figura 33.6d. De hecho, los análisis por inyección en flujo normalmente se desarrollan en condiciones en que la dispersión ocurre tanto por convección como por difusión radial y se obtienen picos similares a los de la figura 33.6c. En este caso, la dispersión radial desde las paredes hacia el centro tiene una función importante, que es dejar las paredes sin analito, con lo cual casi se elimina la contaminación entre muestras.

Dispersión

La dispersión D se define mediante la ecuación

$$D = c_0/c$$

en la que c_0 es la concentración de analito en la muestra inyectada y c es la concentración pico obtenida en el detector (véanse las figuras 33.6a y c). La dispersión se mide al inyectar una solución de colorante de concentración conocida c_0 y a continuación se registra la absorbancia en la celda de flujo. Después de la calibración, se calcula c a partir de la ley de Beer.

La dispersión está influida por tres variables interrelacionadas y controlables: el volumen de muestra, la longitud del tubo y la tasa de flujo. El efecto del volumen de la muestra en la dispersión se muestra en la figura 33.7a, donde la longitud del tubo y el caudal son constantes. Observe que para volúmenes de muestra grandes, la dispersión se vuelve unitaria. En estas circunstancias no se mezclan suficientemente la muestra y el portador, por lo que no hay dilución de la muestra. Sin embargo, la mayoría de los análisis por inyección en flujo involucran la interacción de la muestra con el portador o con el reactivo inyectado. En estos casos es necesario que la dispersión sea mayor que 1. Por ejemplo, sería necesaria una dispersión de 2 si la muestra y el portador se mezclan en una proporción 1:1.

La enorme influencia del volumen de muestra en la altura de pico que se observa en la figura 33.7a, subraya la necesidad de que los volúmenes de inyección sean perfectamente reproducibles cuando se trabaja con valores D de 2 o mayores. Para obtener una buena precisión, hay que controlar también las demás condiciones con sumo cuidado.

La figura 33.7b pone de manifiesto el efecto de la longitud de tubo en la dispersión cuando se mantienen constantes el tamaño de la muestra y la tasa de flujo. En este caso, el número sobre cada pico indica la longitud que recorrió la muestra en centímetros.

33B.3 Aplicaciones del análisis de inyección en flujo

Las aplicaciones de la inyección en flujo se clasifican en tres categorías: *dispersión baja*, *dispersión media* y *dispersión grande*.

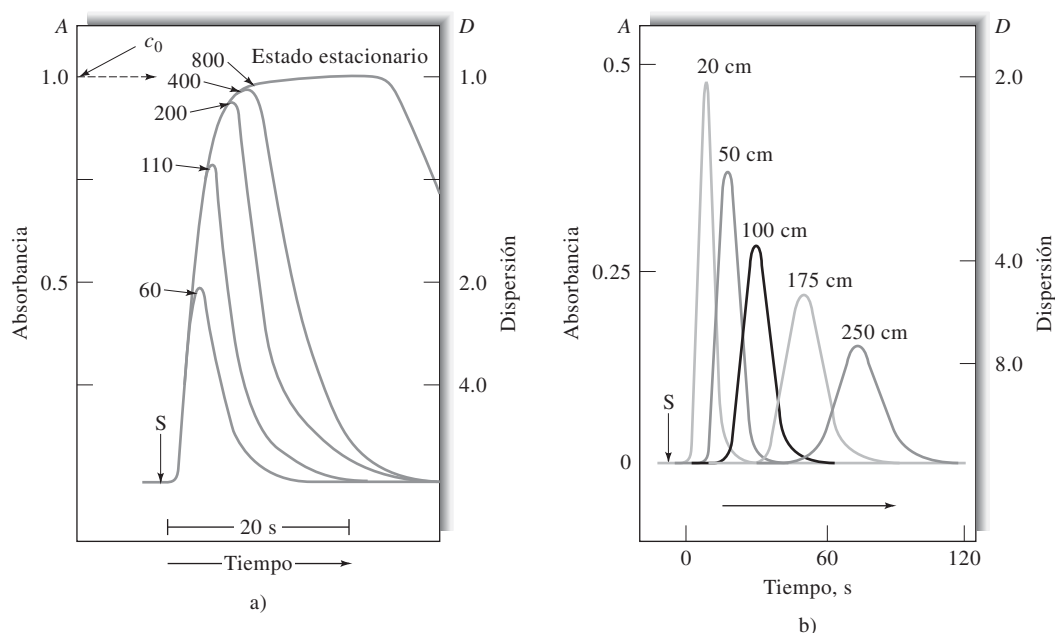


FIGURA 33.7 Efecto del volumen de muestra y de la longitud de tubo en la dispersión.
a) Longitud de tubo: 20 cm; tasa de flujo: 1.5 mL/min; los volúmenes indicados están en µL.
b) Volumen de muestra: 60 µL; tasa de flujo: 1.5 mL/min. (Tomado de J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, p. 21. Con autorización.)

Aplicaciones de la dispersión baja y media

Las técnicas de inyección en flujo de dispersión baja (valores de 1 a 3) se usan para introducir la muestra a alta velocidad en sistemas de detección como los de emisión atómica de plasma de acoplamiento inductivo, los de absorción atómica de flama y los electrodos para iones específicos. La justificación para usar métodos de inyección en flujo para electrodos como pH y pCa es el tamaño de muestra tan pequeño que se requiere (~ 25 µL) y el tiempo tan breve (~ 10 s). Es decir, las mediciones se efectúan mucho antes de que se establezca el equilibrio de estado estacionario, lo cual requiere un minuto o más en el caso de muchos electrodos para iones específicos. Con las mediciones por medio de inyección en flujo, las señales momentáneas de la muestra y de los patrones proporcionan exactitud y precisión excelentes. Por ejemplo, se ha dado a conocer que las mediciones de pH en el suero sanguíneo se consiguen a razón de 240/h con una precisión de ± 0.002 pH.

En general, las condiciones de dispersión limitada se aprecian al reducir tanto como sea posible la distancia entre el inyector y el detector, al reducir la tasa de flujo y al incrementar el volumen de la muestra. Por consiguiente, en el caso de las mediciones de pH antes mencionadas, la longitud del tubo de 0.5 mm fue de sólo 10 cm y el tamaño de la muestra fue de 30 µL.

La dispersión media o intermedia corresponde a valores D de 3 a 10. En la figura 33.8a se ilustra un sistema de dispersión intermedia para la determinación colorimétrica de calcio en suero, leche y agua potable. La solución amortiguadora de bórax y el reactivo de color se mezclan en un serpentín para mezcla de 50 cm A , antes de inyectar la muestra. La figura 33.8b es el registro para tres muestras por triplicado y cuatro patrones por duplicado.

En la figura 33.9 se representa un sistema más complicado de inyección en flujo para la determinación espectrofotométrica automática de cafeína en preparaciones del fármaco ácido acetilsalicílico, después de extraer la cafeína con cloroformo. El solvente cloroformo, enfriado en un baño de hielo para reducir al mínimo la evaporación, se mezcla con la corriente alcalina de la muestra en un tubo en forma de T (véase inserto inferior). Después de pasar por un serpentín de extracción, L , de 2 m, la mezcla entra en un tubo separador en forma de T y es bombeada de tal forma que 35% de la fase orgánica que contiene la cafeína pasa a través de la celda de flujo, y el restante 65% que acompaña la fase acuosa que contiene el resto de la muestra se dirige al desecho. Para evitar que la celda de flujo se contamine con agua, se forman hebras retorcidas de teflón, que no se mojan con el agua, y se introducen en

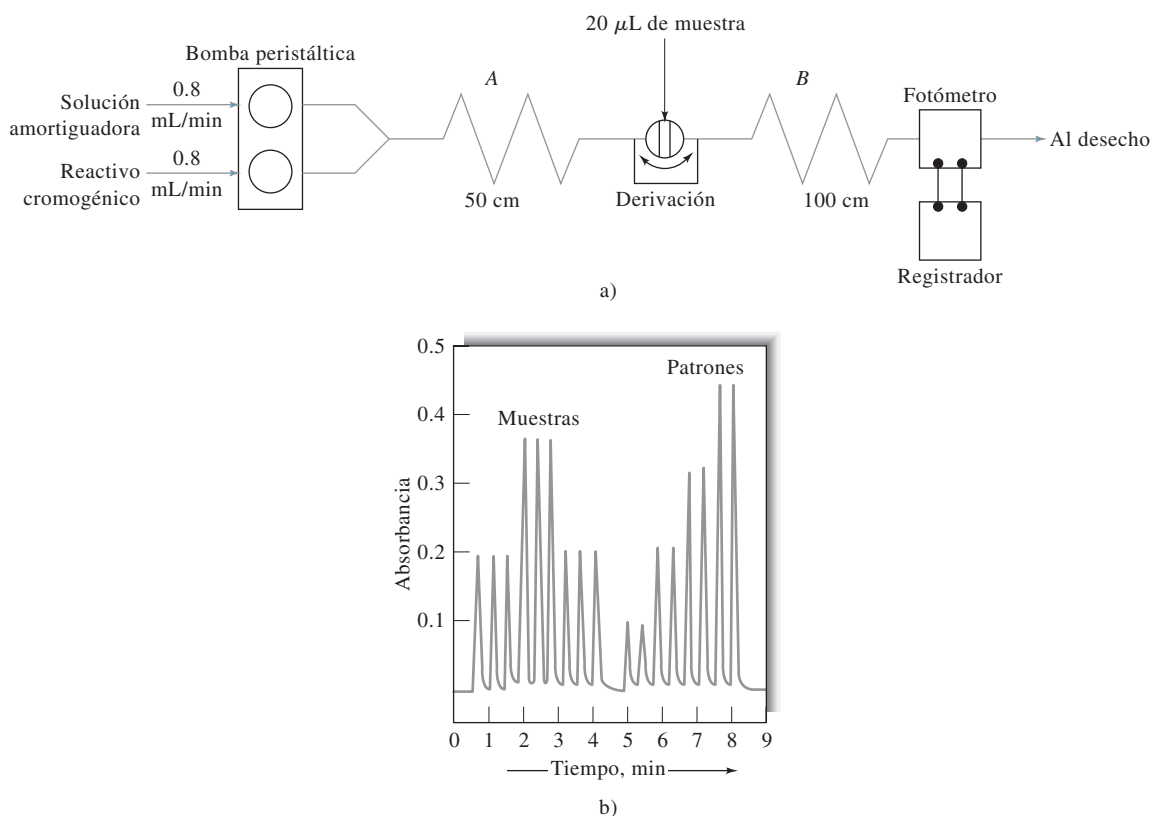


FIGURA 33.8 a) Equipo de inyección en flujo para determinar calcio en agua mediante la formación, a pH 10, de un complejo coloreado con *o*-cresoltaleína complexona. Todos los tubos tienen un diámetro interno de 0.5 mm. A y B son reactores en serpentín con las longitudes indicadas. b) Registro de salida. Los tres conjuntos de picos de la izquierda corresponden a inyecciones de tres muestras por triplicado. Los cuatro conjuntos de picos a la derecha son inyecciones por duplicado de patrones de 5, 10, 15 y 20 ppm de calcio. (Tomado de E. H. Hansen, J. Ruzicka y A. K. Ghose, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 100, p. 151. Con autorización.)

la entrada del tubo en T, de tal manera que se forma un codo hacia abajo. Entonces, el flujo de cloroformo sigue por este codo hasta la celda del fotómetro, donde se determina la concentración de la cafeína de acuerdo con su absorción a 275 nm.

Métodos de flujo detenido

Como ya se mencionó antes, la dispersión en tubos de pequeño diámetro disminuye cuando se reduce la tasa de flujo. De hecho, se ha visto que la dispersión cesa casi totalmente cuando se detiene el flujo. Este hecho se aprovecha para aumentar la sensibilidad de las mediciones al dejar pasar un tiempo para que las reacciones se completen sin que se diluya la zona de muestra por dispersión. Para este tipo de aplicaciones es necesario un dispositivo de control del tiempo que sea capaz de desactivar la bomba a tiempos muy exactos e intervalos regulares.

Una segunda aplicación de la técnica de flujo detenido es en mediciones cinéticas. En este caso, el flujo se detiene cuando la mezcla de reacción está en la celda de flujo, donde se pueden supervisar las variaciones de concentración de los reactivos y los productos en función del tiempo. Esta técnica se ha utilizado para la determinación enzimática de glucosa, urea, galactosa y muchas otras sustancias de interés en la química clínica.

Titulaciones por inyección en flujo

Las titulaciones también se pueden efectuar en forma continua en un sistema de inyección en flujo. En este caso la muestra inyectada se mezcla con el portador en una cámara para mezclar que favorece una gran dispersión. A continuación la mezcla se transporta hasta un punto de confluencia adecuado donde se mezcla con el reactivo que contiene un indicador. Si se ajusta el detector para que responda al color del indicador en

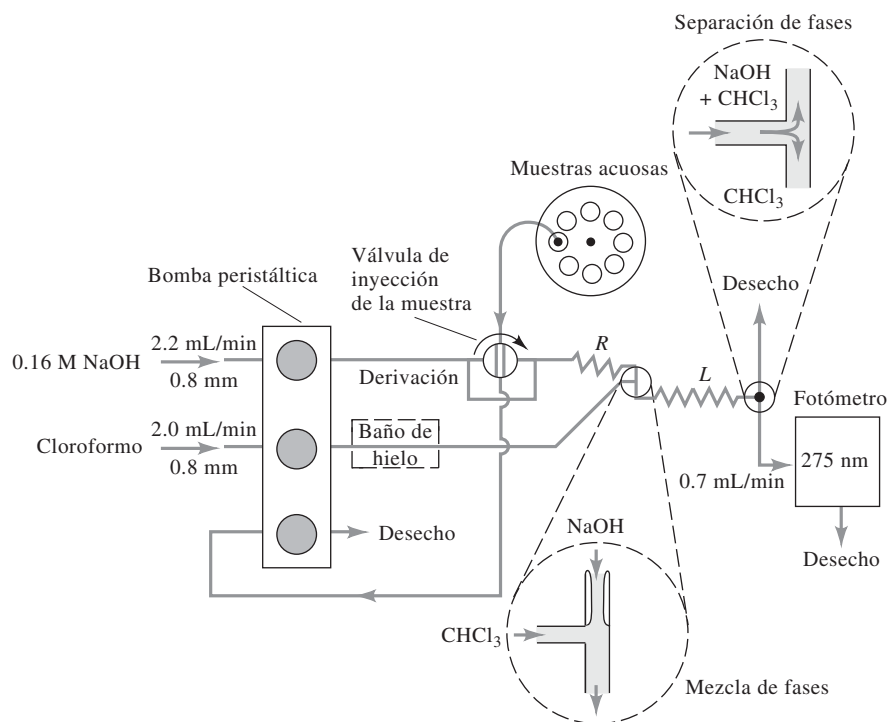


FIGURA 33.9 Equipo de inyección en flujo para la determinación de cafeína en preparaciones de ácido acetilsalicílico. Cuando la válvula gira 90° el flujo es casi cero en la derivación debido a su pequeño diámetro, R y L son serpentines de teflón de 0.8 mm de diámetro interno; L tiene una longitud de 2 m y la distancia desde el punto de inyección a través de R hasta el punto de mezcla es de 0.15 m. (Adaptación de B. Karlberg y S. Thelander, *Anal. Chim. Acta*, 1978, 98, p. 2. Con autorización.)

presencia de un exceso de analito, se obtienen picos como los de la figura 33.10. En este ejemplo se titula un ácido con una solución patrón de hidróxido de sodio que contiene el indicador azul de bromotimol. Al inyectar las muestras la disolución cambia de azul a amarillo y permanece con este color hasta que se consume

el ácido, momento en el que la solución se vuelve azul de nuevo. Como se indica en la figura, la concentración de analito se determina a partir de la anchura de los picos a la mitad de su altura. Este tipo de titulaciones se puede ejecutar a una velocidad de 60 muestras/hora en un sistema ordinario de inyección en flujo.

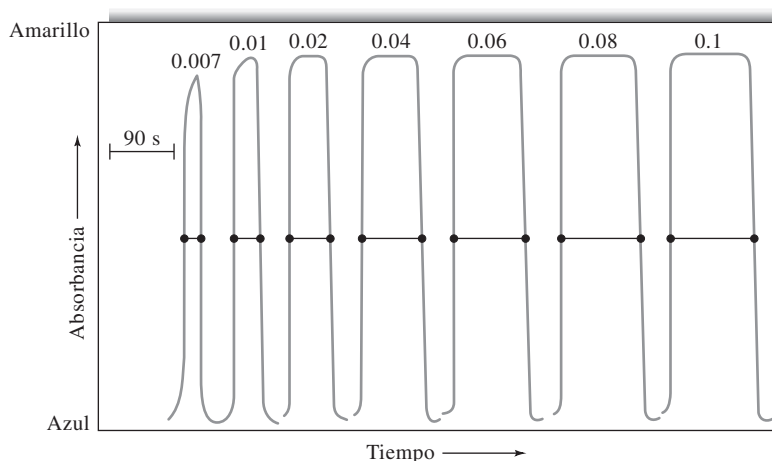


FIGURA 33.10 Titulación por inyección en flujo de HCl con NaOH 0.001 M. Las molaridades de las soluciones de HCl se señalan en la parte superior de la figura. El indicador es azul de bromotimol. El intervalo de tiempo entre los puntos constituye una medida de la concentración del ácido. (Tomado de J. Ruzicka, E. H. Hansen y M. Mosback, *Anal. Chim. Acta*, 1980, 114, p. 29. Con autorización.)

Análisis por inyección por flujo en zonas de fusión

El principio de las zonas de fusión se presentó por primera vez para economizar los reactivos caros. Cuando una muestra se inyecta en la corriente portadora de reactivo, este último suele ser bombeado en forma continua incluso cuando la zona de la muestra no está presente. En el análisis de inyección en flujo en zonas de fusión, la muestra y el reactivo se inyectan en dos corrientes portadoras, las cuales se dejan fusionar corriente abajo. Puesto que las corrientes portadoras contienen sólo agua o una solución amortiguadora inerte, se conserva el reactivo caro y sólo se inyecta una cantidad limitada. Si se seleccionan longitudes distintas de la zona del reactivo y se deja que se sobreponga en diferentes formas con la zona de la muestra, se pueden reunir diferentes concentraciones de la muestra y del reactivo para producir datos con el fin de construir curvas de calibración o para estudiar los efectos de la concentración.

33B.4 Variantes del análisis por inyección en flujo

Desde la introducción del análisis por inyección en flujo a mediados de los años setenta, surgieron algunas variaciones de este método que requiere bombeo unidireccional continuo.

Análisis por inyección en flujo inverso

Una variación es el llamado *análisis de inyección en flujo inverso*, que fue introducido por Betteridge y colaboradores.⁵ Al invertir la dirección del flujo es factible modificar la longitud efectiva del serpentín sin un cambio físico en el aparato de análisis de inyección en flujo. Se pueden utilizar varias bombas, o bien, la dirección del flujo se invierte mediante válvulas, como se puede ver en la figura 33.11a. El reciclaje del flujo también se consigue conmutando dos válvulas, como se puede ver en la figura 33.11b. Al invertir el flujo o reciclar el bolo de la muestra se facilita el uso de una variedad de programas de cómputo para la mejora automatizada de los métodos del análisis de inyección en flujo. Además, la información cinética se puede obtener sin detener el flujo.

Análisis con inyección sucesiva

En 1990, Ruzicka y Marshall⁶ presentaron una variación de la inyección en flujo llamada *análisis con inyección sucesiva* (AIS), con el cual se evita el desperdicio de reactivos del análisis de inyección en flujo. En lugar del flujo continuo y unidireccional característico del análisis de inyección en flujo, en el análisis con in-

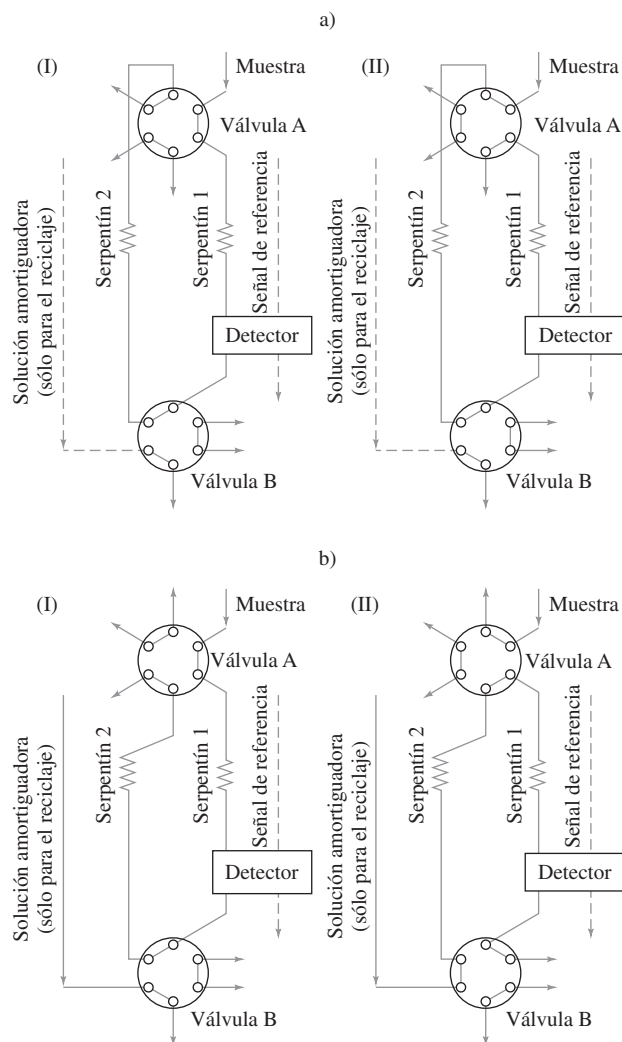


FIGURA 33.11 Las configuraciones para invertir el flujo a) y reciclar el flujo b). En ambos casos se utilizan válvulas de seis puertos. Las posiciones iniciales de la válvula se muestran en el diagrama I; en el diagrama II se indica la configuración de las válvulas durante la inversión o el reciclaje. En la configuración de reciclaje, b), ambas válvulas giran, pero en la configuración para la inversión, la válvula B es estacionaria. Todas las flechas que salen de las válvulas van hacia el desecho. (Tomado de E. B. Townsend y S. R. Crouch, *Trends Anal. Chem.*, **1992**, 11, p. 90. Con autorización.)

yección sucesiva hay un flujo discontinuo y bidireccional. En la figura 33.12 se ilustra una configuración representativa. El sistema del análisis con inyección sucesiva proporciona una entrega precisa y de poco volumen de reactivos, y una inversión del flujo reproducible debido a la bomba de jeringa. Los volúmenes

⁵D. Betteridge, P. B. Oates, y A. P. Wade, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, p. 1236.

⁶J. Ruzicka y G. Marshall, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 237, p. 329.



Clase interactiva: aprenda más acerca del **análisis con inyección sucesiva**.

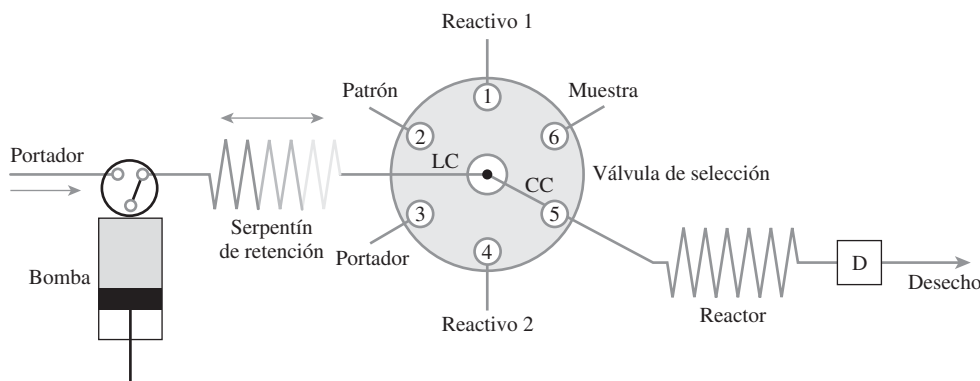


FIGURA 33.12 Aparato para la inyección sucesiva basado en una bomba de jeringa bidireccional y una válvula selectora de seis puertos. Esta última está equipada con un canal de comunicación central (CC), el cual atiende a cualquiera de los puertos, y una línea de comunicación (LC) conectada a un serpentín de retención y a la bomba. Cuando el canal de comunicación se dirige a varios puertos, las zonas de la muestra y del reactivo son arrastradas en forma sucesiva al serpentín de retención y acumuladas una después de la otra. Al cambiar el canal de comunicación a la posición 5 se tiene que los segmentos fluyen por el reactor hacia el detector (D). Durante este flujo, los segmentos sufren dispersión, mezcla parcial y reacción química.

introducidos (por lo regular de algunos microlitros o menores) están controlados por el tiempo que el puerto está conectado al canal de comunicación y por la tasa de flujo de la bomba. La dispersión inicia cuando la muestra y los reactivos son arrastrados al serpentín de retención. La inversión del flujo favorece la mezcla a medida que las zonas viajan hacia el serpentín de reacción y el detector.

La inyección sucesiva tiene varias ventajas cuando se le compara con la inyección en flujo tradicional. No sólo es menor el uso de reactivo, sino que las válvulas que se utilizan son más sencillas. Asimismo, es más fácil cambiar de un procedimiento analítico a otro mediante la modificación del programa de flujo. Con el análisis de inyección en flujo (AIF), el juego de válvulas completo se tiene que cambiar cuando se inicia un nuevo procedimiento. Con la inyección sucesiva, la válvula de inyección del AIF se reemplaza con la válvula de selección, lo cual permite introducir varios reactivos o patrones de calibración. Por tanto, la automatización de los procedimientos completos, sin olvidar la calibración, se pueden adaptar con facilidad en el análisis con inyecciones sucesivas. Al igual que con AIF, los instrumentos completos para el análisis con inyección sucesiva son, entre otros: válvula selectora, bomba, reactor y detector, y ya están en el comercio.

La inyección sucesiva ha demostrado ser muy útil en una diversidad de esquemas de separación y de preconcentración. Se aplica en procedimientos analíticos que involucran métodos tales como separaciones de membrana, ajustes de pH, extracción de fase sólida, precipitación y titulación. Además, con este método se emplean sistemas de detección como la colorimetría,

los electrodos selectivos de iones, amperometría, fluorescencia, absorción IR, quimioluminiscencia y conductimetría.

Técnica de laboratorio en una válvula

La variante más reciente del AIF es la llamada técnica del *laboratorio en una válvula* (LEV), que introdujo Ruzicka.⁷ En la idea del LEV se incorpora un microconducto integrado en la parte superior de la válvula selectora que se usa en el análisis con inyección sucesiva. El microconducto está diseñado para manejar todas las operaciones unitarias que se requieren en un procedimiento analítico. En un sistema LEV se pueden acomodar los puntos donde se mezcla el analito y el reactivo, los reactores de columna, los reactores de cuentas, las columnas de separación y las membranas. En algunos casos, los sistemas de microflujo se usan de maneras similares a los que se describen en la siguiente sección.

33C MICROFLUJOS

El perfeccionamiento de los sistemas de microflujo, en los cuales las operaciones están miniaturizadas a escalas similares a las de los circuitos integrados, ha facilitado la fabricación de un *laboratorio en un microcircuito* o de un *microsistema de análisis total* (μ SAT).⁸ La miniaturización de las operaciones de laboratorio a la escala de un microcircuito rebaja los costos del análisis al redu-

⁷J. Ruzicka, *Analyst*, **2000**, 125, p. 1053.

⁸Revisiones de estos sistemas se encuentran en P. S. Dittrich, K. Tachikawa, y A. Manz, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, p. 3887; T. Vilkner, D. Janasek y A. Manz, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3373; D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux y A. Manz, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2623; P. A. Auroux, D. Iossifidis, D. R. Reyes y A. Manz, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 2637.

cir el consumo de reactivo y la producción de desechos mediante la automatización de procedimientos paralelos y el incremento de los análisis que se efectúan por día. Ha habido varios enfoques para organizar el concepto del laboratorio en un microcircuito. En el más exitoso se usa la misma técnica de fotolitografía que se aplica en la preparación de circuitos integrados electrónicos. Esta tecnología se utiliza para producir válvulas, sistemas de propulsión y cámaras de reacción que se necesitan para efectuar los análisis químicos. El perfeccionamiento de dispositivos de microflujo es un campo de investigación activo que requiere de científicos e ingenieros de los laboratorios académicos e industriales.⁹

Al principio, los canales de microflujo y los mezcladores se acoplaron con sistemas y válvulas tradicionales de propulsión de fluidos a macroescala. La reducción de las dimensiones de los canales para el flujo de fluidos representó una gran promesa, pero no se consiguió la ventaja del bajo consumo de reactivos ni la automatización completa. No obstante, en los adelantos más recientes se usan sistemas monolíticos en los cuales los sistemas de propulsión, los mezcladores, los canales de flujo y las válvulas están juntos en una sola estructura.¹⁰

Se han investigado varios sistemas de propulsión de fluidos para los sistemas de microflujo, como la electroósmosis (véase capítulo 30), bombas mecánicas microfabricadas e hidrogeles que simulan los músculos del cuerpo humano. Se han puesto en marcha técnicas de inyección en flujo, así como métodos de separación como la cromatografía líquida (capítulo 28), la electroforesis capilar y la cromatografía electrocinética de micelas (capítulo 30). En la figura 33.13 se puede ver la configuración de una microestructura que se usa en el análisis de inyección en flujo. La unidad monolítica está hecha de dos capas de polidimetilsiloxano enlazadas de manera permanente. Los canales de fluido miden 100 μm de ancho por 10 μm de profundidad. El dispositivo completo mide tan sólo 2.0 cm por 2.0 cm. Una cubierta de vidrio permite ver los canales por medio de la fluorescencia causada por un rayo láser de ion argón.

La mezcla en la mayoría de los sistemas de microflujo llega a ser problemática. La mezcla lenta y la dispersión significativa a causa del flujo laminar ha obstaculizado su uso en muchas aplicaciones, incluidas las que involucran mediciones cinéticas. En un interesante enfoque para resolver estos problemas, los bolos acuosos de solución son segmentados mediante un fluido orgánico inmiscible (perfluorodecalina) para eliminar la dispersión.¹¹ Entonces, la mezcla se obtiene por me-

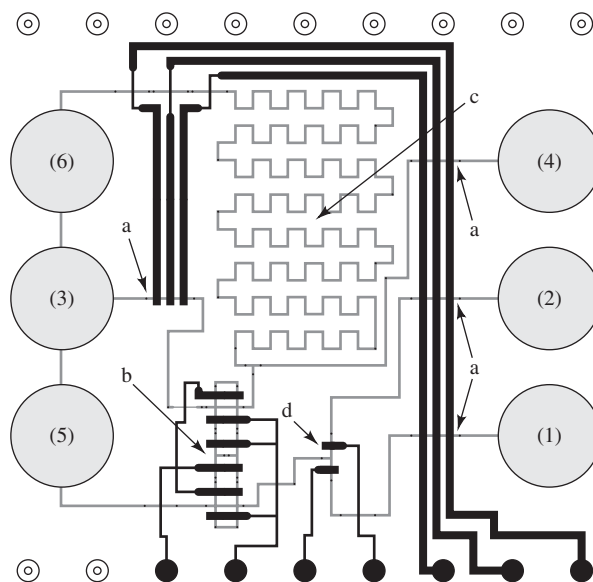


FIGURA 33.13 Configuración de una estructura microfabricada para análisis de inyección en flujo. Los canales para los microflujos se muestran en gris y los canales de control (bombas y válvulas) están en negro. a) Bomba peristáltica, b) válvula de inyección, c) cámara de mezcla y reacción, d) selector de la muestra. Los círculos en gris indican depósitos de fluido (1 y 2), muestras (3), portador (4), reactivo (5) y desecho (6). La estructura completa mide 2.0 cm por 2.0 cm. (Tomado de A. M. Leach, A. R. Wheeler y R. N. Zare, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 967.)

dio de un proceso que se conoce como *advección caótica*. Se pueden lograr tiempos de mezcla en milisegundos con un sistema que se basa en gotitas. En la figura 33.14 se compara el sistema de flujo laminar común y el sistema basado en gotitas para una reacción entre dos reactivos. Este tipo de sistema segmentado se puede usar en la determinación de enzimas, de sustrato y para estudios de cristalización de proteínas¹² y adsorción.¹³

En la actualidad varias compañías comercializan los analizadores de laboratorio en un microcircuito. Uno de ellos permite analizar ADN, ARN, proteínas y células. Se usa otro dispositivo comercial de microflujo para la cromatografía de líquidos en nanoflujo que proporcionan una interfase para un detector de espectrometría de masas con electroaspersión. Se prevé que los analizadores para laboratorio en microcircuito se podrán utilizar para detectar fármacos, identificar la secuencia del ADN y detectar formas de vida en la Tierra, Marte y otros planetas. Estos dispositivos se volverán más importantes a medida que avance la tecnología.

⁹Véase N. A. Polson y M. A. Hayes, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, p. 313A.

¹⁰A. M. Leach, A. R. Wheeler y R. N. Zare, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, p. 967.

¹¹H. Song y R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, p. 14613.

¹²B. Zheng, J. D. Tice y R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 4977.

¹³L. S. Roach, H. Song y R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.*, **2005**, 77, p. 785.

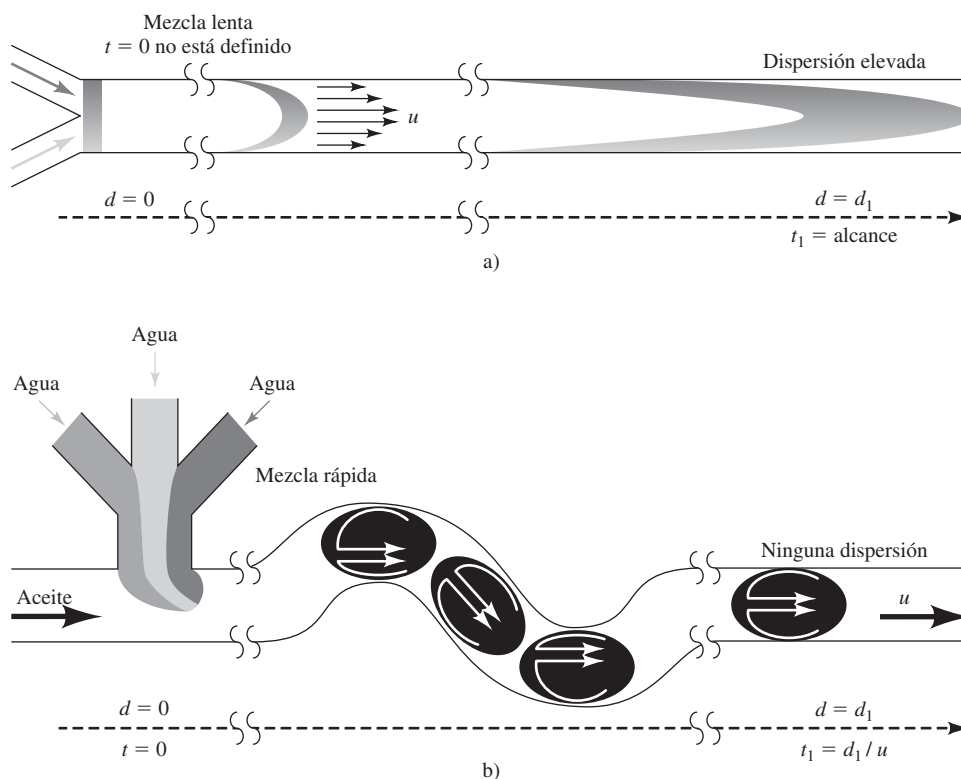


FIGURA 33.14 Comparación de una reacción entre dos componentes en un sistema de microflujo activado por presión estándar a) y en un sistema con base en gotitas b). En a) el tiempo de reacción no está muy bien definido. En b) los componentes y un fluido inmisible forman bolos de gotitas que contienen los dos reactivos. Las regiones de diferente forma por las que atraviesa el flujo causan recirculación interna dentro de los bolos y mezcla rápida. El tiempo de reacción es igual a la distancia d dividida entre la velocidad del flujo u . (Tomado de H. Song, J. D. Tice y R. F. Ismagilov, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, p. 768.)

33D SISTEMAS AUTOMÁTICOS DISCRETOS

Una gran cantidad de fabricantes ofrece una amplia variedad de sistemas automáticos discretos. Algunos de ellos se diseñan para realizar una o varias de las operaciones unitarias enumeradas en la figura 33.1 y otros son capaces de ejecutar automáticamente un análisis completo. Algunos sistemas discretos se han diseñado para realizar sólo un análisis determinado, por ejemplo, la determinación de nitrógeno en compuestos orgánicos o la determinación de glucosa en sangre. Otros pueden realizar diferentes análisis pero dentro de un tipo general. Por ejemplo, hay diversos tituladores automáticos que pueden efectuar neutralización, precipitación, formación de complejos y titulaciones de oxidación-reducción de acuerdo con las directrices de una computadora programada por el usuario. En este apartado se describen algunos sistemas discretos característicos.

33D.1 Muestreo automático y definición de la muestra de líquidos y gases

Los fabricantes de instrumentos disponen de varias docenas de dispositivos automáticos para el muestreo de líquidos y gases. La figura 33.15a ilustra el fundamento de los muestreadores de bomba reversible. Este dispositivo consta de una sonda móvil, la cual es una aguja de jeringa o un tubo fino de plástico sujeto a un brazo que, a intervalos, puede levantar la punta de la aguja o del tubo desde el contenedor de la muestra y colocarlo sobre un segundo recipiente donde se ejecuta el análisis. Este movimiento está sincronizado con el funcionamiento de una bomba peristáltica reversible. En la figura 33.15a se ve que la sonda está en el recipiente de la muestra y que la bomba impulsa el líquido de izquierda a derecha durante un corto tiempo. A continuación la sonda se eleva y se coloca en el recipiente de la derecha y la dirección del bombeo se invierte. Este bombeo continúa en esta dirección hasta que se ha suministrado la muestra y el volumen deseado de

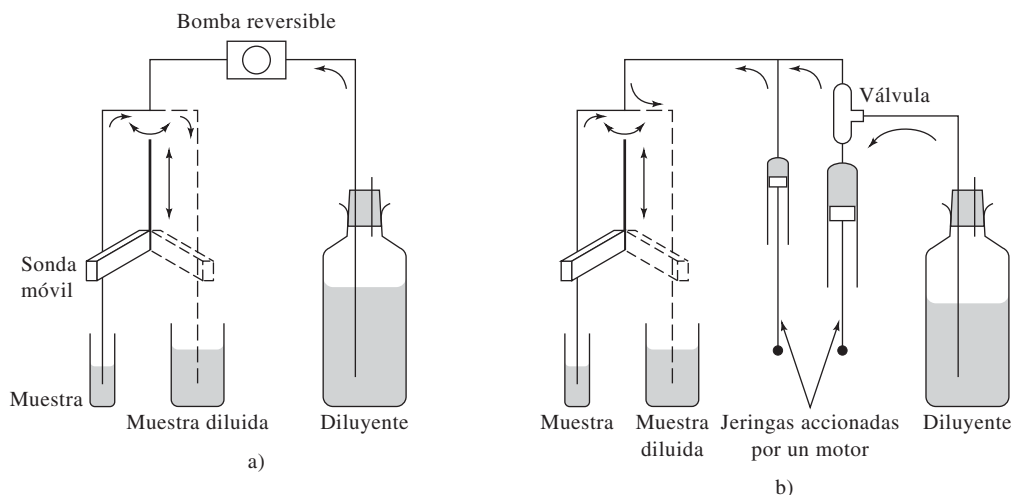


FIGURA 33.15 Muestreadores automáticos: a) tipo bomba reversible; b) tipo jeringa.

diluyente. Luego la sonda vuelve a su posición original para tomar la muestra del siguiente recipiente. El volumen de muestra es siempre lo bastante pequeño para que ninguna cantidad de la muestra llegue nunca a la bomba o al recipiente del diluyente. Los muestreadores de bomba reversible suelen usarse junto con una bandeja circular rotatoria de muestras en la que se disponen 40 o más muestras contenidas en pequeños tubos o recipientes de plástico o vidrio. La rotación de la bandeja está sincronizada con el brazo móvil del muestreador para que las muestras se tomen de manera sucesiva.

La figura 33.15b ilustra un muestreador y diluidor de jeringa característicos. De nuevo aquí se usa una sonda móvil para la muestra. Cuando la sonda está en el recipiente de la muestra, la jeringa accionada por un motor, a la izquierda de la figura, retira un volumen constante de muestra. Simultáneamente, la jeringa de la derecha extrae un volumen determinado de diluyente, que es por lo general mayor. La válvula de la figura permite que estos dos procesos funcionen de manera independiente. Cuando la sonda se coloca en el recipiente de la derecha, ambas jeringas se vacían, vertiendo los dos líquidos en el recipiente para el análisis.

En general, los inyectores tipo jeringa son accionados por motores por etapas controlados por computadora que expulsan el líquido de la jeringa mediante una serie de pulsos idénticos. Así, por ejemplo, una jeringa de 1 mL movida por un motor que necesita 1000 pasos para vaciarla se puede regular hasta 1×10^{-3}

mL, o 1 μL . Para un motor de 5000 etapas, la precisión sería de 0.2 μL .

33D.2 Robótica

En el caso de los sólidos, la preparación, definición y disolución de la muestra involucra distintas operaciones unitarias, como triturar, homogeneizar, secar, pesar, calcinar, fundir y tratar con solventes. Cada uno de estos procedimientos individuales ha sido automatizado. Sin embargo, recientemente han aparecido instrumentos que se pueden programar para efectuar en sucesión algunas de estas operaciones unitarias sin intervención de un operador. En general, estos equipos se basan en pequeños robots de laboratorio que aparecieron por primera vez en el mercado a mediados de los años ochenta.¹⁴ La figura 33.16 es un esquema de un sistema automatizado de laboratorio que dispone de uno de estos robots. En el centro del sistema hay un brazo horizontal montado sobre dos pilares dotado de un movimiento con cuatro grados de libertad. Su desplazamiento rotacional es de 360° con una circunferencia de 3.81 m; su alcance máximo es de 61 cm. El dispositivo va equipado con una mano tipo pinza, cuyo movimiento de muñeca es de 360 grados y permite manipular frascos o tubos, verter líquidos o sólidos y agitar líquidos en los tubos. Por tanto, el brazo y la mano son capaces de ejecutar muchas de las operaciones manuales propias del científico en un laboratorio. Una



Clase interactiva: aprenda más acerca del **análisis discreto**.

¹⁴Para una descripción de los robots de laboratorio véase M. D. Luque de Castro y P. Torres, *Trends Anal. Chem.*, **1995**, 14, p. 492; V. Berry, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 337A; W. J. Hurst y J. W. Mortimer, *Laboratory Robotics: A Guide to Planning, Programming and Applications*, Nueva York: VCH, 1987.

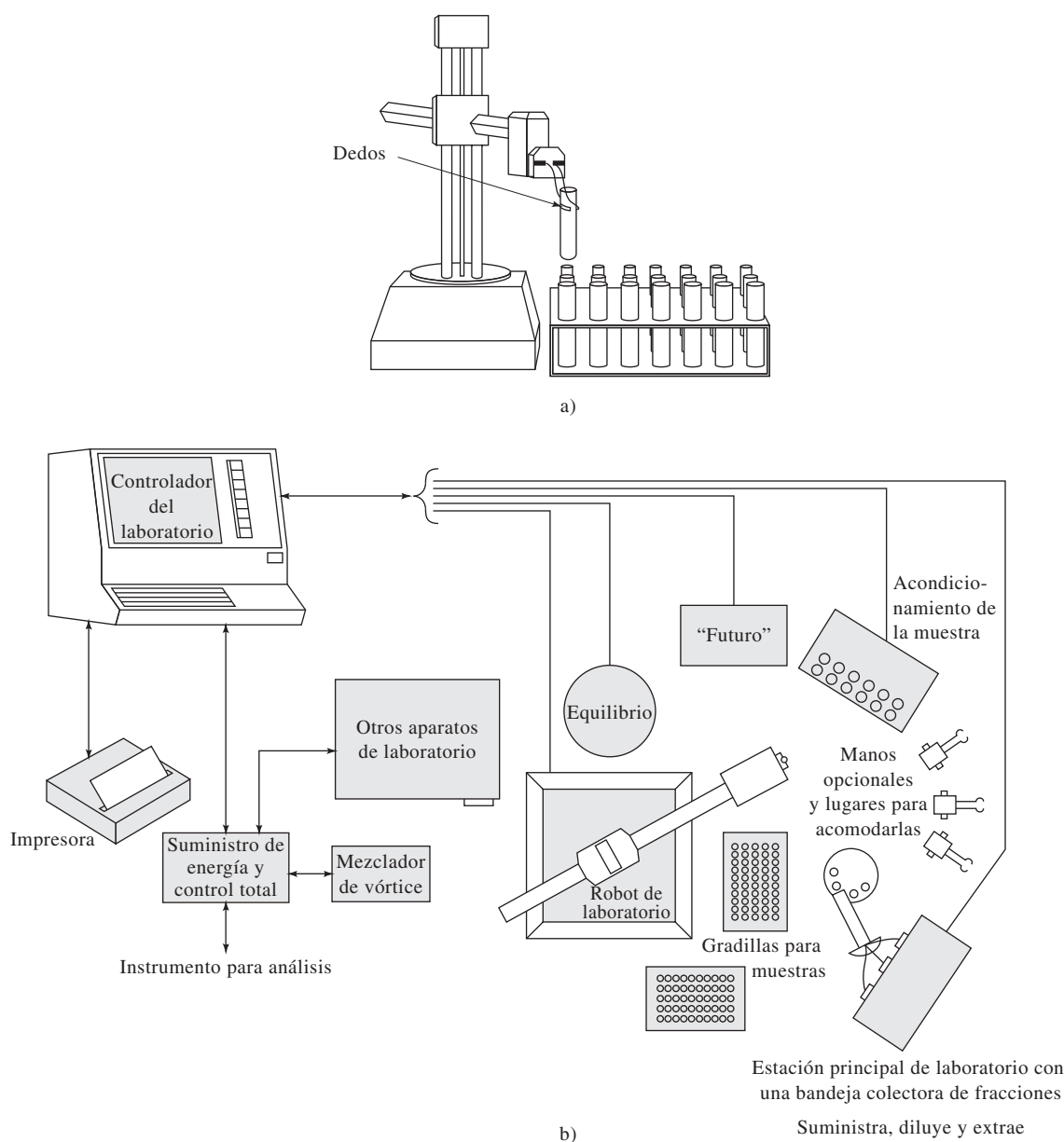


FIGURA 33.16 Sistema robótico de laboratorio: a) brazo y mano del robot; b) sistema completo. (Cortesía de Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA.)

característica importante de este robot es su capacidad de intercambiar manos. Es decir, el robot puede dejar su mano de pinza en la mesa y colocarse en su lugar una jeringa para llenar una pipeta con líquidos.

El sistema robótico se controla por medio de una computadora que puede ser programada por el usuario. Por tanto, al robot se le dan instrucciones para que lleve las muestras hasta la estación central del laboratorio donde se diluyen, filtran, dividen, trituran, centrifugan, homogeneizan, extraen y se tratan con reactivos.

También se le puede hacer que caliente o agite las muestras, despache volúmenes medidos de líquidos, inyecte muestras en una columna cromatográfica y recoja fracciones de la misma. Además, el robot puede acoplarse con una balanza electrónica automática para pesar muestras.

Además de los robots de laboratorio para uso general, las unidades robóticas están diseñadas para tareas específicas como carga y descarga de microtituladores y manipulación de planchas con pozo profundo. El sis-

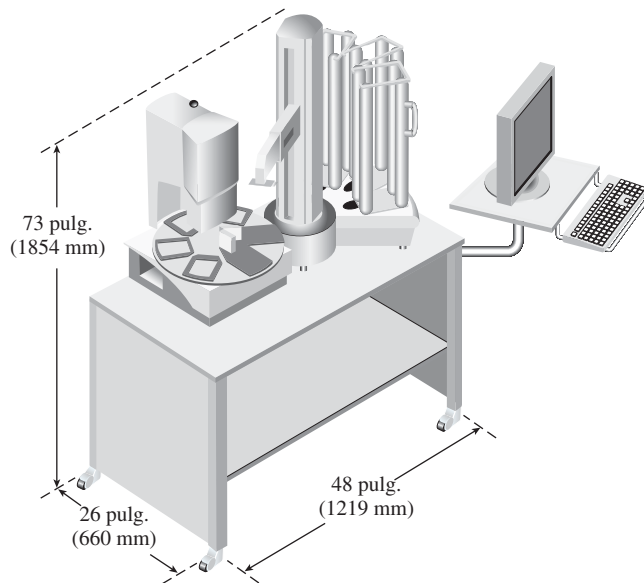


FIGURA 33.17 Esquema del sistema de reproducción Caliper Staccato. La unidad es un dispositivo de 96 canales diseñado para cargar y descargar placas del microtitulador y manipular placas con pozo profundo. Puede ajustar varios depósitos de reactivos, puntas de pipeta y unidades de desechos. (Cortesía de Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA.)

tema que se muestra en la figura 33.17 puede despachar de manera simultánea 96 canales a volúmenes de 2 a 200 μL . El despachador del robot tiene diseño cilíndrico, por lo que puede tener acceso a una amplia variedad de rejillas de almacenamiento acomodadas en círculo. La cabeza despachadora permanece estacionaria mientras el soporte gira para alcanzar las posiciones elegibles.

33D.3 Analizadores clínicos discretos

Desde hace tiempo los instrumentos clínicos han sido el punto de atención en la automatización de los laboratorios. En efecto, el Technicon AutoAnalyzer, un sistema de flujo continuo de aire segmentado,¹⁵ fue el primer instrumento verdaderamente automatizado para un laboratorio clínico. En 1968 DuPont introdujo el ACA (*Automated Clinical Analyzer*), el primer analizador discreto totalmente automatizado. El analizador se basaba en reactivos preempacados y en una operación de cinta portadora en la cual se obtenía una alícuota de la muestra, se mezclaba con los reactivos adecuados, reaccionaba y se desplazaba al fotómetro donde se medía la absorbancia. Después, los analizadores discretos se apoyaron en las películas multicapa

(Kodak Ektachem) o en el uso de una centrífuga para mezclar las muestras y los reactivos (analizadores centrífugos rápidos).

En la actualidad hay una amplia variedad de analizadores discretos para laboratorios clínicos. Algunos de ellos son para uso general y tienen la capacidad de desarrollar diversas determinaciones distintas, a menudo en forma aleatoria. Otros son más limitados y sólo efectúan una o unas pocas determinaciones específicas. Muchos de los analizadores de uso general requieren una combinación de pruebas químicas tradicionales e inmunoestudios en los cuales se recurre a las interacciones anticuerpo-antígeno para la determinación. Muchos de los analizadores para todo uso tienen la capacidad de ejecutar más de 100 pruebas, incluso las determinaciones que se incluyen en la tabla 33.1.

En el caso de algunos de los analizadores, las pruebas de rutina se pueden interrumpir para efectuar pruebas inmediatas o *stat* (*stat* es una abreviatura de la palabra latina *statim*, que quiere decir “inmediatamente”). En otros casos, los aparatos destinados a algunas pruebas de alta frecuencia se utilizan para mediciones *stat*.

Muchos analizadores modernos usan una técnica de tubo cerrado para reducir al mínimo la exposición a riesgos biológicos y evitar las manipulaciones manuales. Las muestras y los reactivos se despachan en forma automática, las mediciones se hacen mediante fotometría o con electrodos selectivos de iones y se calculan los resultados. La mayoría tiene la capacidad de proporcionar un código de barras con el fin de reducir los errores por una identificación incorrecta del paciente. En la figura 33.18 se muestra un analizador automatizado para química-inmunoquímica característico.

Muchos de los analizadores especiales para inmunoquímica cuentan con platos microtituladores o pozos donde los reactivos quedan inmovilizados. La adición de la muestra inicia la reacción inmunoquímica. Luego se usa un lector del pozo o del microplato para medir la absorbancia o bien, en algunos casos, la fluorescencia. La carga y descarga automáticas mediante unidades robóticas despachadoras (véase sección 33D.2) están incorporadas en casi todos los sistemas.

En la actualidad varias compañías fabrican secuenciadores de ADN para usos clínicos y forenses. El orden o secuencia se determina mediante la incorporación de nucleótidos marcados en una copia de la pieza de ADN. La secuencia se obtiene entonces a partir de la ubicación de los nucleótidos marcados. Una enzima se utiliza para hacer copias complementarias de las hebras que contienen los nucleótidos marcados. Las hebras se separan luego mediante electroforesis en gel.

¹⁵L. T. Skeggs, *Am. J. Clin. Pathol.*, 1957, 28, p. 311.

TABLA 33.1 Determinaciones con un analizador representativo.

Sangre	Drogas	Sustancias químicas especiales	Fármacos terapéuticos
Albúmina	Alcohol	Amoniaco	Acetaminofeno
Amilasa	Anfetamina	Proteína C reactiva	Cafeína
Bicarbonato	Barbitúricos	Deshidrogenasa de la glucosa-6-fosfato	Digoxina
Bilirrubina	Canabinoides	Inmunoglobulina A	Lidocaína
Calcio	Metabolito de la cocaína	Inmunoglobulina G	Fenobarbital
Cloruro	LSD	Inmunoglobulina M	Primidona
Colesterol	Metadona	Lactato	Quinidina
Colinesterasa	Metacualona	Microalbúmina	Salicilato
Creatinina	Opiáceos	Factor reumatoide	Teofilina
Glucosa	PCP	Tiroides (T4)	Vancomicina
Colesterol de alta densidad (HDL)	Decolorante de la orina		
Fosfato	Cromato de la orina		
Hierro	Nitratos de la orina		
Colesterol de baja densidad (LDL)	pH de la orina		
Litio	Gravedad específica de la orina		
Magnesio			
Potasio			
Sodio			
Proteínas totales			
Triglicéridos			
Nitrógeno en urea			
Ácido úrico			

**FIGURA 33.18** Equipo completo para pruebas de química-inmunoquímica. (Cortesía de Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA.)

Por tradición se usaban los nucleótidos radiactivos para determinar la secuencia del ADN, pero ya se les reemplazó por los procedimientos de marcaje; por ejemplo, mediante fluorescencia. La fluorescencia excitada por rayo láser se usa después para leer la secuencia. Los instrumentos comerciales pueden ser automatizados del todo o en parte. En los sistemas totalmente automatizados se carga con una plantilla de ADN una bandeja para las muestras. Todos los pasos de marcaje y análisis se ejecutan en forma automática. Muchas técnicas nuevas, como la espectrometría de masas en tándem, están en investigación para simplificar y hacer más automática la obtención de la secuencia del ADN.

Hay instrumentos clínicos para objetivos especiales, como son las pruebas de diagnóstico más solicitadas (glucosa, gas en sangre, nitrógeno de la urea, etc.). Muchos de los analizadores clínicos ya están miniaturizados hasta el punto que se pueden usar en el campo, al lado de la cama del paciente o en el hogar. En la figura 33.19 se observa un sistema para supervisar la glucosa en el hogar. La oxidasa de la glucosa inmovilizada reacciona con la glucosa para producir sustancias que pueden ser detectadas por medios electrónicos.¹⁶ Los electrodos están impresos mediante la técnica de impresión con chorro de tinta. Los medidores tienen memoria, de modo que los resultados pueden promediarse, guardarse y recuperarse después. El medidor de glucosa que se ilustra en la figura 33.19 tiene un precio de alrededor de 50 dólares.

33D.4 Analizadores elementales orgánicos automáticos

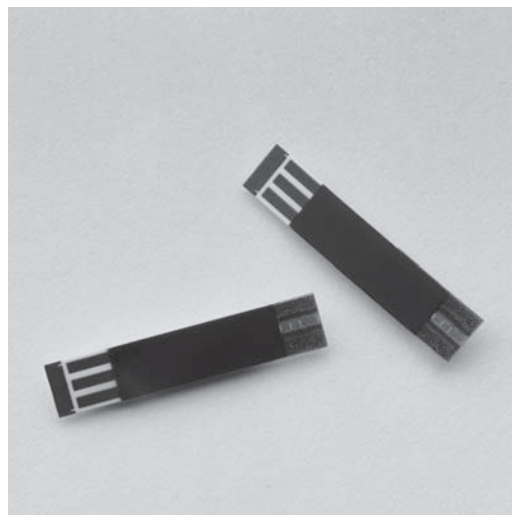
Distintas casas comerciales fabrican instrumentos automáticos para analizar compuestos orgánicos en busca de algunos de los elementos más comunes, como carbono, hidrógeno, oxígeno, azufre y nitrógeno. Todos estos instrumentos se basan en la oxidación de los compuestos orgánicos a elevadas temperaturas, con lo cual los elementos de interés se convierten en moléculas gaseosas. En algunos equipos los gases se separan en una columna cromatográfica; en otras separaciones se utilizan absorbentes específicos. En la mayoría de los instrumentos las determinaciones se completan mediante una detección por conductividad térmica. A menudo estos instrumentos están equipados con dispositivos que cargan en forma automática las muestras en el área de combustión después de haberlas pesado.

La figura 33.20 es un esquema de un instrumento automático comercial para determinar carbono, hidrógeno y nitrógeno. En este instrumento las muestras se

¹⁶Si desea un panorama de los biosensores consulte J. Wang, *Electroanalysis*, **2001**, 13, p. 983.



a)



b)

FIGURA 33.19 Medidor de glucosa en sangre para uso en el hogar. El medidor a) contiene las piezas electrónicas y la pantalla. Se deposita una gotita de sangre en una tira de prueba b) que se coloca en la parte superior del medidor. La tira contiene oxidasa de glucosa inmovilizada y electrodos para el sistema de detección amperométrica. (Cortesía de LifeScan, Inc., Milpitas, CA.)

oxidan a 900°C en condiciones estáticas dentro de un ambiente de oxígeno puro que produce una mezcla gaseosa de dióxido de carbono, monóxido de carbono, agua, nitrógeno elemental y óxidos de nitrógeno. Después de 2 a 6 minutos en el ambiente de oxígeno, los productos son arrastrados con una corriente de helio por un horno de tubo a 750°C, donde cobre caliente reduce los óxidos de nitrógeno al elemento y también elimina el oxígeno como óxido de cobre. Asimismo, hay óxido de cobre adicional presente para convertir el monóxido de carbono en dióxido. Los halógenos son eliminados mediante relleno de lana de plata.

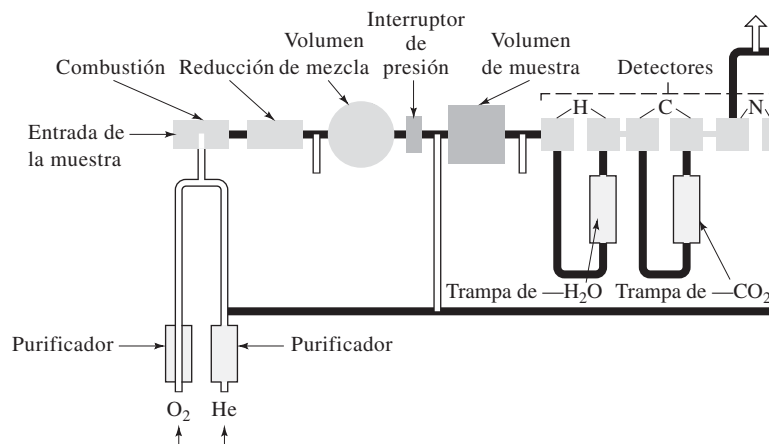


FIGURA 33.20 Analizador automático de C, H y N. (Cortesía de Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT.)

Los compuestos procedentes del horno de reacción pasan a una cámara de mezcla en la que alcanzan una temperatura constante. Después se analiza la mezcla homogénea resultante pasándola por una serie de tres detectores de conductividad térmica de precisión, cada uno de ellos constituido por un par de celdas sensoras.

Entre el primer par de celdas hay una trampa de absorción, con perclorato de magnesio que elimina el agua. Entonces, la señal diferencial se utiliza como una medida del hidrógeno de la muestra. El dióxido de carbono se elimina en una segunda trampa de absorción. De nuevo, la diferencia de señales entre el segundo par de celdas constituye una medida del carbono de la muestra. El gas remanente compuesto por helio y nitrógeno pasa a través de la tercera celda detectora. La señal de salida de esta celda es similar a la de una celda de referencia por la que fluye helio puro. La diferencia de potencial entre este par de celdas se relaciona con la cantidad de nitrógeno en la muestra.

Para determinar el oxígeno, el tubo de reacción se reemplaza por un tubo de cuarzo lleno de carbono platinizado. Cuando la muestra se piroliza en helio y se

hace fluir a través de este tubo, todo el oxígeno se transforma en monóxido de carbono que, a su vez, al pasar por óxido de cobre caliente se transforma en dióxido de carbono. El resto del procedimiento es igual al ya descrito, pero está relacionado con la señal de diferencia antes y después de la absorción del dióxido de carbono.

Para el análisis de azufre, la muestra se quema en una atmósfera de oxígeno dentro de un tubo relleno de óxido de tungsteno (VI) u óxido de cobre. El agua se elimina con un agente deshidratante que se coloca en la zona fría del mismo tubo. A continuación el dióxido de azufre seco se separa y se determina mediante la señal de diferencia a la cual está normalmente la celda de detección de hidrógeno. Sin embargo, en este ejemplo el dióxido de azufre se absorbe en un reactivo de óxido de plata.

El instrumento de la figura 33.20 puede ser totalmente automatizado. En esta versión se colocan en una bandeja circular hasta 60 muestras previamente pesadas, en pequeñas cápsulas, para la toma de muestras automática.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.

 Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

33.1 Enumere en orden una serie de operaciones unitarias de laboratorio que puedan utilizarse para

- asegurar la presencia o ausencia de plomo en pintura seca desprendida de las paredes.
- determinar el contenido de hierro en pastillas con múltiples vitaminas y minerales.
- determinar la concentración de glucosa en la sangre de un paciente.

- 33.2** Elabore el diagrama de un sistema de inyección en flujo que sirva para determinar fosfato en una muestra de agua de río por medio de la reacción con azul de molibdeno (fosfato + molibdato + ácido ascórbico en solución ácida de azul de fosfomolibdeno, el cual absorbe a 660 nm).
- 33.3** Diseñe un sistema por inyección en flujo para determinar plomo en los desechos de una planta industrial mediante la extracción de iones plomo con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono, la cual reacciona con Pb^{2+} para formar un producto intensamente coloreado.
- 33.4** Compare los sistemas de flujo continuo y los automatizados discretos. Enumere las ventajas y desventajas de cada tipo de sistema automatizado.
- 33.5** Diga las ventajas y desventajas de los analizadores con inyección sucesiva respecto a los analizadores tradicionales por inyección en flujo.
- 33.6** La tecnología de un laboratorio en un circuito integrado se aplica en varios de los analizadores que fabrica Agilent Technologies. Mediante un buscador como Google localice dicho analizador en la red. Explique en forma minuciosa el uso de la técnica de microflujo en uno de los analizadores Agilent. Analice cuáles son los tipos de determinaciones posibles y las ventajas y limitaciones de la técnica de laboratorio en un circuito integrado cuando se aplica al analizador elegido.
- 33.7** Elabore el diagrama de un aparato por inyección en flujo para determinar sulfito de sodio en muestras acuosas.
- 33.8** Elabore un diagrama de flujo que incluya columnas, detectores y válvulas de conmutación, que esté diseñado para cumplir los siguientes requisitos. Primero, el pico del solvente debe separarse rápidamente de dos analitos cuya volatilidad es mucho menor que la del solvente. Segundo, el pico del solvente no debe pasar por la columna analítica. Tercero, hay que separar los dos analitos, cuya polaridad es muy diferente, y en última instancia determinarlos en forma cuantitativa.

Problema de reto

- 33.9** Lawrence, Deo y Wang (*Anal. Chem.*, **2004**, 76, p. 3735) describieron un biosensor electroquímico para determinar glucosa con base en un electrodo de pasta de carbono.
- ¿Qué técnica electroquímica se usa con los electrodos descritos para la enzima?
 - ¿Cuáles son las ventajas de incorporar una enzima en una matriz de electrodos de pasta de carbono?
 - ¿Qué es un mediador y cómo se usa con estos biosensores?
 - ¿Cuál es la ventaja de usar una pasta líquida como mediador en lugar de un electrodo ordinario de pasta de carbono?
 - Indique cuáles son las reacciones de la enzima y del mediador.
 - ¿En qué consistía la voltamperometría cíclica que usaron en su estudio Lawrence, Deo y Wang?
 - ¿Cuáles son los tiempos de respuesta aproximados para estos electrodos?
 - ¿Cuál de los nuevos mediadores manifestó la sensibilidad más alta? ¿Cuál da el intervalo dinámico lineal más amplio?
 - Analice con detalle la manera en que la corriente medida con estos biosensores se relaciona con la velocidad de reacción de la glucosa. ¿Cómo se determinó la constante de Michaelis K_m ?

Determinación del tamaño de partícula

La información del tamaño de partícula es muy importante para muchos proyectos de investigación y procesos industriales, por esa razón varias técnicas analíticas se encargan de proveer los datos relacionados con este aspecto. Algunas dan sólo un tamaño promedio, mientras que otras proporcionan una distribución completa del tamaño de partícula. Por consiguiente, el primer paso cuando se efectúa un análisis de tamaño de partícula es elegir la técnica analítica apropiada. En este capítulo se examinan algunas de las consideraciones que influyen en esta elección y luego la atención se centra en tres técnicas: **dispersión de luz láser de ángulo bajo, dispersión de luz dinámica y fotosedimentación**, técnicas que aún no se han analizado en este libro.

El método específico de determinación del tamaño de partícula elegido depende del tipo de información que se requiere acerca del tamaño y también de las propiedades químicas y físicas de la muestra. Además de las tres técnicas que se analizan aquí, se aplican de manera común el cribado molecular, la conductancia eléctrica, la microscopía, la cromatografía hidrodinámica molecular, el conteo de oscurecimiento de luz, el fraccionamiento de flujo de campo, la anemometría Doppler y la espectrometría ultrasónica. Cada uno de los métodos de determinación del tamaño de partícula tiene sus propias ventajas y desventajas para muestras y análisis particulares.

34A INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

El análisis del tamaño de partícula presenta un dilema singular.¹ En general, se trata de describir el *tamaño de partícula* mediante una sola cantidad, como diámetro, volumen o área superficial. La *distribución del tamaño de partícula* es una gráfica del número de partículas que tienen un valor único de la cantidad elegida frente a la misma cantidad o bien una distribución acumulada que representa la fracción de partículas más grandes o más pequeñas que un tamaño característico. El dilema surge porque las partículas que se describen son tridimensionales. El único objeto tridimensional que se puede describir mediante una sola cantidad es una esfera. A partir del diámetro de ésta se puede calcular con exactitud su área superficial y su volumen. Si se conoce la densidad de una partícula esférica, se puede calcular también su masa.

¿Cómo se trabaja entonces con partículas no esféricas? Los métodos usuales son suponer que las partículas son esféricas y después proceder como si lo fueran o se puede convertir la cantidad medida en la de una esfera equivalente. Por ejemplo, si se obtiene la masa m de una partícula, se puede convertir ésta en la masa de una esfera porque $m = (4/3)\pi r^3 \rho$, donde r es el radio de la partícula y ρ es su densidad. Esto permite que el tamaño de la partícula se describa sólo por su diámetro ($d = 2r$). Éste representa entonces el diámetro de una esfera de la misma masa que la partícula de interés. Se pueden hacer conversiones similares con otras cantidades medidas como área superficial o volumen.

Otro problema básico con las mediciones del tamaño de partícula es que técnicas diferentes dan con frecuencia resultados diversos para partículas tridimensionales. Incluso si el diámetro de partícula se midiera de manera directa con un microscopio, ¿qué dimensión se cuantificaría? Si la partícula fuera cúbica, tres dimensiones diferentes (longitudes) se podrían tomar como el diámetro. Por ejemplo, la longitud máxima podría desempeñar ese papel; esto equivaldría a decir que la partícula es una esfera con dicho diámetro. O bien, la longitud mínima se podría tomar como el diámetro. De manera alternativa, el volumen o el área superficial se podría usar para calcular el diámetro de la esfera equivalente. Todos los resultados que se obtengan mediante esta técnica simple, la microscopía, serán diferentes pero correctos para la cantidad que se evalúa. Así, no es sorprendente que cada técnica dé

¹ Para más información, véase T. Allen, *Particle Size Measurement*, 5a. ed., vol. 1, Londres: Chapman & Hall, 1997; S. P. Wood y G. A. Von Wald, en *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, F. Settle, ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997; H. G. Barth, *Modern Methods of Particle Size Analysis*, Nueva York: Wiley, 1984.



En todo el capítulo, este símbolo indica una oportunidad para estudiar en línea. Visite el sitio <http://latinoamerica.cengage.com/skoog>, para revisar clases interactivas, simulaciones guiadas y ejercicios.

resultados diferentes para tamaños de partícula o distribuciones de tamaño de partícula.

La única solución razonable para el dilema del tamaño es usar la misma técnica de medición y evaluar la misma cantidad para hacer comparaciones de tamaños de partícula y de distribuciones de tamaño de partícula. En ocasiones se hacen comparaciones entre instrumentos que usan distintos procedimientos de medición pero, en general, se les considera cualitativas.

Ciertas técnicas de medición requieren también características físicas, como densidad e índice de refracción. Por ejemplo, la información del índice de refracción es necesaria para métodos que se basan en la dispersión de la luz, pero por lo general se requieren densidades para los que se basan en la sedimentación. Por lo común se hacen suposiciones acerca de estas cantidades a menos que estén disponibles valores medidos. Dichas suposiciones pueden de nuevo conducir a discrepancias en los tamaños de partícula reportados.

Antes de elegir una técnica de determinación del tamaño de partícula, es aconsejable examinar las muestras con un microscopio porque con él se puede estimar la variedad de tamaños y formas presentes. La mayor parte de los métodos para determinar las dimensiones de una partícula son sensibles a la forma de ésta y están limitados respecto al intervalo de tamaños de partícula. Las que tienen formas más o menos esféricas se miden con más exactitud. Las agujas y otras geometrías que difieren significativamente de la forma esférica se analizan por lo común mediante un microscopio.

Para muchas técnicas, los tamaños de partícula se obtienen mejor al suspenderlas en un líquido en el cual son insolubles. El líquido puede producir una suspensión que es homogénea en concentración y bastante uniforme en tamaño para introducirla en el instrumento de determinación de tamaño de partícula. Las suspensiones en líquido inhiben también cualquier fuerza cohesiva que pudiera generar la coagulación o aglomeración de las partículas. Los líquidos elegidos deben ser químicamente inertes hacia los materiales con los que entra en contacto en el instrumento.

34B DISPERSIÓN DE LUZ LÁSER DE ÁNGULO BAJO

La técnica de *dispersión de luz láser de ángulo bajo* (DLAB)² llamada también *difracción láser*, es uno de los métodos de empleo más común para medir tamaños de partícula y distribuciones de tamaño de 0.1 μm

a 2000 μm . La técnica es popular debido a su amplio intervalo dinámico, su precisión, su facilidad de uso y su adaptabilidad a muestras en una variedad de formas. Las mediciones se hacen exponiendo la muestra a un haz de luz y detectando los patrones angulares de luz dispersada por partículas de distintos tamaños. Debido a que los patrones producidos son muy característicos del tamaño de partícula, un análisis matemático de ellos puede producir una medición reproducible exacta de la distribución de tamaño.

34B.1 Instrumentación

En la figura 34.1 se muestra un aparato típico de difracción láser. El haz proveniente de un láser de onda continua, por lo común uno de He-Ne, es colimado y se hace pasar por la muestra donde las partículas provocan la dispersión. El haz se enfoca después sobre un sistema de detectores donde se mide el patrón de dispersión, que se muestra en la figura 34.1 como un patrón de difracción. El patrón de dispersión se analiza entonces de acuerdo con modelos teóricos para dar la distribución del tamaño de partícula.

Algunos instrumentos verifican la concentración de partículas en el haz por medio de un *detector de oscurecimiento* que se localiza en el punto focal de la lente. Si no hay partículas presentes en el haz, toda la luz cae en el detector de oscurecimiento. Tan pronto como las partículas entran en el haz, bloquean parte de la luz y la dispersan sobre los elementos del sistema de detectores. La fracción de la luz atenuada por dispersión, absorción, o ambas, se relaciona con la concentración de partículas en el haz (véase la sección 34D).

Los fabricantes de instrumentos proveen varios accesorios para introducir la muestra. Por ejemplo, algunos hacen que la muestra entre directamente en el haz láser como un aerosol. Las muestras se pueden pasar también por una celda de muestreo con ventanas transparentes o se suspenden en una cubeta donde son agitadas. Los polvos secos pueden ser soplados a través del haz o dejar que caigan a través del haz por gravedad. Las partículas en una suspensión se pueden recircular a través del haz mediante una bomba.

34B.2 Modelos teóricos

La mayor parte de los instrumentos comerciales usan modelos ópticos en sus programas de análisis que se basan en la teoría de dispersión de Mie o de difracción de Fraunhofer. La *teoría de Mie* provee una solución completa al problema de dispersión de luz mediante una esfera, la cual incluye los efectos de la luz transmitida y absorbida. Por otro lado, el *modelo de difracción de*

²Véase J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988, pp. 518-519; P. E. Plantz, en *Modern Methods of Particle Size Analysis*, H. G. Barth, ed., Nueva York: Wiley, 1984, cap. 6.

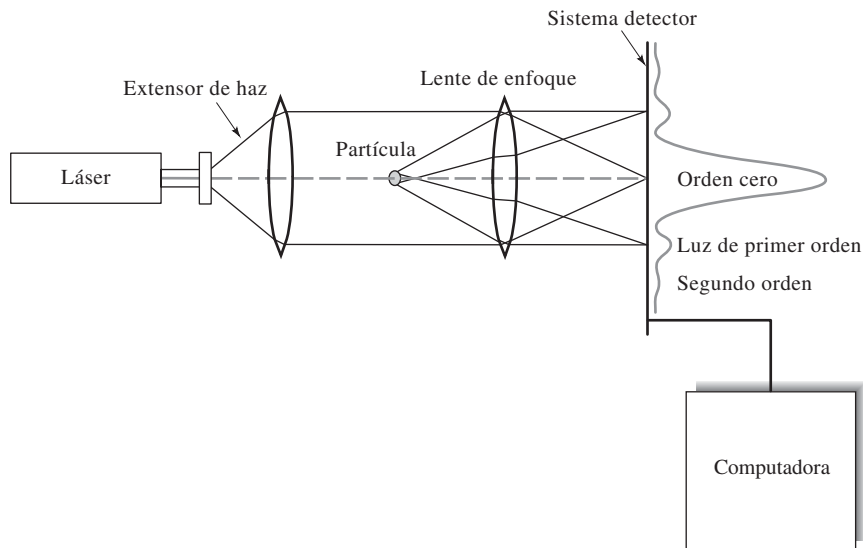


FIGURA 34.1 Aparato de difracción láser. Cuando una partícula entra en un haz láser, la luz se dispersa en un ángulo relacionado con el tamaño de la partícula. Un detector recolecta la luz dispersada y luego se analiza el patrón de dispersión resultante. El patrón de dispersión de un grupo de partículas de tamaño diferente es, dentro de ciertos límites, la suma de los patrones de partículas individuales.

Fraunhofer es mucho más fácil de poner en práctica. Éste trata a las partículas como aberturas opacas, circulares, que obstruyen el haz de luz.

Teoría de Mie

En la teoría de Mie, las partículas se consideran objetos finitos en lugar de dispersores puntuales. Los centros de dispersión se encuentran en varias regiones de las partículas. Cuando éstas dispersan la luz, los centros de dispersión están apartados lo suficiente de modo que es probable que ocurra cierta interferencia entre los rayos emitidos desde un área de la partícula y los de otra. Esta condición origina una distribución de intensidad que es bastante diferente de la que se observa en partículas pequeñas. La dispersión que ocurre con partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda de la luz ($d < 0.05\lambda$) se denomina *dispersión de Rayleigh*.

La figura 34.2a ilustra la interferencia que puede ocurrir en la dispersión de partículas grandes. Como resultado, el patrón de distribución de intensidad cambia a uno que muestra de modo predominante dispersión hacia adelante, como se ilustra en la figura 34.2b. La dispersión de partículas con diámetros cercanos a la longitud de onda de la luz ($0.05\lambda < d < \lambda$) se denomina a veces *dispersión de Debye*. La *dispersión de Mie* ocurre en partículas con diámetros mayores que la longitud de onda de la luz incidente ($d > \lambda$).

Observe en la figura 34.2 que las envolventes para la dispersión de Debye y Mie son similares a la dispersión

de Rayleigh en la dirección directa, pero muy distintas en la dirección inversa. Con frecuencia, la dispersión de Debye se omite como una clase separada y se considera que la dispersión de Mie ocurre para partículas con diámetros cercanos a la longitud de onda de la luz y más grandes. Cuando el tamaño de partícula es pequeño comparado con la longitud de onda incidente, la luz dispersada se desplaza hacia un lado y a la parte posterior y, por último, se extiende en todas direcciones (dispersión de Rayleigh). En el límite de la dispersión de Rayleigh, la distribución de intensidad de la dispersión frontal es casi constante e independiente del tamaño de partícula.

Antes del advenimiento de las poderosas computadoras de escritorio, era difícil de poner en práctica la rigurosa teoría de Mie para determinar las distribuciones de tamaño de partícula en sistemas de difracción láser. La teoría supone que las partículas son isotrópicas y esféricas con una superficie lisa. Incluso si se cumplen estas condiciones, se debe conocer un parámetro de Mie complejo dependiente del material. Por último, la teoría de Mie no es aplicable a mezclas de componentes distintos.

Teoría de difracción de Fraunhofer

La teoría de Fraunhofer es una simplificación que considera a las partículas transparentes, esféricas y mucho más grandes que la longitud de onda del haz incidente. Los efectos de absorción e interferencia no se consideran del mismo modo que en la teoría de Mie. Así, la

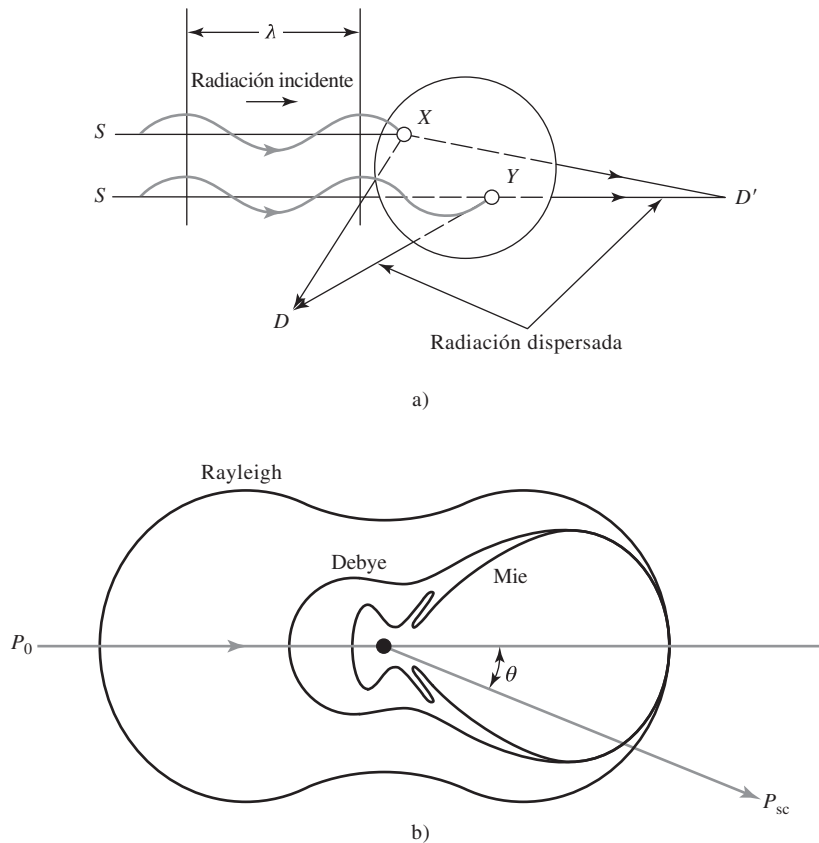


FIGURA 34.2 Dispersión de partículas de diferentes tamaños. a) Dispersión de partículas grandes que muestra interferencia. Los rayos emitidos en dirección hacia atrás observados en el punto D pueden interferir de manera destructiva debido a la gran diferencia de trayectoria entre las rutas SXD y SYD . Los rayos emitidos en la dirección directa observados en la posición D' y que viajan en las rutas SXD' y SYD' tienen más probabilidad de interferir de modo constructivo como resultado de la diferencia de trayectoria mucho más pequeña. b) Las distribuciones de luz dispersada se muestran para tres tamaños de partícula, correspondientes a las dispersiones de Rayleigh, Debye y Mie. El ángulo de dispersión θ es el que existe entre los rayos incidente y dispersado con potencias radiantes P_0 y P_{sc} respectivamente. Así, θ es 0° para la dispersión directa y 180° para la dispersión que se dirige hacia atrás.

partícula se comporta como una abertura circular y su dispersión da como resultado un patrón de difracción, conocido como *patrón de Airy*. Éste se puede expresar como una función de $x = 2\pi rs/\lambda f$, donde r es el radio de la partícula, s es la distancia radial medida desde el eje óptico, λ es la longitud de onda de la radiación incidente y f la longitud focal de la lente (véase la figura 34.1). La función de Airy se puede escribir como

$$I = I_0 \left(\frac{2J_1(x)}{x} \right)^2 \quad (34.1)$$

donde I es la intensidad dispersada, I_0 es la intensidad en el centro del patrón y J_1 es la función primaria, esférica y de primer orden de Bessel. En la figura 34.3 se muestra una gráfica de la función de Airy. El recuadro muestra una expansión del eje y para permitir ver los extremos con más claridad. Note las posiciones de los máximos y mínimos.

Los patrones de Airy son diferentes para distintos radios de partícula. En la figura 34.4 se muestran los patrones para partículas de radios r , $2r$ y $0.5r$. Note que el patrón es más amplio para partículas de tamaño más pequeño y más reducido para partículas más grandes. Observe también que los extremos se desplazan a valo-

res superiores de x a medida que disminuye el tamaño de partícula. Cuando están presentes partículas de tamaños distintos, el patrón de intensidad se puede considerar como la suma de los patrones de Airy para partículas individuales.

Análisis de distribución de tamaño de partícula

En la actualidad, partículas de varios tamaños están presentes en cualquier muestra real y la distribución de intensidad de la luz dispersada se usa para calcular la distribución de tamaño de partícula. La relación entre la distribución de intensidad de la luz dispersada y la distribución de tamaño de partícula para el caso de la difracción de Fraunhofer es

$$I(x) = I_0 \int_0^\infty \left(\frac{2J_1(x)}{x} \right)^2 f(d) dd \quad (34.2)$$

donde $I(x)$ es la distribución de intensidad de la luz dispersada, $f(d)$ el coeficiente de distribución de tamaño de partícula y d el diámetro de esta última. La ecuación 34.2 se puede escribir en términos del ángulo de dispersión θ y un parámetro de tamaño $\alpha = 2\pi r/\lambda = \pi d/\lambda$

$$I(\theta) = I_0 \int_0^\infty \left(\frac{2J_1(\alpha\theta)}{\alpha\theta} \right)^2 f(d) dd \quad (34.3)$$

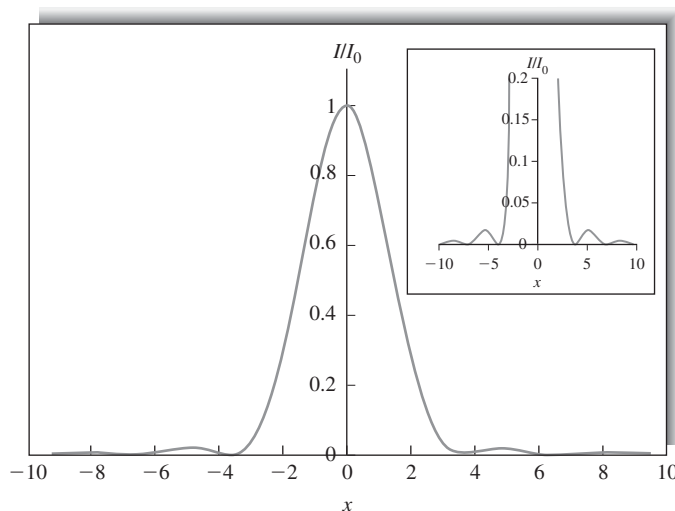


FIGURA 34.3 La función de Airy muestra una gráfica de la intensidad I respecto a la intensidad central I_0 como una función de la variable x (véase el texto). El recuadro muestra una expansión del eje y para mostrar los máximos y mínimos con más claridad.

Esta ecuación se puede resolver en forma de matriz o mediante métodos iterativos.

En la mayor parte de los instrumentos modernos la medición se lleva a cabo mediante un sistema de N detectores. Además, en muchos instrumentos se usa la teoría de dispersión de Mie en lugar de la teoría de difracción de Fraunhofer. En un método popular las partículas se dividen en intervalos de tamaño y se supone que cada uno genera una distribución de intensidad de acuerdo con el tamaño promedio. En este caso, la ecuación precedente se convierte en

$$g(N) = \sum_{i=1}^N K(N, d_i) f(d_i) \Delta d \quad (34.4)$$

donde $g(N)$ es la salida del N -ésimo detector, $K(N, d_i)$ es el coeficiente de respuesta del N -ésimo detector, d_i es el i -ésimo diámetro y Δd es el número de intervalo de tamaño de partícula. La distribución del tamaño de partícula $f(d_i)$ se calcula a partir de la relación entre la salida del detector y su función de respuesta. La distribución se calcula por lo general con base en el volumen. La figura 34.5 muestra una gráfica de la *distribución acumulada de tamaño reducido*. El valor en cada diámetro de partícula representa el porcentaje de partículas que tienen diámetros menores o iguales al valor expresado. Por lo común se proporciona también una distribución de frecuencia que muestra el porcentaje de partículas que tienen un diámetro particular o un

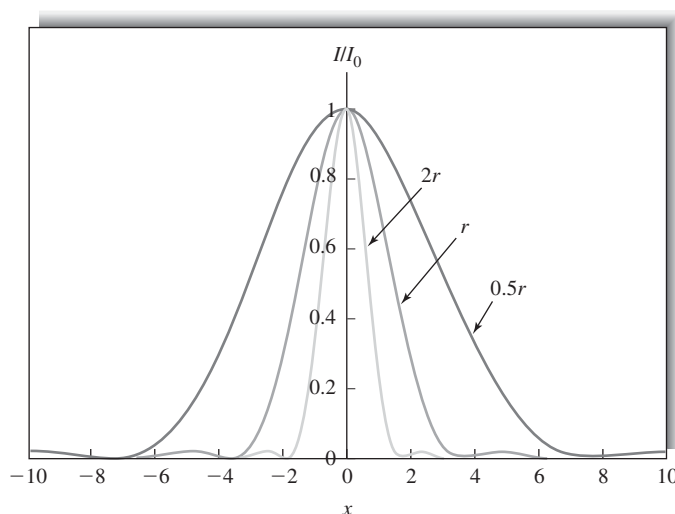


FIGURA 34.4 Patrones de Airy para partículas de tres tamaños distintos.

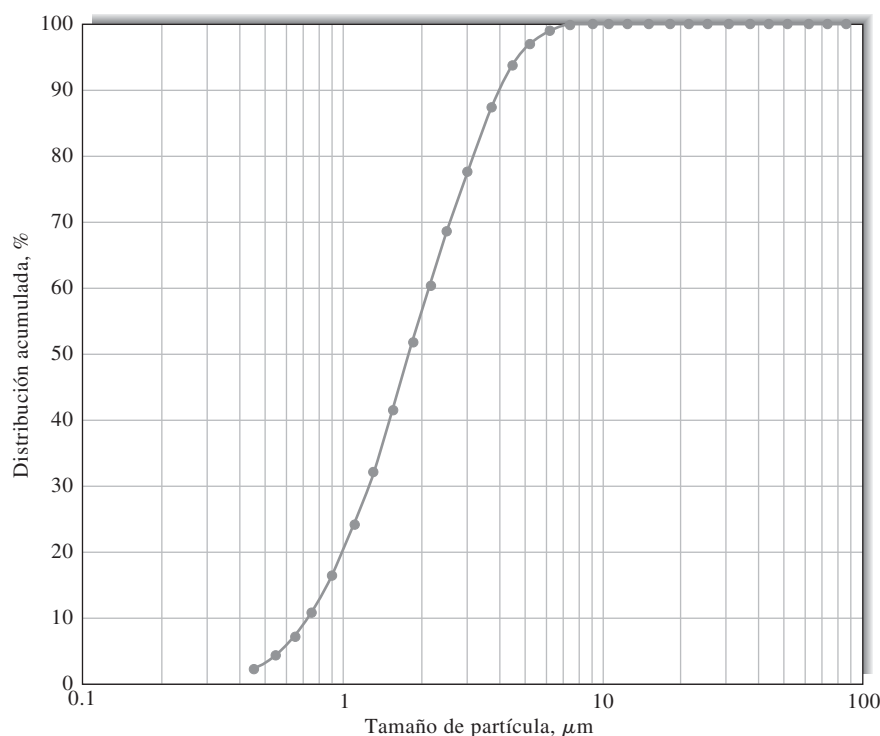


FIGURA 34.5 Distribución acumulada de tamaño de partícula de tamaño reducido.

intervalo de diámetros. Éstos se pueden graficar como histogramas o como distribuciones continuas.

34B.3 Aplicaciones

Desde la introducción inicial de la instrumentación de difracción láser en la década de 1970, han sido dadas a conocer muchas aplicaciones distintas para el análisis del tamaño de partícula.³ Éstas han incluido mediciones de distribuciones de tamaño de partículas trazadoras radiactivas, partículas de tinta empleadas en máquinas fotocopadoras, fibras de dióxido de circonio, partículas de alúmina, gotitas de inyectores electrónicos de combustible, partículas de crecimiento de cristales, polvos de carbón mineral, cosméticos, suelos, resinas, productos farmacéuticos, catalizadores metálicos, materiales electrónicos, emulsiones fotográficas, pigmentos orgánicos y cerámicas. Cerca de una docena de compañías de instrumentos producen ahora instrumentos de DLAB. Algunos de ellos se han vuelto populares como detectores para cromatografía de exclusión de tamaño.

³Véase, por ejemplo, B. B. Weiner, en *Modern Methods of Particle Size Analysis*, H. G. Barth, ed., Nueva York: Wiley, 1984, cap. 5; P. E. Plantz, *ibid.*, cap. 6.

34C DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ

La *dispersión dinámica de luz* (DDL), conocida también como *espectroscopía de correlación de fotones* (ECF) y *dispersión de luz casi elástica* (DLCE), es una técnica muy eficaz para sondear la dinámica de soluciones y para medir tamaños de partícula.⁴ La técnica de DDL puede obtener información de tamaño en pocos minutos para partículas con diámetros que van de algunos nanómetros hasta casi 5 μm.

La técnica de DDL requiere mediciones del ensanchamiento Doppler de la luz dispersada Rayleigh como resultado del movimiento browniano (difusión de traslación) de las partículas. Este movimiento térmico causa fluctuaciones de tiempo en la intensidad de la dispersión y un ensanchamiento de la línea de Rayleigh, la cual tiene la forma de una línea lorentziana. En soluciones macromoleculares las fluctuaciones de con-

⁴Para información adicional véase J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988, cap. 16; N. C. Ford, en *Measurements of Suspended Particles by Quasi-elastic Light Scattering*, B. E. Dahenke, ed., Nueva York: Wiley, 1983; M. L. McConnell, *Anal. Chem.*, **53**, p. 1007A (1981); B. J. Berne y R. Pecora, *Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology and Physics*, Nueva York: Wiley, 1976, reimpreso por Dover Publications, Inc., Nueva York.

centración suelen ser dominantes. En estas condiciones, el ancho de la línea de Rayleigh es directamente proporcional al coeficiente de difusión traslacional D_T . El método de DDL emplea técnicas de mezclado óptico y análisis de correlación para obtener estos coeficientes de difusión. Los anchos de línea (1 Hz a 1 MHz) son muy pequeños para ser medidos mediante espectrómetros comunes e incluso interferómetros.

34C.1 Principios

En un experimento típico de DDL la muestra está bien dispersa en un medio de suspensión y se le ilumina mediante un haz láser de una sola longitud de onda. Para medir lo anchos Doppler, el instrumento de DDL utiliza mezcla óptica o técnicas de pulsos de luz para trasladar las frecuencias ópticas ($\sim 6 \times 10^{14}$ Hz con la línea de 488 nm de un láser de Ar^+) a frecuencias cercanas a 0 Hz (cd) que se pueden medir con facilidad. En la mayor parte de los instrumentos de DDL se emplea un tubo fotomultiplicador (TFM) como mezclador lineal debido a que su salida es proporcional al cuadrado del campo eléctrico que cae sobre su superficie fotosensible.

Para ver cómo actúa el TFM como mezclador, suponga que la radiación dispersada contiene ondas seno de dos frecuencias ω_1 y ω_2 . El vector de campo eléctrico E se puede escribir como

$$E = E_1 \sin \omega_1 t + E_2 \sin \omega_2 t \quad (34.5)$$

donde E_1 y E_2 son las amplitudes de las dos ondas. La señal de salida del TFM $S(\omega)$ es proporcional al cuadrado del campo eléctrico y se puede expresar como

$$S(\omega) = A\{E_1^2 \sin^2 \omega_1 t + E_2^2 \sin^2 \omega_2 t + E_1 E_2 [\cos(\omega_2 - \omega_1)t - \cos(\omega_2 + \omega_1)t]\} \quad (34.6)$$

donde A es una constante de proporcionalidad. El TFM no puede responder de modo directo a las frecuencias ω_1 y ω_2 o al término de suma porque son mayores que 10^{14} Hz para la radiación visible. En cambio, sí puede responder al término de diferencia de frecuencias ($\omega_2 - \omega_1$), que puede ser tan pequeño como unos cuantos Hz. Cuando están presentes frecuencias múltiples, se genera un espectro de diferencias que se centra en 0 Hz. La dependencia respecto al tiempo de las fluctuaciones de intensidad se usa entonces para obtener la información del tamaño de partícula. La mezcla óptica se lleva a cabo haciendo incidir la luz dispersada en

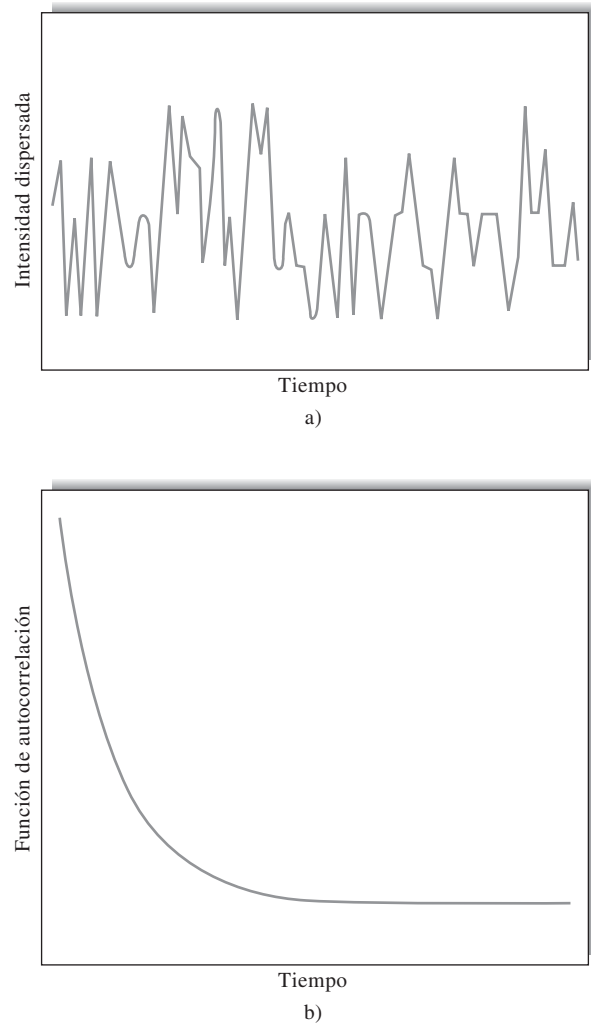


FIGURA 34.6 a) Fluctuaciones de intensidad de la radiación dispersada desde una solución acuosa de esferas de poliestireno de 2.02- μm (diámetro); b) función de autocorrelación de fluctuaciones de intensidad.

una pequeña porción del haz fuente (detección heterodina) o sobre sí misma (autopulsación).

La señal de salida del TFM es proporcional a la intensidad de la radiación dispersada. Debido a que las partículas dispersadas están en continuo movimiento térmico, la intensidad dispersada observada $I(t)$ fluctúa con el tiempo. La traza de intensidad contra tiempo se asemeja a un patrón de ruido como se muestra en la figura 34.6a. Las partículas pequeñas causan que la intensidad fluctúe con más rapidez que las partículas grandes.

El paso siguiente en el proceso es determinar la función de autocorrelación de la señal. Con autocorrelación, la señal se multiplica por una versión retrasada de sí misma y el producto se promedia en el tiempo. El



Clase interactiva: aprenda más acerca del **análisis de tamaño de partícula**.

producto promediado en el tiempo se obtiene en varios tiempos de retraso y se grafican contra el tiempo de retraso. La función de autocorrelación es la transformada de Fourier del espectro de potencia. Debido a que la radiación dispersada tiene la forma de una línea lorentziana, su transformada de Fourier debe ser una disminución exponencial, como se ilustra en la figura 34.6b. De acuerdo con la teoría de la DDL, la constante de tiempo de la disminución exponencial τ está relacionada directamente con el coeficiente de difusión translacional de las partículas esféricas, isotrópicas en movimiento browniano.

$$\tau = D_T q^2 \quad (34.7)$$

Aquí, q se llama *módulo del vector de dispersión* y se determina mediante

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)$$

donde n es el índice de refracción del líquido en suspensión, θ es el ángulo de dispersión y λ es la longitud de onda de la radiación láser.

El tamaño de partícula se obtiene a partir del coeficiente de difusión translacional D_T y de la información de la forma de la partícula. Para una partícula esférica, se usa la *relación de Stokes-Einstein* para calcular su diámetro hidrodinámico d_h

$$d_h = \frac{kT}{3\pi\eta D_T} \quad (34.8)$$

donde k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta y η es la viscosidad del medio. La ecuación 34.8 se cumple para partículas de forma esférica que no interactúan. Para partículas no esféricas, el diámetro hidrodinámico es el de una esfera hipotética que tendría el mismo coeficiente de difusión translacional que la partícula no esférica.

La DDL se puede usar también para dar distribuciones de tamaño de partícula, aunque esto requiere una preparación cuidadosa de la muestra y tiempos de medición más largos. Los datos de DDL no pueden proveer una distribución de tamaño de partícula exacta porque hay muchas distribuciones que corresponden a patrones de correlación similares.

34C.2 Instrumentación

Un instrumento de DDL consta de una fuente láser, una celda de muestra, un fotodetector y una computadora con un autocorrelacionador. La figura 34.7 muestra una configuración instrumental representativa para la DDL. Se usa un láser de onda continua como fuente en

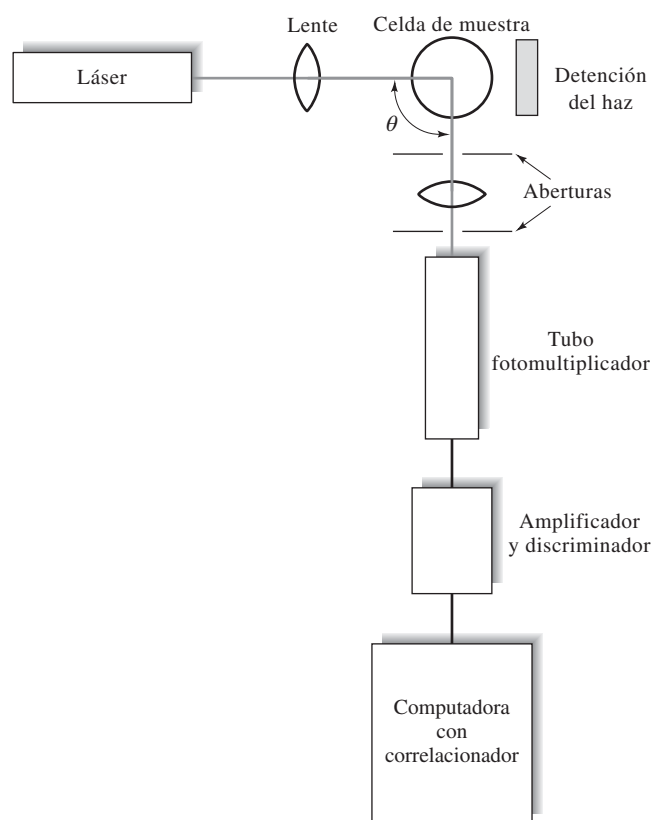


FIGURA 34.7 Configuración instrumental característica para la DDL. Una fuente láser incide en la muestra que por lo general es una suspensión bien agitada. La radiación dispersada que contiene la información de ensanchamiento Doppler incide en un tubo fotomultiplicador. Se emplea procesamiento de señal de conteo de fotones. La función de autocorrelación de la señal de dispersión se calcula y usa para obtener el coeficiente de difusión translacional D_T , que se relaciona después con el tamaño de partícula.

la DDL. Los láseres de He-Ne (632.8 nm) y los láseres de Ar^+ (488.0 nm y 514.5 nm) son las fuentes más comunes. Los láseres de diodo a 650 nm se usan también en algunos instrumentos. El haz láser se enfoca en la mitad de la celda de muestra que contiene las partículas de interés suspendidas en un líquido.

Celda de muestra y manejo de la muestra

Se emplea por lo común una celda de muestra tipo cubeta que está rodeada por un líquido que se mantiene a una temperatura constante. El índice de refracción de este líquido se compara con el del medio de suspensión.

La muestra debe estar bien dispersa en el medio de suspensión. Esto se realiza mediante agitación suave y a veces con agitación ultrasónica. Demasiada agitación

puede causar aglutinamiento de algunos materiales y fractura de partículas en otros. Los solventes deben filtrarse con cuidado para evitar partículas de polvo y otros contaminantes que pueden causar dispersión. Debe haber una diferencia en el índice de refracción del medio de suspensión y el de la fase dispersa, y se debe conocer el índice de refracción del solvente. Se debe saber también la viscosidad a la temperatura de medición de modo que se pueda aplicar la relación de Stokes-Einstein (ecuación 34.8).

La concentración de la muestra que se utilizará depende del tamaño de partícula, la potencia del láser y el índice de refracción de la partícula. El límite superior de concentración es determinado por múltiples fenómenos de dispersión, en los que la luz que dispersa una partícula es dispersada de nuevo por otra. Las concentraciones máximas dependen del tamaño, pero en el caso de una dispersión fuerte una concentración máxima de 0.01% es característica para partículas de 100 nm. El límite inferior de concentración se determina por el número de partículas en el volumen de dispersión. De ordinario, se necesitan por lo menos 1000 partículas. Se requiere cierto ensayo y error para obtener la concentración apropiada.

Fotodetector

La luz dispersada se mide a un ángulo θ , normalmente 90° , desde el haz incidente. La luz dispersada que choca contra la superficie del fotodetector actúa como un mezclador no lineal. El tubo fotomultiplicador es el fotodetector más común. La salida del TFM se puede procesar mediante técnicas de conteo de fotones o como una fotocorriente análoga (véase la sección 7F.1). La información del tamaño de partícula se obtiene después de un análisis de correlación de la señal procesada como se explicó antes. Los fotodiodos han sido utilizados también en algunos instrumentos de DDL comerciales. Además, los fotodetectores duales se han empleado junto con el procesamiento de correlación cruzada para eliminar las contribuciones de la dispersión múltiple.

34C.3 Aplicaciones

Hay muchas aplicaciones de la técnica de DDL. Se le ha usado para determinar el tamaño de retículas de polímeros y resinas, y para supervisar el crecimiento de partículas durante procesos de emulsificación y polimerización. Las micelas y las microemulsiones se han estudiado por medio de métodos de DDL, que también son ampliamente aplicables a la investigación de biopolímeros y biocoloides. Se ha usado también para estudiar polipéptidos sintéticos, ácidos nucleicos, ribosomas, vesículas, virus y fibras musculares.

34D FOTOSSEDIMENTACIÓN

Uno de los tipos más importantes de analizadores de tamaño de partícula es el de *fotosedimentación*.⁵ Un analizador de fotosedimentación determina la distribución del tamaño de partícula al medir con medios fotométricos la velocidad a la cual sedimentan las partículas en un líquido. Considere varios tamaños de partícula del mismo material agitado de forma continua en un líquido, de modo que esté distribuido de manera homogénea. Cuando se detiene la agitación, las partículas comienzan a sedimentar. Las partículas más grandes caen más rápido, las de tamaño intermedio menos rápido y así sucesivamente. En cualquier instante después de que se detiene la sedimentación, habrá un nivel debajo de la superficie del líquido sin ninguna de las partículas más grandes, un nivel más arriba en el cual no está presente ninguna de las partículas de tamaño intermedio y otro nivel todavía más arriba en el cual no hay partículas. En el analizador de fotosedimentación esta condición cambiante se estudia para revelar el tamaño y la población relativa de tamaños de partícula como se describe a continuación. La fuerza que causa que una partícula sedimente puede ser gravitatoria o centrífuga. Los analizadores de fotosedimentación pueden medir tamaños de partícula que van de $0.01\ \mu\text{m}$ a $300\ \mu\text{m}$.

34D.1 Velocidad de sedimentación y tamaño de partícula

Cuando una fuerza F , como la fuerza gravitacional, se aplica a una partícula en solución la acelera. A medida que se incrementa su velocidad, la partícula experimenta más y más retardo debido a la fricción. Para velocidades bajas, la fuerza de fricción está dada por uf , donde u es la velocidad y f es el *coeficiente de fricción*. Cuando la velocidad se vuelve suficientemente alta, la fuerza de fricción es igual a la fuerza aplicada y la partícula se mueve con velocidad constante

$$uf = F \quad (34.9)$$

El coeficiente de fricción f contiene información acerca del tamaño y la forma de la partícula. Para partículas esféricas, la ley de Stokes, definida en la ecuación 34.10, se cumple para condiciones de flujo laminar

$$f = 6\pi\eta r \quad (34.10)$$

donde η es la viscosidad y r es el radio de la partícula. Aquí se supone que el arrastre en la partícula descendente se debe en primer lugar a fuerzas de fricción.

⁵ Para más información, véase T. Allen, *Particle Size Measurement*, vol. 1, 5a. ed., Londres: Chapman & Hall, 1997; C. Bernhardt, *Particle Size Analysis*, Londres: Chapman & Hall, 1994.

Las ecuaciones de Stokes

Si una partícula esférica se sedimenta en un *campo gravitacional*, la fuerza que causa que se sedimente en el fluido es igual a la masa efectiva de la partícula multiplicada por la aceleración de la gravedad. La masa efectiva es la masa de la partícula menos la masa del fluido desplazado por ésta. Si la densidad de la partícula es ρ , la fuerza que causa el asentamiento es $\frac{4}{3}\pi r^3(\rho - \rho_F)g$, donde ρ_F es la densidad del fluido y g es la aceleración debida a la gravedad. Cuando la partícula ha alcanzado una tasa constante de asentamiento, la fuerza retardadora de fricción es igual a la fuerza gravitacional, y

$$\frac{4}{3}\pi r^3(\rho - \rho_F)g = 6\pi\eta ru \quad (34.11)$$

Al reordenar la ecuación anterior se puede despejar la velocidad terminal u en términos del radio de la partícula r o el diámetro $d = 2r$

$$u = \frac{(\rho - \rho_F)g}{18\eta}(2r)^2 = \frac{(\rho - \rho_F)g}{18\eta}d^2 \quad (34.12)$$

A una distancia de sedimentación h y un tiempo t , la velocidad es $u = h/t$, y las partículas que sedimentan con diámetros menores o iguales que el denominado *diámetro de Stokes* d_{Stokes} estarán en la ventana de medición. El diámetro de Stokes está dado por

$$d_{\text{Stokes}} = \sqrt{\frac{18\eta}{(\rho - \rho_F)g} \times \frac{h}{t}} \quad (34.13)$$

En un *campo centrífugo*, una partícula que sedimenta a través de un medio viscoso alcanza también una velocidad terminal u . La aceleración centrífuga es $\omega^2 r_a$, donde ω es la velocidad rotacional en rad/s y r_a es la distancia desde el centro de rotación hasta el sitio donde se hace la medición, llamado *radio analítico*. En este caso, la ecuación de Stokes tiene la forma:

$$u = \frac{(\rho - \rho_F)\omega^2 r_a d^2}{18\eta} = \frac{\ln(r_a/r_0)r_a}{t} \quad (34.14)$$

Aquí, t es el tiempo que requiere una partícula de diámetro d para moverse desde su radio de punto de partida r_0 hasta el radio analítico r_a . Si las partículas tienen densidades mayores que la del fluido, el radio inicial r_0 es el del menisco del líquido interno. El diámetro de Stokes d_{Stokes} se despeja de la ecuación 34.14.

$$d_{\text{Stokes}} = \sqrt{\frac{18\eta \ln(r_a/r_0)}{\omega^2 t(\rho - \rho_F)}} \quad (34.15)$$

La cantidad $u/\omega^2 r_a$ se llama a veces el coeficiente de sedimentación S , con unidades de segundos. A partir de la ecuación 34.14 se ve que

$$S = \frac{u}{\omega^2 r_a} = \frac{1}{\omega^2 t} \ln(r_a/r_0) \quad (34.16)$$

Suposiciones de las ecuaciones de Stokes

Para aplicar las ecuaciones de Stokes a las mediciones de tamaño de partículas que sedimentan, se hacen varias suposiciones críticas:

1. La partícula debe ser esférica, lisa y rígida. Esta suposición no siempre es válida, como ya se explicó antes. Para partículas no esféricas, el diámetro calculado es un *diámetro de Stokes equivalente*, el diámetro de una esfera del mismo material con la misma velocidad de sedimentación.
2. La velocidad final de la partícula se alcanza de forma instantánea. En realidad se requiere un tiempo finito, pero pequeño, para que se cumpla esta condición.
3. Todas las partículas tienen la misma densidad ρ y cualquier influencia desde la pared del recipiente de sedimentación es insignificante.
4. Se supone que todas las partículas se mueven de modo independiente sin interferencia o interacción con otras partículas en el sistema. Esta suposición es buena sólo en concentraciones bajas en las que hay separación entre las partículas. Las concentraciones sustancialmente menores que 1% en volumen son, por consiguiente, las preferidas.
5. El fluido se comporta como un continuo con una viscosidad constante, independiente de cualquier gradiente de velocidad y concentración (aproximación de fluido newtoniano). Esta suposición es válida cuando el agua es el medio de dilución.

34D.2 Instrumentación

Hay varios analizadores de fotosedimentación comerciales. En la figura 34.8 se muestra un diagrama de un instrumento (el Horiba CAPA-700) que puede lograr sedimentación por gravedad o mediante fuerza centrífuga. Los componentes consisten en un sistema óptico, una centrifugadora, circuitos de control y un sistema de cómputo.

El usuario puede seleccionar las velocidades de rotación o la computadora las puede establecer de forma automática. Estas velocidades corresponden a fuerzas centrífugas desde 8 G a 300 rpm hasta 9000 G a 10 000 rpm. Aquí, G es la constante gravitacional igual a $6.6742 \times 10^{-11} \text{ N m}^2/\text{kg}^2$. Dos celdas están montadas en el rotor; la de muestra se llena con la suspensión de

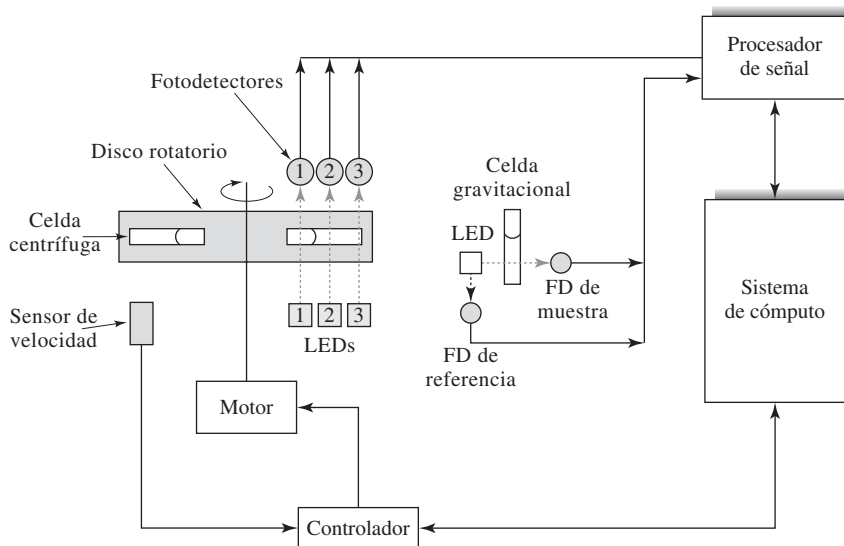


FIGURA 34.8 Diagrama del sistema de fotosedimentación. La unidad puede operar en el modo gravitacional o en el modo centrífugo. En el primero, la sedimentación se verifica mediante la fuente de diodo emisor de luz y el fotodetector de muestra (FD) que se observa a la derecha del diagrama. El fotodetector de referencia mide la intensidad del diodo emisor de luz. En el modo centrífugo, un motor hace girar el disco rotatorio a velocidades de 300 a 10 000 rpm. La sedimentación se supervisa mediante el par 2 de fotodetectores de diodo emisor de luz. Los fotodetectores 1 y 3 proveen señales de sincronización para la referencia y la muestra, respectivamente. Un sensor vigila la velocidad de rotación y alimenta la información al controlador del motor para mantener una velocidad constante. (Cortesía de Horiba, Ltd.)

la muestra y la de referencia opuesta se llena con un fluido de dispersión claro. La celda de referencia se usa para equilibrar la centrifugadora y proveer una referencia óptica constante. Diodos emisores de luz verdes (560 nm) proveen la radiación fuente. En el modo de centrifugado la fuente se ilumina de forma continua y en el modo gravitacional la fuente recibe pulsos a 15 Hz. La computadora supervisa y envía señales para controlar la velocidad del motor. El sistema de cómputo lleva a cabo también los cálculos apropiados, como se analizará más adelante.

Modos de sedimentación

La sedimentación en un campo gravitación se puede usar para partículas grandes. Sin embargo, no es recomendable para partículas con diámetro mucho menor que 5 μm . Para esta clase de partículas, el tiempo de sedimentación es tan largo que el movimiento browniano puede ser un contribuyente importante a la movilidad de la partícula. Con la sedimentación gravitacional, el único medio para variar la velocidad de la partícula es elegir un medio con viscosidad y densidad diferentes. La sedimentación centrífuga se usa para partículas más pequeñas. Algunos instrumentos usan incluso un *mo-*

do gradiente, en el cual la centrifugadora se acelera durante el análisis.

Determinación de la distribución

En la sedimentación gravitacional la concentración de partículas en la zona de medición es igual a la concentración inicial hasta que la partícula más grande presente en la suspensión se haya sedimentado en la zona. La concentración de partículas en la zona de medición en el tiempo t representa las partículas cuyo tamaño es menor o igual que el diámetro de Stokes d_{Stokes} . El diámetro de Stokes es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo, como lo demuestra la ecuación 34.13. Por lo tanto, una gráfica de la concentración contra d_{Stokes} representa la distribución de partículas de tamaño menor.

En la sedimentación centrífuga surge una complicación debido a que la velocidad de la partícula depende no sólo del tamaño de ésta, como en la sedimentación gravitacional, sino también de su posición radial. Como lo muestra la ecuación 34.14, la velocidad de la partícula se incrementa al aumentar la distancia radial r_a desde el eje de rotación. Debido a esto, la concentración de partículas por debajo de la zona de medición

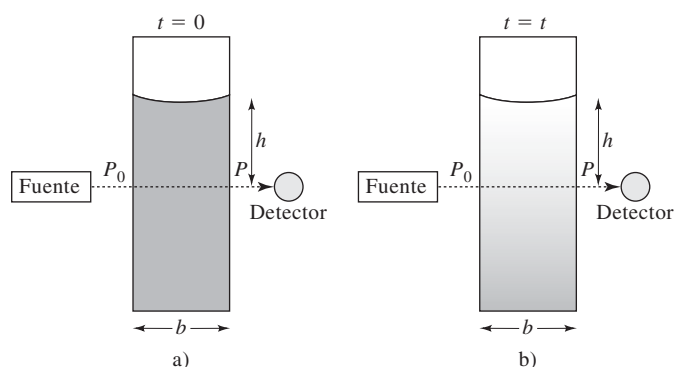


FIGURA 34.9 Determinación fotométrica de la distribución del tamaño de partícula. Las mediciones de las concentraciones de las partículas que sedimentan se hacen en función del tiempo al medir la absorbancia de la solución, $A_t = -\log (P/P_0)_t$. En este caso la suspensión se muestra en a) como una mezcla homogénea en $t = 0$ y después en b) a medida que sedimentan las partículas ($t = t$).

disminuye de forma exponencial con el tiempo de sedimentación. Esto se llama con frecuencia *efecto de dilución radial*. En la sedimentación centrífuga con suspensiones homogéneas, el efecto de dilución radial complica las matemáticas que se requieren para obtener una distribución del tamaño de partícula. Con algunas unidades se puede aplicar una corrección para la dilución radial en el modo de sedimentación centrífuga.⁶

Medición fotométrica

En la fotosedimentación, las mediciones de absorbancia de la solución se hacen como una función del tiempo a una distancia constante (campo de gravedad) o posición radial (campo centrífugo).⁷ La figura 34.9 muestra el principio de medición para un campo gravitacional. Para partículas suspendidas de concentración c en una celda de longitud de trayectoria b , la absorbancia de la solución en el tiempo t , A_t , está dada por

$$A_t = kcb \sum_{i=0}^{i=\text{Stokes}} K_i n_i d_i^2 \quad (34.17)$$

donde k es un factor de forma, K_i es el coeficiente de absorción para partículas de tamaño d_i , n_i es el número de partículas de tamaño d_i en una masa unitaria de polvo y d_{Stokes} es el diámetro de Stokes en el tiempo t .

Considere ahora un cambio pequeño en la absorbancia ΔA_i cuando el tiempo de sedimentación cambia de t a $t + \Delta$. Aquí, el diámetro de Stokes promedio en el haz es d_i , y se puede escribir

$$\frac{\Delta A_i}{K_i} = kcb n_i d_i^2 \quad (34.18)$$

Al medir los cambios de absorbancia como una función del tiempo, se obtiene la distribución acumulada de partículas de tamaño pequeño mediante manipulación matemática. Sin embargo, al convertir la ecuación 34.18 a la distribución de tamaño, es necesario saber que el coeficiente de absorción K varía con d_i . De otra manera, se puede usar un patrón externo para calibración. Si no se hace la corrección para las variaciones en K , los resultados son válidos sólo para fines de comparación.

Para la sedimentación centrífuga, en incremento, homogénea, la situación es mucho más compleja. En general, la absorbancia de la solución se supervisa como una función del tiempo. El diámetro de Stokes es de nuevo inversamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo de medición. Se debe aplicar una corrección de dilución radial. Los cambios de absorbancia medidos con el tiempo se relacionan entonces de modo matemático con la distribución del tamaño de partícula.

34D.3 Aplicaciones

La fotosedimentación se ha usado para determinar tamaños de partícula de polímeros, colorantes, preparaciones farmacéuticas y materiales biológicos. Se usa en control de calidad durante la producción de pinturas, alimentos y materiales cerámicos. En la industria farmacéutica, por ejemplo, una de las áreas actuales de interés es la entrega de medicina vía polvos de inhalación. Para éstos, se preparan partículas finas y se usan como polvos secos en un inhalador para entregar la medicina directamente a los pulmones (entrega pulmonar). Algunos procesos de preparación usan fluidos supercríticos para controlar la formación de polvo de una amplia variedad de sustancias químicas, como materiales inorgánicos y orgánicos, polímeros, péptidos y proteínas. Para polvos secos que se usarán como inhalantes, el tamaño de partícula debe estar dentro de un intervalo bastante limitado. Por consiguiente, se usan técnicas como la fotosedimentación para verificar los

⁶Horiba, Ltd: noticia para CAPA-500, U.S. versión de E.U., código 04169400, diciembre de 1993; véanse también las secciones 7.13 y 8.6.1 de T. Allen, *Particle Size Measurement*, vol. 1, 5a. ed., Londres: Chapman & Hall, 1997; H. J. Kamack, *Anal. Chem.*, **23**, p. 844 (1951).

⁷Véase T. Allen, *Particle Size Measurement*, vol. 1, 5a. ed., Londres: Chapman & Hall, 1997, pp. 269-327.

tamaños de partícula durante el proceso de preparación o para propósitos de control de calidad.

Con la inhalación de polvo seco, los fármacos basados en proteínas pueden entregarse sin ser descompuestos por el sistema digestivo antes de entrar en el torrente sanguíneo. Así, la entrega de medicamento en forma de polvo seco tiene ventajas sobre la inyección

intravenosa para varios tipos de preparaciones farmacéuticas. La entrega pulmonar de fármacos para tratar diabetes (insulina), esclerosis múltiple, fibrosis quística, anemia, asma y varias otras enfermedades ha sido puesta en práctica o está en desarrollo en la actualidad. El análisis del tamaño de partícula desempeña un papel importante en estos avances.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*Las respuestas de los problemas marcados con un asterisco se proporcionan al final del libro.



Los problemas que contienen este símbolo se resuelven mejor con hojas de cálculo.

- 34.1** ¿Qué es una distribución de tamaño de partícula normal? ¿Cuál es la distribución acumulada de tamaño de partícula?
- 34.2** ¿Cuál es el problema principal que presenta el análisis del tamaño de partícula?
- 34.3** ¿Qué cantidades se usan para describir el tamaño de partícula?
- 34.4** ¿De qué modo se tratan las partículas no esféricas en el análisis del tamaño de partícula?
- 34.5** ¿Por qué las comparaciones de tamaños de partícula entre diferentes técnicas instrumentales son sólo cualitativas?
- 34.6** Defina la dispersión de Mie. ¿Para qué tamaños de partícula se aplica la teoría de Mie?
- 34.7** ¿Qué es el patrón de Airy? ¿Cómo surge en la difracción?
- 34.8** ¿Qué es una distribución acumulada de partícula de tamaño pequeño?
- 34.9** Discuta las diferencias principales entre DDL y DLAB.
- *34.10** Se determinó que el coeficiente de difusión translacional de la enzima transcarbamilasa de aspartato en solución acuosa diluida es $3.75 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 20°C ($\eta = 1.002 \text{ cP}$). ¿Cuál es el diámetro hidrodinámico de las partículas? ¿Qué significa el diámetro hidrodinámico si las partículas no son esféricas?
- *34.11** Una molécula de proteína es aproximadamente esférica y tiene un diámetro hidrodinámico de $35 \mu\text{m}$. ¿Cuál es el coeficiente de difusión translacional de la proteína a 20°C en solución acuosa diluida?
- *34.12** En un lote particular de microesferas de poliestireno su diámetro es de $10.0 \mu\text{m}$ y su densidad 1.05 g cm^{-3} . En agua a 20°C ($\rho_F = 0.998 \text{ g cm}^{-3}$), ¿cuál será la velocidad de sedimentación de estas partículas en un campo gravitacional de $1 G$? ¿En qué tiempo la partícula se sedimentará 10 mm ?
- *34.13** Para esferas de poliestireno de $10.0 \mu\text{m}$ de diámetro en agua a 20°C , ¿cuánto tiempo tomará para que las partículas se muevan desde un radio inicial de 70 mm hasta un radio analítico de 80 mm en un campo centrífugo de $10\,000 \text{ rpm}$? ¿Cuál es la aceleración centrífuga en G a $10\,000 \text{ rpm}$?
- *34.14** Una partícula de poliestireno se sedimenta pasando de un radio inicial de 70 mm a un radio analítico de 80 mm en 2.9 s en un campo centrífugo de $9000 G$. Si la partícula está en solución acuosa a 20°C , ¿cuál es el diámetro de Stokes?

Problema de reto

- 34.15** a) Use un buscador de Internet para hallar instrumentos de difracción láser hechos por una compañía comercial (intente Malvern, Sympatec, Shimadzu, Beckman Coulter u Horiba). Elija un instrumento específico y describa su operación. ¿Qué láser usa? ¿Cuál es el sistema de detección? Dé los valores típicos de exactitud y precisión.
- b) ¿Qué intervalos de tamaño de partícula determina el instrumento que eligió?
- c) ¿Qué tipos de accesorios de muestreo están disponibles para el instrumento? ¿Qué celdas de muestra están disponibles?
- d) ¿Cuál es el tamaño del instrumento?
- e) ¿Qué modelos usa el programa de cómputo para determinar los tamaños de partícula?
- f) ¿Están disponibles algunas opciones para automatizar el análisis del tamaño de partícula?
- g) Use un buscador para hallar un artículo en el que se utilice la difracción láser para determinar tamaños de partícula. Describa el método con detalle.

El caso John Vollman

Introducción

El caso John Vollman en Nueva Brunswick, Canadá, en 1958 fue el primer asesinato en el que el análisis de activación de neutrones (AAN), denominado entonces en la prensa como “evidencia atómica”, desempeñó un papel importante en el resultado. Desde entonces, el AAN ha sido usado y aceptado ampliamente en la ciencia forense para determinar elementos en trazas.

El crimen

En mayo de 1958, una adolescente de 16 años, Gaetane Bouchard, salió de su casa en la tarde para ir de compras en el pequeño pueblo de Nueva Brunswick de Edmundston. Cuando no volvió a casa a las 8 p.m., su papá llamó por teléfono a varios de sus amigos, preguntándoles si sabían dónde estaba. Algunos de ellos mencionaron que podría haber estado con su ex novio, John Vollman, quien vivía al otro lado de la frontera, en Madawaska, Maine. El señor Bouchard cruzó la frontera y fue a ver a Vollman, de 20 años de edad, que trabajaba en el turno nocturno en una planta impresora. Vollman afirmó que él y Gaetane ya no se veían y que ahora estaba comprometido con otra mujer.

Cuando Bouchard regresó a Edmundston, llamó a la policía y comenzó entonces la búsqueda de su hija. Algunos amigos le aconsejaron buscar en una mina de grava abandonada fuera del pueblo. Se trataba de un sitio al que acudían las parejas jóvenes para tener relaciones. La linterna de Bouchard pronto iluminó un zapato de gamuza que él reconoció como de Gaetane. Pocos minutos después encontró el cuerpo de su hija. Había sido apuñalada repetidamente en el pecho y la espalda y arrastrada después para dejarla morir. Se notificó a la policía y se aseguró el lugar como escena del crimen.

La evidencia

La policía halló un charco de sangre y huellas de llanta donde comenzó el ataque que sufrió Gaetane. Mientras tomaban impresiones de las huellas, uno de los policías observó dos pequeños trozos de pintura verde desprendidos posiblemente de un automóvil que rozó las rocas al salir a toda prisa.

Al día siguiente se hizo una reconstrucción de los movimientos de Gaetane en las horas que condujeron a su

asesinato. A las 4 p.m. compró chocolate en un restaurante local. Poco después, se le vio hablando con el conductor de un Pontiac verde tenue con placas de Maine. Cerca de una hora después, dos amigas la vieron sentada en un Pontiac verde. Otro testigo vio un automóvil verde estacionado en la mina de grava entre las 5 y las 6 p.m. El médico forense atribuyó la muerte a las múltiples puñaladas y estableció la hora del fallecimiento alrededor de las 7 p.m.

Los detectives entrevistaron después a Vollman en su lugar de trabajo y examinaron su Pontiac verde 1952 recién comprado. Hallaron un trozo de pintura en forma de corazón que faltaba debajo de la puerta del pasajero y que coincidía perfectamente con el trozo de pintura hallado en la escena del crimen tanto en la inspección visual como microscópica realizada después. El automóvil reveló todavía más evidencia. Dentro de la guantera había una mitad de barra de chocolate, idéntica al tipo que Gaetane había comprado en el restaurante.

Sin embargo, la pieza más importante de evidencia se halló sujeta fuertemente en la mano de la muchacha cuando se le realizó la autopsia. Entrelazada entre sus dedos estaba un cabello humano de un poco más de cinco pulgadas de largo. Los detectives dedujeron de inmediato que Gaetane había arrancado el cabello del asesino cuando forcejeó para liberarse. La dificultad era determinar ahora si el cabello encontrado provenía de Vollman.

Resultados del análisis de activación de neutrones

Para establecer si el cabello hallado en la mano de Gaetane pertenecía al sospechoso, los investigadores recurrieron a la técnica recién introducida y un poco controversial del análisis de activación de neutrones. Éste puede identificar y determinar cantidades en trazas de hasta 14 elementos en un solo cabello. Los cálculos teóricos han demostrado que la probabilidad de que dos individuos tengan las mismas concentraciones de nueve de estos elementos es de casi una en un millón. En muchos casos, las relaciones de concentraciones de dos elementos son bastante indicativas del cabello de una misma persona. El análisis de activación de neutrones se ha empleado también para determinar la presencia de venenos, como el arsénico, en el cabello de las víctimas.

En el caso Vollman, las muestras de cabello del sospechoso y de la víctima se compararon con el cabello hallado en la mano de Gaetane. Para identificar el pelo, se midió la relación de la intensidad de rayos gamma entre azufre y fós-

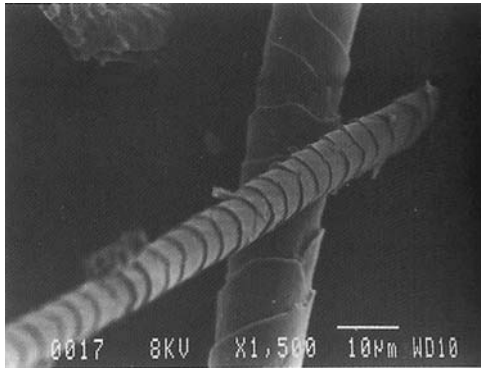


FIGURA IA6.1 Microfotografía tomada con un microscopio electrónico de barrido de un cabello humano (la hebra más delgada de la izquierda) comparado con un pelo de gato. (Tomado de D. Owen, *Hidden Evidence: 40 True Crimes and How Forensic Science Helped Solve Them*. Buffalo, NY: Firefly Books, 2000.)

foro (S/P). En el caso de la víctima se halló que la relación era 2.02. La muestra hallada en la mano de Gaetane tuvo una relación de intensidad de S/P de 1.02, mientras que la de Vollman registró 1.07. A partir de estas mediciones se concluyó que el pelo no pertenecía a Gaetane, pero que correspondía de manera cercana con el del sospechoso.¹ Al analizar la evidencia en el microscopio electrónico de barrido, similar a la que se muestra en la figura IA6.1, se determinó también que el cabello era del sospechoso.

El juicio

John Vollman fue procesado por asesinato en Edmondston en noviembre de 1958. Se declaró inocente y parecía muy confiado de que no se permitiría usar la evidencia atómica. A pesar de las vigorosas objeciones de la defensa, se admitió la evidencia del AAN. Los científicos, ansiosos de explicar el procedimiento del AAN, tomaron el estrado del testigo. El estado de ánimo de la corte cambió de modo tan dramático en contra de Vollman que se declaró culpable de homicidio involuntario. Admitió haber matado a Gaetane,

pero no de manera intencional. Afirmó que en un principio ella se le insinuó, pero después se arrepintió. Vollman dijo que cuando comenzaron a pelear perdió el conocimiento. El jurado no creyó su historia y lo declaró culpable. Fue sentenciado a muerte, aunque la sentencia fue cambiada después por cadena perpetua. John Vollman fue el primer criminal sentenciado con base en la nueva técnica de análisis de activación de neutrones.

Análisis de activación de neutrones en la ciencia forense

Aunque posee increíble sensibilidad y selectividad, el análisis de activación de neutrones nunca ha ganado gran popularidad en la ciencia forense. Por supuesto, la principal razón es que el AAN es caro y requiere tener acceso a un reactor nuclear. En la actualidad, el AAN ha sido reemplazado en el análisis de cabello por la huella digital de ADN.² La cantidad de ADN que se halla en la raíz de un cabello humano es suficiente para determinar la huella de ADN. Este tipo de técnicas son mucho menos caras y están disponibles con más facilidad que el análisis de activación de neutrones.

No obstante, el análisis de activación de neutrones ha sido bastante útil en situaciones forenses especiales. Por ejemplo, se le ha usado para determinar trazas de metales en residuos de disparo depositados en las manos de sospechosos y fragmentos metálicos tomados de las heridas de las víctimas. Durante la investigación del asesinato del presidente John F. Kennedy, por ejemplo, los científicos forenses emplearon el AAN para determinar plata y antimonio en las balas recuperadas y en los fragmentos metálicos de las heridas del presidente Kennedy y el gobernador John Connally. Las concentraciones de estos elementos traza varían de modo significativo de una bala a la siguiente, pero son bastante similares en piezas de metal de una sola bala. Los resultados del AAN indicaron que una sola bala había herido a los dos hombres. La segunda bala había hecho impacto sólo en el presidente Kennedy. Se concluyó también casi con certeza que las dos balas fueron disparadas por la misma arma.³

¹C. Evans, *The Casebook of Forensic Detection: How Science Solved 100 of the World's Most Baffling Crimes*. Nueva York: Wiley, 1996.

²D. Owen, *Hidden Evidence: 40 True Crimes and How Forensic Science Helped Solve Them*. Buffalo, NY: Firefly Books, 2000.

³P. Moore, *The Forensics Handbook: The Secrets of Crime Scene Investigation*. Nueva York: Barnes & Noble Books, 2004.

APÉNDICE UNO EVALUACIÓN DE DATOS ANALÍTICOS

En este apéndice se describen los tipos de errores que aparecen en química analítica y la manera en que se evalúan y presentan sus magnitudes.¹ El cálculo de la exactitud probable de los resultados es una parte vital en cualquier análisis porque los datos cuya confiabilidad es desconocida son inútiles.

a1A PRECISIÓN Y EXACTITUD

Existen dos términos que se utilizan ampliamente en las discusiones sobre la confiabilidad de los datos, precisión y exactitud.

a1A.1 Precisión

La *precisión* describe la reproducibilidad de los resultados; es decir, la concordancia entre los valores numéricos de dos o más mediciones repetidas o que se han efectuado *exactamente de la misma forma*. En general, la precisión de un método analítico se obtiene con facilidad mediante la simple repetición de la medida.

Se utilizan tres términos para describir la precisión de un conjunto de datos repetidos: desviación estándar, varianza y coeficiente de variación. Estos términos tienen importancia estadística y se definen en la sección a1B.1.

a1A.2 Exactitud

La *exactitud* describe si un resultado experimental es correcto expresado como la cercanía de la medición a un valor verdadero o aceptado. La exactitud es un término relativo en el sentido de que un método es exacto o inexacto dependiendo en gran medida de las necesidades del científico y de las dificultades del problema analítico. Por ejemplo, un método analítico con el cual se obtienen resultados que se encuentran comprendidos entre $\pm 10\%$, o una parte por mil millones, de la cantidad correcta de mercurio presente en una muestra de tejido de pescado que contiene 10 partes por mil millones de metal se consideraría de una exactitud ra-

zonable. Por el contrario, un procedimiento con el que se obtienen resultados comprendidos entre $\pm 10\%$ de la cantidad correcta de mercurio presente en una veta que contiene 20% del metal, se juzgaría como inaceptable por inexacto.

La exactitud se expresa en función del error absoluto o del error relativo. El *error absoluto* E de la media o promedio $\bar{x}$ de un pequeño conjunto de análisis repetidos se expresa mediante la relación

$$E = \bar{x} - x_t \quad (\text{a1.1})$$

donde x_t es el valor verdadero o aceptado de la cantidad que está en proceso de medición. Con frecuencia, es útil expresar la exactitud en términos del *error relativo* E_r , donde

$$E_r = \frac{\bar{x} - x_t}{x_t} \times 100\% \quad (\text{a1.2})$$

A menudo, el error relativo se expresa en forma de porcentaje como se muestra; en otros casos, el cociente se multiplica por 1000, y no por 100%, para dar el error en partes por mil. Observe que ambos errores, absoluto y relativo, llevan un signo; si es positivo indica que el resultado medido es mayor que el valor verdadero y un signo negativo expresa el caso contrario.

Existen dos tipos de errores, *errores aleatorios*, con frecuencia llamados *errores indeterminados* y *errores sistemáticos* o *determinados*.² El error aleatorio tiene el símbolo E_d y el error sistemático el de E_s . El error en la media de un conjunto de mediciones repetidas es la suma de estos dos tipos de errores:

$$E = E_d + E_s \quad (\text{a1.3})$$

Errores aleatorios

Siempre que en una misma muestra se repiten las mediciones analíticas, se obtiene una dispersión de los datos similar a la que se observa en la tabla a1.1 debido

¹Para más detalles, véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

²Un tercer tipo de error que se produce en ocasiones es el *error total*, a veces denominado grueso, que surge en la mayoría de las ocasiones a causa de un error humano, por ejemplo, inversión de números al registrar los datos, derrame de una muestra, uso de una escala del medidor que no era la apropiada, introducción accidental de contaminantes e inversión del signo en la lectura del medidor. Un error de este tipo en un conjunto de mediciones repetidas aparecerá como un resultado discordante, atípico, es decir, un dato que es muy diferente del resto del conjunto. En este estudio no se considera este error.

TABLA a1.1 Mediciones repetidas de absorbancia.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Mediciones repetidas de absorbancia*							
2	Ensayo	Absorbancia		Ensayo	Absorbancia		Ensayo	Absorbancia
3	1	0.488		18	0.475		35	0.476
4	2	0.480		19	0.480		36	0.490
5	3	0.486		20	0.494		37	0.488
6	4	0.473		21	0.492		38	0.471
7	5	0.475		22	0.484		39	0.486
8	6	0.482		23	0.481		40	0.478
9	7	0.486		24	0.487		41	0.486
10	8	0.482		25	0.478		42	0.482
11	9	0.481		26	0.483		43	0.477
12	10	0.490		27	0.482		44	0.477
13	11	0.480		28	0.491		45	0.486
14	12	0.489		29	0.481		46	0.478
15	13	0.478		30	0.469		47	0.483
16	14	0.471		31	0.485		48	0.480
17	15	0.482		32	0.477		49	0.483
18	16	0.483		33	0.476		50	0.479
19	17	0.488		34	0.483			
20	*Los datos están en el orden en que se obtuvieron							
21	Media	0.482		Máximo	0.494			
22	Mediana	0.482		Mínimo	0.469			
23	Des. Est.	0.0056		Dispersión	0.025			

a la presencia de errores aleatorios o indeterminados; dicho de otra forma, la presencia de *errores aleatorios* se refleja en la imprecisión de los datos.³ Los datos de las columnas B, E y H de la tabla son las absorbancias (sección 13A) obtenidas 50 veces con un espectrofotómetro en soluciones de color rojo producidas al tratar muestras acuosas idénticas que contienen 10 ppm de Fe(III) con un exceso de ion tiocianato. Las absorbancias medidas son directamente proporcionales a la concentración de hierro.

La distribución de los errores aleatorios de los datos se comprende mejor si éstos se organizan en grupos o celdas contiguos, de igual tamaño, como se muestra en la tabla a1.2. La frecuencia relativa con que aparecen los datos en cada celda se representa en la figura a1.1A como un diagrama de barras llamado *histograma*.

Es razonable suponer que si el número de análisis fuera mucho mayor, el histograma se aproximaría a la forma de la curva continua que se muestra como la

TABLA a1.2 Distribución de la frecuencia de los datos de acuerdo con la tabla a1.1.

Intervalo de la absorbancia, A	Número en el intervalo, y	Frecuencia relativa, y/N ^a
0.469–0.471	3	0.06
0.472–0.474	1	0.02
0.475–0.477	7	0.14
0.478–0.480	9	0.18
0.481–0.483	13	0.26
0.484–0.486	7	0.14
0.487–0.489	5	0.10
0.490–0.492	4	0.08
0.493–0.495	1	0.02

^aN = cantidad total de mediciones = 50.

gráfica B de la figura a1.1. Esta gráfica es una *curva gaussiana*, o *curva de error normal*, la cual se aplica a una cantidad infinitamente grande de datos. Se observó de manera empírica que los resultados de los análisis químicos repetidos se distribuyen con frecuencia de una forma que se aproxima a la gaussiana o normal.

³Para mayor información acerca de la aplicación de las hojas de cálculo para evaluar datos analíticos consulte S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

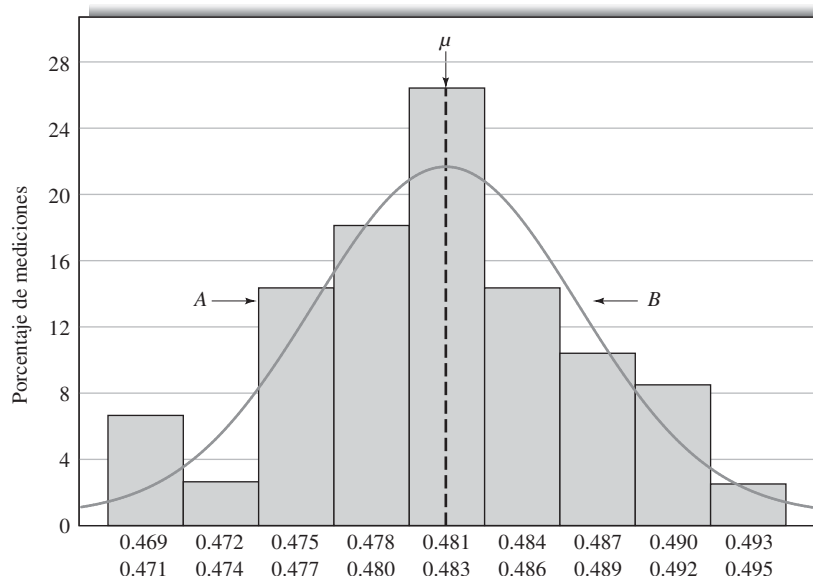


FIGURA a1.1 A, histograma en el que se puede ver la distribución de los 50 resultados de la tabla a1.1. B, curva gaussiana de datos con la misma media y desviación estándar que los de A.

La frecuencia de distribución que presenta una curva gaussiana tiene las siguientes características:

1. El resultado que se observa con mayor frecuencia es la media μ del conjunto de los datos.
2. Los resultados se agrupan de forma simétrica alrededor de este valor medio.
3. Es más frecuente encontrar pequeñas divergencias respecto al valor medio central que grandes divergencias.
4. En ausencia de errores sistemáticos, la media de un conjunto grande de datos se aproxima al valor verdadero.

La cuarta característica significa que, en principio, es siempre posible reducir el error aleatorio de un análisis a un valor próximo a cero. Pero rara vez es práctico alcanzar esta meta, por desgracia, porque para conseguirlo es necesario ejecutar 20 o más análisis repetidos. Por lo regular, sólo se tiene tiempo para realizar dos o tres mediciones, y con un número tan pequeño es de esperar un error aleatorio importante en la media.

Por lo regular, los estadísticos utilizan μ para representar la media de una colección infinita de datos (véase figura a1.1, curva B) y $\bar{x}$ para la media de un conjunto pequeño de datos repetidos. En ausencia de un error sistemático, el error total E es precisamente el error aleatorio E_d (ecuación a1.3). Entonces, el error de la media de un conjunto pequeño es

$$E = \bar{x} - \mu \quad (\text{a1.4})$$

La media de un conjunto finito de datos se acerca con rapidez a la media verdadera cuando el número de

medidas N aumenta por encima de 20 o 30. Por tanto, como se muestra en el ejemplo siguiente, a veces es posible determinar el error aleatorio en un dato individual o en la media de un conjunto pequeño de datos.

EJEMPLO a1.1

Calcule el error aleatorio para a) el segundo dato de la tabla a1.1 y b) la media de las tres primeras entradas de la misma tabla.

Solución

Para los 50 resultados se puede suponer que la media $\bar{x} = 0.482 \approx \mu$.

- a) El error aleatorio para el dato 2 con valor x_2 es

$$E = x_2 - \mu = 0.480 - 0.482 = -0.002$$

- b) La media $\bar{x}$ para los tres primeros resultados de la tabla es

$$\bar{x} = \frac{0.488 + 0.480 + 0.486}{3} = 0.485$$

Al sustituir en la ecuación a1.4 se tiene

$$E = \bar{x} - \mu = 0.485 - 0.482 = +0.003$$

La naturaleza aleatoria de los errores indeterminados hace posible tratarlos por métodos estadísticos. Las técnicas estadísticas se consideran en la sección a1B.

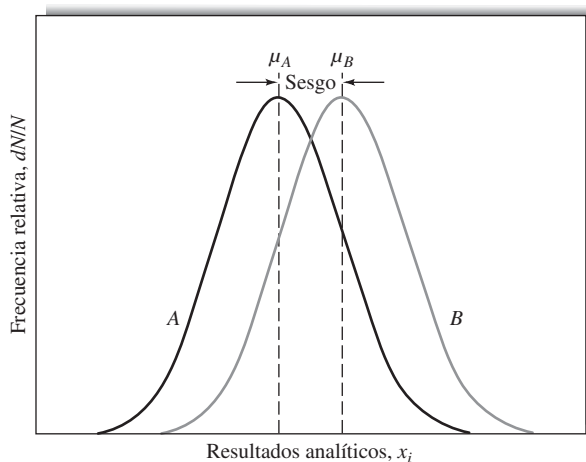


FIGURA a1.2 Ilustración del error sistemático en los resultados analíticos. La curva A es la distribución de la frecuencia para el valor aceptado por el Método A, el cual carece de sesgo. La curva B representa la distribución de resultados por el Método B, el cual tiene un sesgo significativo $= \mu_B - \mu_A$.

Errores sistemáticos

Los *errores sistemáticos* tienen un valor definido y una causa asignable y son de la misma magnitud para mediciones repetidas que se efectúan de la misma forma. Los errores sistemáticos llevan a un *sesgo* en el resultado de la medición. El sesgo se ilustra mediante dos curvas en la figura a1.2, lo que muestra la distribución de frecuencias de los resultados repetidos en el análisis de muestras idénticas por dos métodos que tienen errores aleatorios idénticos. El método A no tiene sesgo, por tanto, la media μ_A es el valor verdadero. El método B tiene un sesgo que viene dado por

$$\text{sesgo} = \mu_B - \mu_A \quad (\text{a1.5})$$

Observe que el sesgo afecta a todos los datos del conjunto y que lleva signo.

Los errores sistemáticos son de tres tipos: instrumentales, personales y de método.

Errores instrumentales. Los *errores instrumentales* son originados por el mal funcionamiento de los instrumentos, calibraciones defectuosas o por el uso en condiciones inapropiadas. Entre las fuentes características de los errores instrumentales están la deriva en los circuitos electrónicos, las fugas en los sistemas de vacío, los efectos de la temperatura en los detectores, las corrientes inducidas en los circuitos de las líneas de corriente de 110 V, el descenso del voltaje de las baterías con el uso y los errores de calibración en los medidores, balanzas y equipos volumétricos.

Los errores instrumentales sistemáticos se detectan y se corrigen mediante la calibración con patrones adecuados. Siempre es deseable hacer una calibración

periódica de los instrumentos porque la respuesta de la mayoría de ellos cambia con el tiempo como consecuencia del uso, la corrosión o el trato inadecuado.

Errores personales. Son aquellos que se introducen en una medición como consecuencia de los criterios que debe adoptar el analista. Entre los ejemplos está el cálculo de la posición de un indicador entre dos divisiones de la escala, el color de una solución en el punto final de una titulación, el nivel de líquido respecto de la graduación en una pipeta o la intensidad relativa de dos haces de luz. Las decisiones de este tipo están a menudo sujetas a incertidumbres sistemáticas, unidireccionales. Por ejemplo, una persona puede dar siempre una lectura alta para un puntero; otra puede ser ligeramente lenta al activar el cronómetro y una tercera puede ser menos sensible al color.

El sesgo numérico es otra fuente de error sistemático personal que aparece a menudo y varía considerablemente de una persona a otra. El sesgo que se encuentra con mayor frecuencia al estimar la posición de la aguja en una escala es una preferencia por los dígitos 0 y 5. También es corriente la preferencia por los dígitos pequeños en lugar de los grandes e incluso de los pares sobre los impares. Los sistemas de lectura con pantallas digitales e instrumentos computarizados eliminan el sesgo numérico.

Una fuente de error personal casi universal es el *prejuicio*. Muchas personas, independiente de su honradez, tienen una tendencia natural a estimar la lectura de la escala en la dirección que mejora la precisión del conjunto de resultados o en la que hace que el resultado sea próximo a una noción preconcebida del valor verdadero para la medida.

Gran parte de los errores personales puede reducirse al mínimo con cuidado y autodisciplina. Por tanto, la mayoría de los científicos desarrolla el hábito de comprobar de manera sistemática por duplicado las lecturas de los instrumentos, las anotaciones en el cuaderno de notas y los cálculos. Los robots, los sistemas automatizados, la recolección de datos y el control de los instrumentos por medio de computadoras tienen la posibilidad de reducir al mínimo o eliminar casi todos los errores sistemáticos de tipo personal.

Errores de método. A menudo los *errores de método* aparecen como consecuencia del comportamiento químico o físico no ideal de los reactivos y de las reacciones en las que se basa un análisis. Entre las fuentes potenciales están las reacciones químicas lentas o incompletas, las pérdidas por volatilidad, la adsorción del analito sobre sólidos, la inestabilidad de los reactivos, contaminantes e interferencias químicas.

Por lo regular, los errores sistemáticos de método son más difíciles de detectar y corregir que los errores instrumentales y personales. La mejor forma y la más

segura requiere la *validación* del método mediante el empleo en el análisis de materiales patrón o de referencia que se parezcan a las muestras por analizar, tanto en su estado físico como en su composición química. Es obvio que las concentraciones de los analitos de estos patrones deben conocerse con un alto grado de certeza. En el caso de materiales sencillos, los patrones se pueden preparar a veces mezclando cantidades de compuestos puros medidas con cuidado. Es una lástima que los materiales por analizar sean lo suficientemente complejos para descartar esta solución sencilla.

El *National Institute of Technology and Standards* (NIST) tiene a la venta una variedad de *materiales de referencia certificados* que se han preparado específicamente para la validación de métodos analíticos.⁴ La concentración de uno o más de los componentes de estos materiales se ha determinado mediante 1) un método de referencia previamente validado, 2) dos o más métodos de medida confiables e independientes, o 3) los análisis por una red de laboratorios, técnicamente competentes y muy familiarizados con el material por examinar. La mayoría de los materiales de referencia son sustancias que se encuentran sin dificultad en el comercio o en estudios ambientales, de contaminación, clínicos, biológicos o forenses. Algunos ejemplos son elementos traza en carbón, combustibles, partículas de material urbano, sedimentos de estuarios y aguas; plomo en muestras de sangre; colesterol en suero humano; drogas en orina, y una gran variedad de elementos en rocas, minerales y vidrios. Además, varias casas comerciales ofrecen ahora una variedad de materiales analizados para la verificación del método.⁵

a1B TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS ERRORES ALEATORIOS

Los datos distribuidos aleatoriamente, del tipo que ya se describió, se analizan de manera conveniente mediante técnicas estadísticas que se estudian en los próximos apartados.⁶

⁴Véase U.S. Department of Commerce, *NIST Standard Reference Materials Catalog*, 1998-1999 ed., NIST Special Publication 260-98-99. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1998. Si desea una descripción de los programas de los materiales de referencia de NIST véase R. A. Alvarez, S. D. Rasberry y G. A. Uriano, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, p. 1226A; véase también <http://www.nist.gov>.

⁵Por ejemplo, para el campo de las ciencias biológicas y clínicas, véase Sigma Chemical Co., 3050 Spruce St., St. Louis, MO 63103 y Bio-Rad Laboratories, 1000 Alfred Nobel Dr., Hercules, CA 94547.

⁶Para un estudio más detallado de la estadística véase J. L. Devore, *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*, 6a. ed., Pacific Grove, CA: Duxbury Press at Brooks/Cole, 2004; D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004, caps. 5-7; S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

a1B.1 Poblaciones y muestras

En el tratamiento estadístico de datos se supone que el grupo de resultados experimentales obtenidos en el laboratorio es una fracción diminuta del número infinito de resultados que, en principio, podrían obtenerse si se dispusiera de un tiempo infinito y de una cantidad de muestras infinita. Los estadísticos llaman a este grupo de datos una *muestra* y la consideran como un subconjunto de una *población* infinita o *universo*. Las leyes estadísticas sólo se pueden aplicar con rigor a las poblaciones; cuando dichas leyes se aplican a una muestra de datos de laboratorio, se tiene que dar por sentado que la muestra representa en verdad a la población. Como no hay seguridad de que esta suposición sea válida, las afirmaciones acerca de los errores aleatorios son necesariamente inciertas y deben expresarse en términos de probabilidades.

Definiciones de algunos términos que se usan en estadística

Media de la población (μ). La *media de la población* o media poblacional, a veces también llamada *media límite*, de un conjunto de datos repetidos se define mediante la ecuación

$$\mu = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (\text{a1.6})$$

donde x_i representa el valor de la i -ésima medición. Como lo indica esta ecuación, la media de un conjunto de mediciones se aproxima a la media de la población cuando N , el número de medidas, tiende a infinito. Es importante añadir que en ausencia de error sistemático, μ es el valor verdadero de la cantidad medida.

Media de la muestra ($\bar{x}$). La media de la muestra es la media o promedio de un conjunto finito de datos, está definida por

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (\text{a1.7})$$

Como N en este caso, es un número finito, $\bar{x}$ difiere con frecuencia un poco de la media de la población μ , y, por consiguiente, del verdadero valor de la cantidad medida. El uso de un símbolo diferente para la media de la muestra enfatiza esta importante distinción.

Desviación estándar de la población (σ) y varianza de la población (σ^2). La desviación estándar de la población y la varianza de la población proporcionan medidas estadísticamente significativas de la precisión de

los datos de una población. La desviación estándar de la población se representa mediante la ecuación

$$\sigma = \sqrt{\lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}} \quad (\text{a1.8})$$

donde x_i representa otra vez el valor de la i -ésima medida. Observe que la desviación estándar de la población es la raíz cuadrática media de las *desviaciones individuales respecto a la media* de la población.

La precisión de los datos se expresa a menudo en términos de la *varianza* (σ^2), que es el cuadrado de la desviación estándar. En el caso de que existan fuentes independientes de error aleatorio, las varianzas son con frecuencia aditivas. Es decir, si hay n fuentes independientes, entonces la varianza total σ_t^2 se representa por medio de

$$\sigma_t^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \cdots + \sigma_n^2 \quad (\text{a1.9})$$

donde $\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_n^2$ son las varianzas individuales de las fuentes de error.

Observe que la desviación estándar tiene las mismas unidades que los datos, en tanto que la varianza tiene las unidades de los datos al cuadrado. Los científicos prefieren describir la precisión de las medidas en términos de la desviación estándar y no de la varianza. Es más fácil relacionar una medición y su precisión si ambas tienen las mismas unidades.

Desviación estándar de la muestra (s) y varianza de la muestra (s^2). La *desviación estándar* de una muestra de datos de tamaño limitado se expresa con la ecuación

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (\text{a1.10})$$

Observe que la desviación estándar de la muestra difiere en tres aspectos de la desviación estándar de la población, de acuerdo con la definición de la ecuación a1.8. Primero, σ se ha reemplazado por s con el objetivo de enfatizar la diferencia entre los dos términos. Segundo, la media verdadera μ se ha reemplazado por $\bar{x}$, la media de la muestra. Por último ($N - 1$), que se define como *el número de grados de libertad*, aparece en el denominador en lugar de N .⁷

Desviación estándar relativa (RSD) y coeficiente de variación (CV). Las desviaciones estándar relativas

proporcionan más información que las desviaciones estándar absolutas. La desviación estándar relativa de una muestra de datos es

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \times 10^z \quad (\text{a1.11})$$

Cuando $z = 2$, la desviación estándar relativa se expresa como un porcentaje (%); cuando es igual a 3, la desviación se da en tanto por mil. La desviación estándar relativa, expresada como un porcentaje también se conoce como *coeficiente de variación* (CV) de los datos. Es decir,

$$\text{CV} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad (\text{a1.12})$$

En lo que concierne con una población de datos, se usan, σ y μ en lugar de s y $\bar{x}$ en las ecuaciones a1.11 y a1.12.

Otra opción para calcular las desviaciones estándar.

Por lo general, las calculadoras científicas tienen incorporada la función desviación estándar. Muchas pueden determinar la desviación estándar de la población σ así como la desviación estándar de la muestra s . En el caso de varios conjuntos pequeños de datos, se debe usar la desviación estándar de la muestra.

Para determinar s con ayuda de una calculadora que no tiene tecla de desviación estándar, es más fácil usar la siguiente forma de la ecuación a1.10 en vez de la original:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^N x_i\right)^2}{N}}{N - 1}} \quad (\text{a1.13})$$

En el ejemplo a1.2 se ilustra el uso de la ecuación a1.13 para determinar s .

EJEMPLO a1.2

Los resultados siguientes se obtuvieron en la determinación repetida del contenido de plomo en una muestra de sangre: 0.752, 0.756, 0.752, 0.751 y 0.760 ppm Pb. Calcule la media, la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los datos.

Solución

Con la aplicación de la ecuación a1.13 se determina $\sum x_i^2$ y $(\sum x_i)^2/N$.

⁷Por definición, el número de grados de libertad es el número de valores que se mantienen independientes cuando se calcula s . Cuando la media de la muestra $\bar{x}$ se usa en el cálculo, sólo $N - 1$ valores son independientes, porque se puede obtener un valor a partir de la media y de los otros valores.

Muestra	x_i	x_i^2
1	0.752	0.565504
2	0.756	0.571536
3	0.752	0.565504
4	0.751	0.564001
5	0.760	0.577600
$\sum x_i = 3.771$		$\sum x_i^2 = 2.844145$

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} = \frac{3.771}{5} = 0.7542 \approx 0.754 \text{ ppm Pb}$$

$$\frac{(\sum x_i)^2}{N} = \frac{(3.771)^2}{5} = \frac{14.220441}{5} = 2.8440882$$

Al sustituir en la ecuación a1.13 se tiene

$$s = \sqrt{\frac{2.844145 - 2.8440882}{5 - 1}} = \sqrt{\frac{0.0000568}{4}} = 0.00377 \approx 0.004 \text{ ppm Pb}$$

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0.00377}{0.7542} \times 100\% = 0.5\%$$

Observe en el ejemplo a1.2 que la diferencia entre $\sum x_i^2$ y $(\sum x_i)^2/N$ es muy pequeña. Si se hubieran redondeado estos números antes de hacer la sustracción, habría surgido un error grave en el cálculo del valor de s . Con el fin de evitar esta fuente de error, *nunca redondee un cálculo de desviación estándar, sino hasta el final*. Además, y por esta misma razón, nunca use la ecuación a1.13 para calcular la desviación estándar de números que contienen cinco o más dígitos. Aplique la ecuación a1.10.⁸ Muchas calculadoras y computadoras con la función desviación estándar usan una versión de la ecuación a1.13 para efectuar este cálculo. Siempre debe estar alerta ante los errores por redondeo cuando calcule la desviación estándar de valores que tienen cinco o más cifras significativas.

Además de las calculadoras, los programas para computadora se usan ampliamente para los cálculos estadísticos. Los programas para hojas de cálculo, como Microsoft® Excel, determinan con rapidez una variedad de cantidades estadísticas.⁹ Entre los programas con más aceptación, especiales para estadística, están MINITAB, SAS, SYSTAT, Origin, STATISTICA, SigmaStat, SPSS y STATGRAPHICS Plus. Además de

⁸En la mayoría de los casos, los primeros dos o tres datos de un conjunto de valores son idénticos entre sí. Entonces, una opción al aplicar la ecuación a1.10 es eliminar los dígitos idénticos y usar los restantes con la ecuación a1.13. Por ejemplo, la desviación estándar de los datos del ejemplo a1.2 se podría basar en 0.052, 0.056, 0.052 y así sucesivamente (o hasta en 52, 56, 52, etc.).

⁹S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

los cálculos comunes de estadística, estos programas son capaces de ejecutar análisis de mínimos cuadrados, regresión no lineal y muchas otras funciones avanzadas.

La ley de error normal

En estadística gaussiana se supone que los resultados de las mediciones repetidas en los que aparecen errores indeterminados se distribuyen de acuerdo con la ley de error normal, que establece que la fracción de una población de observaciones dN/N , cuyos valores se encuentran dentro de la región x a $(x + dx)$ es

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(x-\mu)^2/2\sigma^2} dx \quad (\text{a1.14})$$

En este caso, μ y σ son la media y la desviación estándar de la población, y N es el número de observaciones. Las dos curvas que se muestran en la figura a1.3a son representaciones gráficas de la ecuación a1.14. La desviación estándar de los datos representados en la curva B es el doble que la de los datos representados en la curva A .

Tenga en cuenta que $(x - \mu)$ en la ecuación a1.14 es la *desviación absoluta de los valores individuales de x respecto a la media* en las unidades que se utilizaron en la medición. Sin embargo, a menudo es más conveniente expresar las desviaciones respecto a la media en unidades de la variable z , donde

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (\text{a1.15})$$

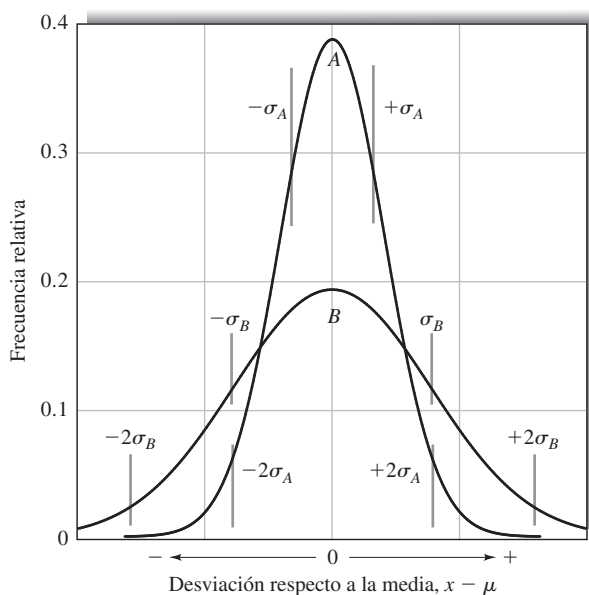
Note que z es la desviación de un punto-dato desde la media relativa hasta una desviación estándar. Es decir, cuando $x - \mu = \sigma$, z es igual a 1; cuando $x - \mu = 2\sigma$, z es igual a 2, y así sucesivamente. Puesto que z es la desviación desde la media hasta una desviación estándar, una gráfica de la frecuencia relativa contra z produce una curva gaussiana que describe todas las poblaciones de datos sin importar la desviación estándar. Por tanto, la figura a1.3b es la curva de error normal para los dos conjuntos de datos que se usaron para graficar las curvas A y B de la figura a1.3a.

Si se deriva la ecuación a1.15 respecto a x se tiene

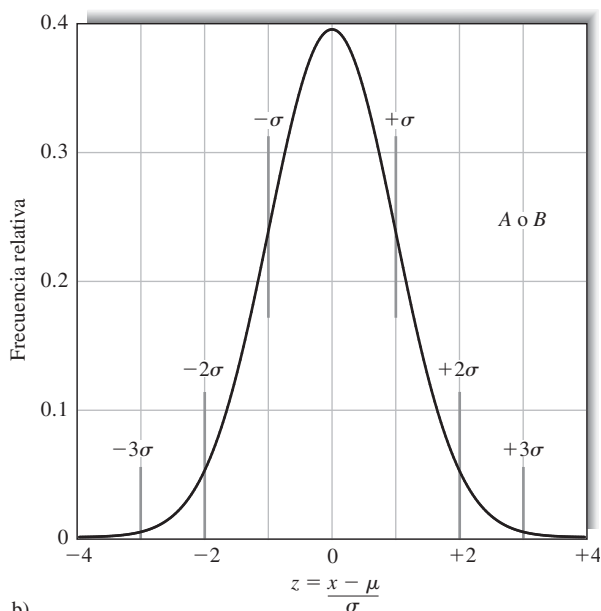
$$dz = \frac{dx}{\sigma} \quad (\text{a1.16})$$

Al sustituir estas dos relaciones en la ecuación a1.14 se obtiene una ecuación que expresa la distribución en términos de una única variable z . Es decir,

$$\frac{dN}{N} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz \quad (\text{a1.17})$$



a)



b)

FIGURA a1.3 Curvas de error normal. La desviación estándar de B es el doble que la de A; es decir, $\sigma_B = 2\sigma_A$. a) La abscisa es la desviación respecto de la media en las unidades de la medición. b) La abscisa es la desviación desde la media relativa hasta σ . Por consiguiente, A y B producen curvas idénticas cuando la abscisa es $z = (x - \mu)/\sigma$.

La curva de error normal

La curva normal de error que se ilustra en la figura a1.3b tiene las siguientes propiedades generales: 1) desviación cero respecto a la media con la máxima frecuencia, 2) distribución simétrica de las desviaciones positivas y negativas respecto a este máximo, y 3) disminución exponencial de la frecuencia a medida que aumenta la magnitud de las desviaciones. Por tanto, los errores aleatorios pequeños son mucho más comunes que los errores grandes.

Áreas bajo regiones de la curva de error normal. El área bajo la curva en la figura a1.3b es la integral de la ecuación a1.17 y se determina como sigue:

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-a}^a \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz = \text{erf}\left(\frac{a\sqrt{2}}{2}\right)$$

donde erf(b) es la *función de error*, expresada por

$$\text{erf}(b) = \int_0^b \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-x^2} dx$$

La fracción de la población comprendida entre cualesquiera límites especificados está definida por el área bajo la curva entre dichos límites. Por ejemplo, el área bajo la curva entre $z = -1$ y $z = +1$ viene dada por la integral definida

$$\frac{\Delta N}{N} = \int_{-1}^1 \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2/2} dz = \text{erf}\left(\frac{\sqrt{2}}{2}\right) = 0.683$$

Entonces, $\Delta N/N = 0.683$, lo que significa que 68.3% de la población de datos se encuentran entre $\pm 1\sigma$ de su valor medio. Si se efectúan cálculos similares con $z = 2$ y $z = 3$, se determina que 95.4% de los datos está entre $\pm 2\sigma$ y 99.7% entre $\pm 3\sigma$. Los valores de $(x - \mu)$ correspondientes a $\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$ y $\pm 3\sigma$ se indican en la figura a1.3 con líneas verticales gris oscuro.

Las propiedades de la curva normal de error son útiles porque permiten establecer ciertos juicios acerca de la probable magnitud del error aleatorio neto en una medición o en un conjunto de mediciones *siempre que se conozca la desviación estándar*. Entonces, es posible afirmar que hay una probabilidad de 68.3% de que el error aleatorio asociado con una única medición esté dentro de $\pm 1\sigma$, y que hay una probabilidad de 95.4% de que el error sea menor que $\pm 2\sigma$, y así sucesivamente. Sin lugar a dudas, la desviación estándar es un parámetro útil para calcular e indicar el error aleatorio neto probable de un método analítico.

Error estándar de la media. Las cifras de probabilidad para la distribución gaussiana que se acaban de citar se refieren al error probable de una *única* medición. Si se

toma en forma aleatoria un conjunto de muestras (cada una de las cuales contiene N resultados) de una población de datos, las medias de las muestras mostrarán menor dispersión a medida que aumente N . La desviación estándar de las medias de las muestras se conoce como *error estándar de la media* y se representa con el símbolo σ_m . Se puede demostrar que el error estándar es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del número de datos N que se utiliza para calcular las medias. Es decir,

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1.18})$$

En el caso de datos en los que se calcula la desviación estándar de la muestra s la ecuación a1.18 se puede expresar como

$$s_m = \frac{s}{\sqrt{N}}$$

donde s_m es la desviación estándar de la media de la muestra.

La media y la desviación estándar para un conjunto de datos son parámetros estadísticos muy importantes en todos los tipos de ciencias e ingenierías. La media es importante porque, en general, proporciona el mejor cálculo de la variable de interés. La desviación estándar de la media es igualmente importante porque proporciona información sobre la precisión y, por consiguiente, sobre el error aleatorio asociado con la medición.

Métodos para obtener una buena estimación de σ

Con el objetivo de aplicar directamente una relación estadística a muestras finitas de datos es necesario saber que la desviación estándar s para los datos de la muestra es una buena aproximación de la desviación estándar de la población σ . Por otra parte, las inferencias estadísticas se tienen que modificar para tener en cuenta la incertidumbre en s . En este apartado se consideran métodos para obtener valores confiables de σ a partir de pequeñas muestras de datos.

Ejecución de experimentos preliminares. La incertidumbre en el valor de s calculado disminuye a medida que aumenta la cantidad de mediciones N en la ecuación a1.10. La figura a1.4 muestra el error relativo de s en función de N . Observe que cuando N es mayor que aproximadamente 20, se puede suponer que s y σ para la mayoría de los propósitos, son idénticas. Por tanto, cuando un método de medición requiere poco tiempo y cuando se dispone de una cantidad de muestra ade-

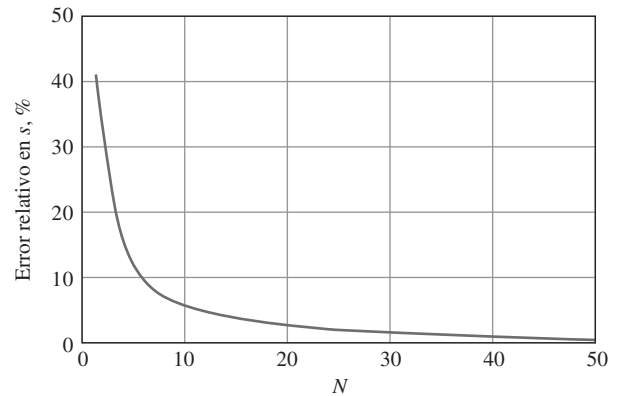


FIGURA a1.4 El error relativo en la desviación estándar de la muestra s como una función del número de mediciones N .

cuada, a veces es económico ejecutar experimentos preliminares cuyo único objetivo sea obtener una desviación estándar confiable para el método. Por ejemplo, si se tiene que medir el pH de numerosas soluciones a lo largo de una investigación, es útil evaluar s en una serie de experimentos preliminares. Esta medición es directa: requiere sólo sumergir un par de electrodos, que previamente se enjuagaron y se secaron, en una solución de prueba y leer el pH en una pantalla. Para determinar s , se miden 20 o 30 porciones de una solución amortiguadora de pH constante, siguiendo todos los pasos del procedimiento. Por lo regular es seguro suponer que el error aleatorio en esta prueba es igual al de las mediciones posteriores. El valor de s calculado con la ecuación a1.10 es entonces una buena determinación del valor de la población, σ .

Datos combinados. Si se tienen varios subconjuntos de datos, es posible llegar a determinar un mejor valor de la desviación estándar de la población al combinarlos que usando nada más un solo conjunto de datos. Una vez más es necesario suponer las mismas fuentes de error aleatorio en todas las mediciones. Por lo regular, esta suposición es válida si las muestras tienen composiciones similares y se analizaron exactamente de la misma manera. Asimismo, se tiene que suponer que las muestras fueron extraídas en forma aleatoria de la misma población y, por consiguiente, tienen un valor común de σ .

El valor combinado de σ , al que se denomina s_{comb} , es un promedio ponderado de las estimaciones individuales. Para calcular s_{comb} , se elevan al cuadrado las desviaciones de la media de cada subconjunto; luego se suman los cuadrados de las desviaciones de todos los subconjuntos y se dividen entre la cantidad apropiada de grados de libertad. La s combinada se determina

al calcular la raíz cuadrada de la cantidad que resulta. Por cada subconjunto se pierde un grado de libertad. Por tanto, los grados de libertad de la s combinada es igual al número total de mediciones menos el número de subconjuntos n_i :

$$s_{\text{comb}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_1} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{j=1}^{N_2} (x_j - \bar{x}_2)^2 + \sum_{k=1}^{N_3} (x_k - \bar{x}_3)^2 + \dots}{N_1 + N_2 + N_3 + \dots - n_i}} \quad (\text{a1.19})$$

En este caso, los índices i, j y k se refieren a los datos de cada subconjunto, $N_1, N_2, N_3, \dots, N_{n_i}$ son los resultados en cada subconjunto. Con ayuda del ejemplo a1.3 se ilustra el cálculo y la aplicación de la desviación estándar combinada.

EJEMPLO a1.3

Las concentraciones de glucosa se miden en forma rutinaria en pacientes que sufren diabetes. Las concentraciones de glucosa en una persona con valores de glucosa ligeramente altos se determinaron en meses distintos mediante un método analítico espectrofotométrico. El paciente se sometió a una dieta con bajo contenido de azúcares con el fin de reducir sus niveles de glucosa. Los siguientes resultados se obtuvieron durante un estudio para determinar la efectividad de la dieta. Calcule un valor combinado de la desviación estándar del método.

Tiempo	Concentración de glucosa, mg/L	Glucosa media, mg/L	Suma de los cuadrados de las desviaciones de la media	Desviación estándar
Mes 1	1108, 1122, 1075, 1099, 1115, 1083, 1100	1100.3	1687.43	16.8
Mes 2	992, 975, 1022, 1001, 991	996.2	1182.80	17.2
Mes 3	788, 805, 779, 822, 800	798.8	1086.80	16.5
Mes 4	799, 745, 750, 774, 777, 800, 758	771.9	2950.86	22.2

Nota: mediciones totales = 24; suma total de cuadrados = 6907.89.

Solución

En el caso del primer mes, la suma de los cuadrados desde la siguiente hasta la última columna se calculó como se indica a continuación:

$$\begin{aligned} \text{Suma de cuadrados} &= (1108 - 1100.3)^2 + (1122 - 1100.3)^2 \\ &\quad + (1075 - 1100.3)^2 + (1099 - 1100.3)^2 \\ &\quad + (1115 - 1100.3)^2 + (1083 - 1100.3)^2 \\ &\quad + (1100 - 1100.3)^2 = 1687.43 \end{aligned}$$

Las otras sumas de cuadrados se determinaron de modo similar. La desviación estándar combinada es entonces

$$s_{\text{comb}} = \sqrt{\frac{6907.89}{24 - 4}} = 18.58 \approx 19 \text{ mg/L}$$

Observe que este valor combinado es un mejor cálculo de σ que cualquiera de los valores individuales s en la última columna. Asimismo, observe que se pierde un grado de libertad por cada uno de los cuatro conjuntos de datos. Como quedan 20 grados de libertad, el valor calculado de s se puede considerar una buena aproximación de σ .

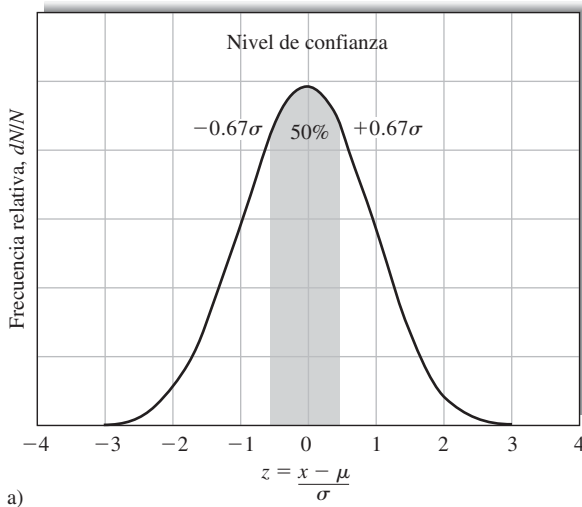
a1B.2 Intervalos de confianza

En la mayoría de las situaciones que se encuentran en el análisis químico es imposible determinar el valor verdadero de la media μ porque se requeriría una enorme cantidad de mediciones (que se aproximaría al infinito). Pero con la estadística es posible establecer un intervalo alrededor de una media $\bar{x}$ determinada experimentalmente, dentro del cual se espera que, con un cierto grado de probabilidad, se encuentre la media poblacional μ . Este intervalo se conoce como *intervalo de confianza*. Por ejemplo, se podría decir que es 99% probable que la verdadera media poblacional para un conjunto de mediciones de potasio quede en el intervalo de $7.25 \pm 0.15\%$ K. Por consiguiente, la media debe quedar en el intervalo de 7.10 a 7.40% K con 99% de probabilidad.

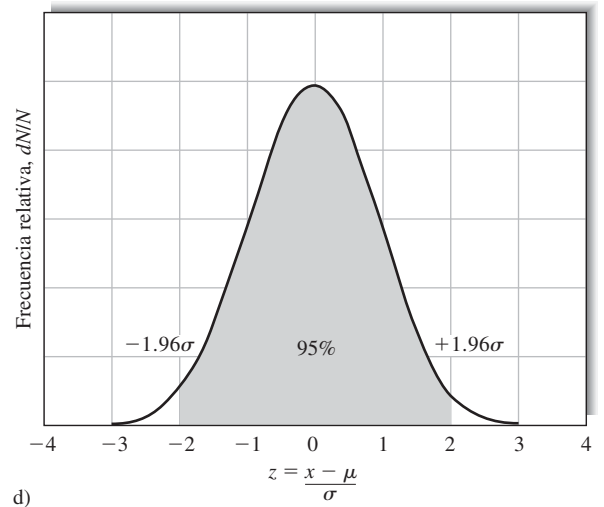
El tamaño del intervalo de confianza, que se calcula a partir de la desviación estándar de la muestra s depende de qué tan bien ésta determine la desviación estándar de la población σ . Si hay razones para creer que s es una buena aproximación de σ , el intervalo de confianza es significativamente más estrecho que si la estimación de σ se basa sólo en unas pocas mediciones.

Intervalo de confianza cuando se conoce σ , o cuando s es un buen estimador de σ

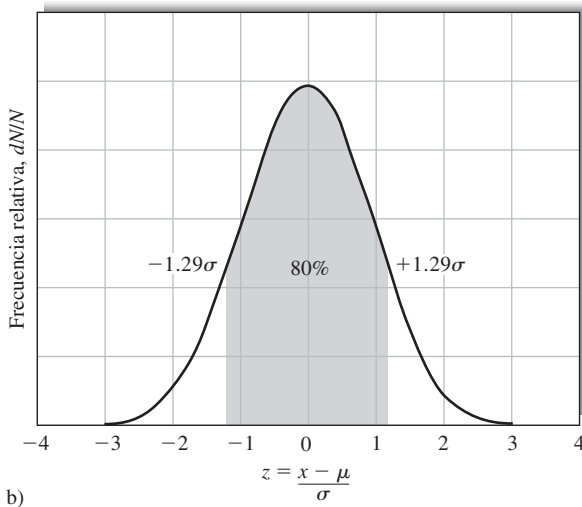
En la figura a1.5 se muestra un conjunto de cinco curvas de error normales, en cada una de ellas la frecuencia relativa se grafica en función de la cantidad z (ecuación a1.15), que representa la desviación desde la media



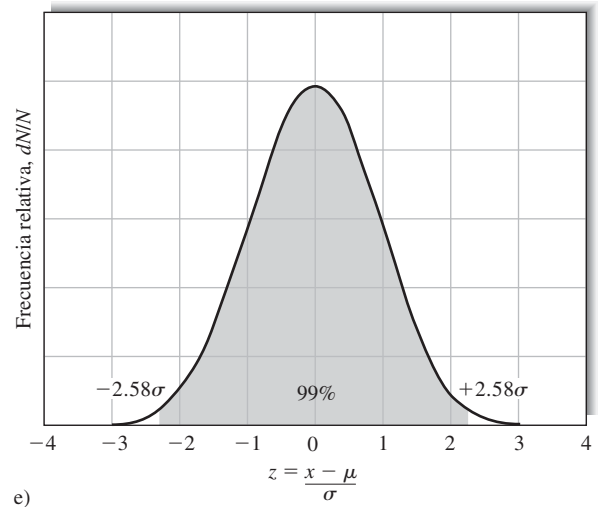
a)



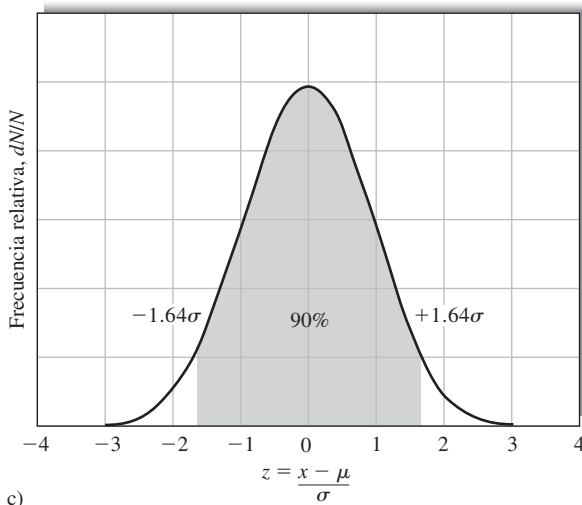
d)



b)



e)



c)

FIGURA a1.5 Áreas bajo una curva gaussiana para diferentes valores de $\pm z$. a) $z = \pm 0.67$; b) $z = \pm 1.29$; c) $z = \pm 1.64$; d) $z = \pm 1.96$; e) $z = \pm 2.58$.

normalizada hasta la desviación estándar de la población. Las áreas sombreadas en cada gráfica quedan entre los valores de $-z$ y $+z$ que se indican a la izquierda y a la derecha de las curvas. Los números dentro de las áreas sombreadas son el porcentaje del área total bajo cada curva que está incluido dentro de estos valores de z . Por ejemplo, como se muestra en la curva *a*, 50% del área bajo cualquier curva gaussiana está entre -0.67σ y $+0.67\sigma$. En las curvas *b* y *c*, se aprecia que 80% del área total se localiza entre -1.28σ y $+1.28\sigma$, y que 90% queda entre -1.64σ y $+1.64\sigma$. Relaciones como las anteriores permiten definir un intervalo de valores alrededor del resultado de una medición dentro del cual es factible que, con una cierta probabilidad, esté la media verdadera *siempre que se tenga una estimación razonable de σ* . Por ejemplo, si se tiene un resultado x a partir de un conjunto de datos con una desviación estándar de σ , se podría suponer que 90 veces de cada 100 la media verdadera μ estará en el intervalo $x \pm 1.64\sigma$ (véase la figura a1.5c). La probabilidad se llama *nivel de confianza* (NC). En el ejemplo de la figura a1.5c, el nivel de confianza es 90% y el *intervalo de confianza* (IC) va de -1.64σ a $+1.64\sigma$. La probabilidad de que un resultado esté fuera del intervalo de confianza se llama a menudo *nivel de significancia*.

Si se hace una sola medición de x a partir de una distribución de σ conocida, se puede decir que la media verdadera debe estar en el intervalo $x \pm z\sigma$ con una probabilidad que depende de z . Esta probabilidad es 90% para $z = 1.64$, 95% para $z = 1.96$ y 99% para $z = 2.58$ como se observa en las figuras a1.5c-e. Se determina una expresión general para el intervalo de confianza de la media verdadera con base en la medición de un solo valor x mediante el reacomodo de la ecuación a1.15 (recuerde que z puede asumir valores tanto negativos como positivos). Entonces,

$$\text{IC para } \mu = x \pm z\sigma \quad (\text{a1.20})$$

Sin embargo, es muy raro que se calcule la media verdadera a partir de una sola medición. En cambio, se usa la media experimental $\bar{x}$ de N mediciones como un mejor valor aproximado de μ . En este caso, se sustituye x en la ecuación a1.20 con $\bar{x}$ y σ con el error estándar de la media, $\sigma/\sqrt{N}$ (ecuación a1.18). Es decir,

$$\text{IC para } \mu = \bar{x} \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1.21})$$

En la tabla a1.3 se dan valores z en distintos niveles de confianza y en la tabla a1.4 se da el tamaño relativo del intervalo de confianza en función de N . Los cálculos de límites de confianza e intervalos de confianza de una muestra se presentan en los ejemplos a1.4 y a1.5.

TABLA a1.3 Niveles de confianza para varios valores de z .

Nivel de confianza, %	z
50	0.67
68	1.00
80	1.28
90	1.64
95	1.96
95.4	2.00
99	2.58
99.7	3.00
99.9	3.29

TABLA a1.4 Tamaño del intervalo de confianza en función de la cantidad de mediciones promediadas.

Número de mediciones promediadas	Tamaño relativo del intervalo de confianza
1	1.00
2	0.71
3	0.58
4	0.50
5	0.45
6	0.41
10	0.32

EJEMPLO a1.4

Determine los intervalos de confianza de 80 y 95% *a*) para la primera entrada (1108 mg/L de glucosa) del ejemplo a1.3 y *b*) para el valor de la media (1100.3 mg/L) para el mes 1 en el ejemplo.

Solución

Se usa la desviación estándar combinada, $s_{\text{comb}} = 19$ como una buena aproximación de σ .

- a)** De acuerdo con la tabla a1.3, se ve que $z = 1.28$ y 1.96 para los niveles de confianza de 80 y 95%. Si se sustituyen en la ecuación a1.20 se tiene

$$80\% \text{ IC de } = 1108 \pm 1.28 \times 19 = 1108 \pm 24.3 \text{ mg/L}$$

$$95\% \text{ IC de } = 1108 \pm 1.96 \times 19 = 1108 \pm 37.2 \text{ mg/L}$$

A partir de estos cálculos se concluye que hay 80% de probabilidades de que μ , la media de la población (y, si no hay error determinado, el valor ver-

dadero), quede en el intervalo de 1083.7 a 1132.3 mg/L de glucosa. Más aún, hay una probabilidad de 95% de que μ esté en el intervalo de 1070.8 a 1145.2 mg/L de glucosa.

b) En el caso de las siete mediciones,

$$\begin{aligned}\text{NC de 80\%} &= 1100.3 \pm \frac{1.28 \times 19}{\sqrt{7}} \\ &= 1100.3 \pm 9.2 \text{ mg/L} \\ \text{NC de 95\%} &= 1100.3 \pm \frac{1.96 \times 19}{\sqrt{7}} \\ &= 1100.3 \pm 14.1 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

Entonces, hay 80% de probabilidad de que μ se ubique en el intervalo de 1091.1 a 1109.5 mg/L de glucosa y 95% de probabilidades de que quede entre 1086.2 y 1114.4 mg/L de glucosa.

EJEMPLO a1.5

¿Cuántas mediciones repetidas del mes 1 del ejemplo a1.3 serían necesarias para disminuir el intervalo de confianza de 95% hasta 1100.3 ± 10.0 mg/L de glucosa?

Solución

En este caso se pretende que el término $\pm z\sigma/\sqrt{N}$ sea igual a ± 10.0 mg/L de glucosa:

$$\begin{aligned}\frac{z\sigma}{\sqrt{N}} &= \frac{1.96 \times 19}{\sqrt{N}} = 10.0 \\ \sqrt{N} &= \frac{1.96 \times 19}{10.0} = 3.724 \\ N &= (3.724)^2 = 13.9\end{aligned}$$

Entonces, se concluye que son necesarias 14 mediciones para proporcionar una probabilidad ligeramente mejor que 95% de que la media de la población esté dentro de ± 10 mg/L de glucosa de la media experimental.

La ecuación a1.21 y la tabla a1.4 dicen que el intervalo de confianza para un análisis se reduce a la mitad si se efectúan cuatro mediciones. Si se toman 16 mediciones, entonces el intervalo se reduce por un factor de 4, y así sucesivamente. Con rapidez se llega a un punto en que para reducir el intervalo se requieren más datos. Por lo regular, se aprovecha la ventaja relativamente grande que se logra al promediar de dos a cuatro mediciones, pero rara vez se tiene el tiempo o la cantidad de muestra requeridos para obtener intervalos de confianza más estrechos por medio de mediciones adicionales repetidas.

Es esencial tener siempre presente que los intervalos de confianza basados en la ecuación a1.21 se aplican sólo cuando *no hay sesgo y sólo si se puede suponer que s es una buena aproximación de σ* . Se indicará que s es una buena aproximación de σ usando el símbolo $s \rightarrow \sigma$ (s tiende a σ).

Intervalos de confianza cuando se desconoce σ

Con frecuencia, las limitaciones de tiempo o de la cantidad de muestra disponible impiden ejecutar mediciones suficientes para suponer que s es una buena aproximación de σ . En estos casos, un solo conjunto de mediciones repetidas debe proporcionar no sólo el valor de la media, sino también un cálculo de la precisión. Como se indicó ya, el valor de s calculado a partir de un conjunto pequeño de datos puede estar sujeto a cierta incertidumbre. Por tanto, los intervalos de confianza deben ampliarse cuando se tiene que usar un valor de muestra pequeño de s como valor aproximado de σ .

Para tener en cuenta la variabilidad de s , se recurre al importante parámetro estadístico t , que se define exactamente de la misma manera que z (ecuación a1.15), excepto que s sustituye a σ : para una sola medición con resultado x , t se define como

$$t = \frac{x - \mu}{s} \quad (\text{a1.22})$$

En el caso de la media de N mediciones

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{N}} \quad (\text{a1.23})$$

Al igual que z en la ecuación a1.20, t depende del nivel de confianza deseado. Pero t depende también del número de grados de libertad en el cálculo de s . La tabla a1.5 proporciona los valores de t para un número reducido de grados de libertad. En varios manuales de matemática y estadística se encuentran tablas más extensas. Observe que t se aproxima a z a medida que el número de grados de libertad se vuelve más grande.

El intervalo de confianza de la media $\bar{x}$ de N mediciones repetidas se calcula a partir de t mediante una ecuación similar a la a1.21:

$$\text{IC para } \mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \quad (\text{a1.24})$$

El uso del parámetro t en el caso de los intervalos de confianza se ilustra en el ejemplo a1.6.

TABLA a1.5 Valores de t para varios niveles de probabilidad.

Grados de libertad	80%	90%	95%	99%	99.9%
1	3.08	6.31	12.7	63.7	637
2	1.89	2.92	4.30	9.92	31.6
3	1.64	2.35	3.18	5.84	12.9
4	1.53	2.13	2.78	4.60	8.61
5	1.48	2.02	2.57	4.03	6.87
6	1.44	1.94	2.45	3.71	5.96
7	1.42	1.90	2.36	3.50	5.41
8	1.40	1.86	2.31	3.36	5.04
9	1.38	1.83	2.26	3.25	4.78
10	1.37	1.81	2.23	3.17	4.59
15	1.34	1.75	2.13	2.95	4.07
20	1.32	1.73	2.09	2.84	3.85
40	1.30	1.68	2.02	2.70	3.55
60	1.30	1.67	2.00	2.62	3.46
∞	1.28	1.64	1.96	2.58	3.29

EJEMPLO a1.6

Un químico obtuvo los siguientes datos del contenido de alcohol en una muestra de sangre; porcentaje de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: 0.084, 0.089 y 0.079. Calcule el intervalo de confianza de 95% para la media, suponga que a) los tres resultados obtenidos son el único indicio de la precisión del método y b) por la experiencia previa con cientos de muestras se sabe que la desviación estándar s del método es de $= 0.005\%$ de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ y que es un buen valor aproximado de σ .

Solución

$$\text{a)} \quad \sum x_i = 0.084 + 0.089 + 0.079 = 0.252$$

$$\sum x_i^2 = 0.007056 + 0.007921 + 0.006241 = 0.021218$$

$$s = \sqrt{\frac{0.021218 - (0.252)^2/3}{3 - 1}} = 0.0050\% \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH}$$

En este caso, $\bar{x} = 0.252/3 = 0.084$. La tabla a1.5 indica que $t = 4.30$ para dos grados de libertad y 95% de nivel de confianza. Entonces,

$$\begin{aligned} \text{IC de 95\%} &= \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} = 0.084 \pm \frac{4.30 \times 0.0050}{\sqrt{3}} \\ &= 0.084 \pm 0.012\% \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} \end{aligned}$$

b) Dado que $s = 0.0050\%$ es un buen valor aproximado de σ ,

$$\begin{aligned} \text{IC de 95\%} &= \bar{x} \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}} = 0.094 \pm \frac{1.96 \times 0.0050}{\sqrt{3}} \\ &= 0.084 \pm 0.006\% \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} \end{aligned}$$

Observe que si se conoce con seguridad a σ el intervalo de confianza disminuye en una cantidad importante.

a1B.3 Propagación de las incertidumbres en la medición

Un método instrumental de análisis típico requiere varias mediciones experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y cada una de ellas contribuye al error indeterminado neto del resultado final.

Principios

A fin de mostrar cómo dichas incertidumbres indeterminadas afectan el resultado de un análisis, suponga que un resultado x depende de las variables experimentales, $p, q, r, \dots$, cada una de las cuales fluctúa de forma aleatoria e independiente. Es decir, x es una función de $p, q, r, \dots$, de tal manera que es posible escribir

$$x = f(p, q, r, \dots) \quad (\text{a1.25})$$

La incertidumbre dx_i (es decir, la desviación respecto de la media) de la i -ésima medición de x depende del tamaño y signo de las correspondientes incertidumbres $dp_i, dq_i, dr_i, \dots$. Es decir,

$$dx_i = f(dp_i, dq_i, dr_i, \dots)$$

La variación total de x en función de las incertidumbres de $p, q, r, \dots$ puede deducirse si se obtiene la derivada parcial de x (ecuación a1.25) respecto a cada una de las variables $p, q, r, \dots$. Es decir,

$$dx = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)_v dp + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)_v dq + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)_v dr + \dots \quad (\text{a1.26})$$

donde el subíndice v quiere decir que las otras variables $p, q, r, \dots$ se mantienen constantes.

Para establecer una relación entre la desviación estándar de x y las desviaciones estándar de p, q y r , es necesario elevar al cuadrado la ecuación a1.26 y sumar entre los límites desde $i = 1$ hasta $i = N$, donde N es el total de mediciones. Al elevar al cuadrado la ecuación a1.26, aparecen dos tipos de términos en el segundo

miembro de la ecuación: términos al cuadrado y términos producto. Los primeros toman la forma

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 (dp)^2, \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 (dq)^2, \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 (dr)^2, \dots$$

Dichos términos al cuadrado son siempre positivos, por lo que *no pueden anularse entre sí*. Por el contrario, los términos producto pueden tener signo positivo o negativo, y toman la forma

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dp dq, \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dp dr, \dots$$

Si dp, dq y dr representan *incertidumbres aleatorias e independientes*, algunos de los términos producto serán negativos y otros positivos. Por consiguiente, la suma de todos estos términos debe aproximarse a cero, en particular cuando N es grande. Sin embargo, tenga en cuenta que si las variables no son independientes, sino que están correlacionadas, los términos producto deben conservarse sin importar el tamaño de N .¹⁰

Como consecuencia de la tendencia de los términos producto a cancelarse, puede suponerse que la suma desde $i = 1$ hasta $i = N$ del cuadrado de la ecuación a1.26 está compuesta exclusivamente por términos al cuadrado. Esta suma toma la forma

$$\begin{aligned} \sum (dx_i)^2 &= \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \sum (dp_i)^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \sum (dq_i)^2 \\ &+ \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \sum (dr_i)^2 + \dots \end{aligned} \quad (\text{a1.27})$$

Al dividir entre $N - 1$ resulta

$$\begin{aligned} \frac{\sum (dx_i)^2}{N - 1} &= \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 \frac{\sum (dp_i)^2}{N - 1} + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 \frac{\sum (dq_i)^2}{N - 1} \\ &+ \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 \frac{\sum (dr_i)^2}{N - 1} + \dots \end{aligned} \quad (\text{a1.28})$$

De la ecuación a1.28 se observa que

$$\frac{\sum (dx_i)^2}{N - 1} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1} = s_x^2$$

donde s_x^2 es la varianza de x . De forma análoga,

$$\frac{\sum (dp_i)^2}{N - 1} = s_p^2$$

y así sucesivamente. Entonces, la ecuación a1.28 puede expresarse en términos de las varianzas de las cantidades; es decir

$$s_x^2 = \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 s_p^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 s_q^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 s_r^2 + \dots \quad (\text{a1.29})$$

¹⁰Véase P. R. Bevington y D. K. Robinson, *Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences*, 2a. ed., pp. 41-50, Nueva York: McGraw-Hill, 1992.

Observe que si N es grande, las varianzas de la muestra que se muestran en la ecuación a1.29 se pueden reemplazar por las varianzas de la población. El ejemplo siguiente ilustra cómo se utiliza la ecuación a1.29 para obtener la varianza de una cantidad calculada a partir de varios resultados experimentales.

EJEMPLO a1.7

El número de platos N en una columna cromatográfica se calcula a partir de la ecuación 26.21:

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

donde t_R es el tiempo de retención y W es la anchura del pico cromatográfico en las mismas unidades que t_R . El significado de estos términos se explica en la figura 26.7.

El hexaclorobenceno manifiesta un pico en cromatografía de líquidos de alta resolución con un tiempo de retención de 13.36 minutos. La anchura del pico en su base es de 2.18 min. La desviación estándar s de las dos mediciones de tiempo es de 0.043 y 0.061 min, respectivamente. Calcule *a)* el número de platos en la columna y *b)* la desviación estándar del resultado calculado.

Solución

a) $N = 16 \left(\frac{13.36}{2.18} \right)^2 = 601$ platos

b) Según la ecuación a1.29,

$$s_N^2 = \left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R}^2 s_W^2$$

De acuerdo con la ecuación para N ,

$$\left(\frac{\partial N}{\partial t_R} \right)_W = \frac{32 t_R}{W^2} \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial N}{\partial W} \right)_{t_R} = \frac{-32 t_R^2}{W^3}$$

Al sustituir estas relaciones en la ecuación anterior resulta

$$\begin{aligned} s_N^2 &= \left(\frac{32 t_R}{W^2} \right)^2 s_{t_R}^2 + \left(\frac{-32 t_R^2}{W^3} \right)^2 s_W^2 \\ &= \left(\frac{32 \times 13.36 \text{ min}}{(2.18 \text{ min})^2} \right)^2 (0.061 \text{ min})^2 \\ &\quad + \left(\frac{-32 (13.36 \text{ min})^2}{(2.18 \text{ min})^3} \right)^2 (0.043 \text{ min})^2 = 592.1 \\ &= \sqrt{592.1} = 24.3 \text{ o bien, } 24 \text{ platos} \end{aligned}$$

Por tanto, $N = 601 \pm 24$ platos.

TABLA a1.6 Propagación del error en los cálculos aritméticos.

Tipo de cálculo	Ejemplo ^a	Desviación estándar de y
Adición o sustracción	$x = p + q - r$	$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$ (1)
Multipliación o división	$x = p \times q/r$	$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{s_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{s_q}{q}\right)^2 + \left(\frac{s_r}{r}\right)^2}$ (2)
Exponenciación	$x = p^y$	$\frac{s_x}{x} = y\left(\frac{s_p}{p}\right)$ (3)
Logaritmo	$x = \log_{10} p$	$s_x = 0.434 \frac{s_p}{p}$ (4)
Antilogaritmo	$x = \text{antilog}_{10} p$	$\frac{s_x}{x} = 2.303 s_p$ (5)

^a p , q y r son variables experimentales cuyas desviaciones estándar son s_p , s_q y s_r , respectivamente.

Desviación estándar de los resultados calculados

La ecuación a1.29 se usa para deducir relaciones que permiten calcular desviaciones estándar de los resultados que se obtienen mediante operaciones aritméticas. Por ejemplo, considere el caso en que el resultado x se calcula a partir de la relación

$$x = p + q - r$$

en la que p , q y r son cantidades experimentales cuyas desviaciones estándar para una muestra son respectivamente s_p , s_q y s_r . En la ecuación a1.29, las derivadas parciales

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)_{q,r} = \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)_{p,r} = 1 \quad \text{y} \quad \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)_{p,q} = -1$$

Por tanto, la varianza de x es

$$s_x^2 = s_p^2 + s_q^2 + s_r^2$$

y la desviación estándar de x es

$$s_x = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + s_r^2}$$

Entonces, la desviación estándar *absoluta* de una suma o de una resta es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las desviaciones estándar absolutas de los números que constituyen dicha suma o resta.

Las relaciones de la tabla a1.6 se obtienen procediendo de la misma manera, pero para otras operaciones aritméticas. Observe que en los distintos cálculos, las varianzas relativas como $(s_x/x)^2$ y $(s_p/p)^2$ están combinadas, no son desviaciones estándar absolutas.

Redondeo de datos

A menudo se indica la probable incertidumbre asociada con una medición experimental redondeando el resultado de modo que contenga sólo *cifras significativas*. Por definición, las cifras significativas en una cantidad son todos los dígitos conocidos con certeza *más el primer dígito incierto*. Si se conoce o se tiene un buen valor aproximado de la desviación estándar de los resultados, se puede decir cuáles dígitos son inciertos. Por ejemplo, si de acuerdo con los cálculos la media de cinco resultados es 2.634 y la desviación estándar de la media es de 0.02, entonces se sabe que el segundo dígito a la derecha del punto decimal es el incierto. Por tanto, el resultado se debe expresar como 2.63 ± 0.02 . Se debe tener en cuenta que *raras veces se justifica tener más de una cifra significativa en la desviación estándar* porque ésta también contiene errores. Para ciertos objetivos especiales, como dar a conocer incertidumbres de constantes físicas en artículos de investigación, podría ser útil tener dos cifras significativas, y no hay nada malo en incluir una segunda cifra significativa en la desviación estándar. No obstante, es importante reconocer que la incertidumbre queda por lo regular en el primer dígito.¹¹

Cuando el resultado se calcula a partir de cantidades experimentales con desviaciones estándar conocidas es factible determinar la desviación estándar en el resultado calculado a partir de la ecuación a1.29 o la tabla a1.6. Esto nos puede guiar en la determinación de qué cifras son significativas y cómo redondear los resultados en forma apropiada, como se muestra en los ejemplos a1.8 y a1.9.

¹¹ Si desea más detalles sobre este tema consulte http://www.chem.uky.edu/courses/che226/download/CI_for_sigma.html.

EJEMPLO a1.8

Calcule la desviación estándar del siguiente resultado y determine la manera de redondearlo:

$$x = \frac{[14.3(\pm 0.2) - 11.6(\pm 0.2)] \times 0.050(\pm 0.001)}{[820(\pm 10) + 1030(\pm 5)] \times 42.3(\pm 0.4)} = 1.725129 \times 10^{-6}$$

Solución

Primero se debe calcular las desviaciones estándar de la diferencia en el numerador y de la suma en el denominador. La desviación estándar de la resta en el numerador es s_d y se expresa con

$$s_d = \sqrt{(\pm 0.2)^2 + (\pm 0.2)^2} = \pm 0.2828$$

Para la suma en el denominador, la desviación estándar s_s es

$$s_s = \sqrt{(\pm 10)^2 + (\pm 5)^2} = \pm 11.180$$

Se puede reescribir la ecuación como

$$\frac{2.7(\pm 0.2828) \times 0.050(\pm 0.001)}{1850(\pm 11.180) \times 42.3(\pm 0.4)} = 1.725129 \times 10^{-6}$$

Ahora, la ecuación contiene sólo productos y cocientes y, por tanto, se puede aplicar la ecuación (2) de la tabla a1.6:

$$\begin{aligned} \frac{s_x}{x} &= \\ \sqrt{\left(\frac{\pm 0.2828}{2.7}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0.001}{0.050}\right)^2 + \left(\frac{\pm 11.180}{1850}\right)^2 + \left(\frac{\pm 0.4}{42.3}\right)^2} &= \pm 0.10722 \end{aligned}$$

Para obtener s_x , es necesario multiplicar la desviación estándar relativa anterior por $x = 1.725129 \times 10^{-6}$

$$s_x = \pm 0.10722 \times 1.725129 \times 10^{-6} = 0.18497 \times 10^{-6}$$

Entonces, la respuesta es $1.7(\pm 0.2) \times 10^{-6}$.

Tome nota de que en este ejemplo se pospuso el redondeo hasta que se terminaron los cálculos. A través de todo el procedimiento se debe mantener por lo menos un dígito extra más allá de las cifras significativas para evitar el *error por redondeo*.

EJEMPLO a1.9

Calcule las desviaciones estándar de los resultados de los siguientes cálculos y redondee hasta una cantidad apropiada de cifras significativas. La desviación estándar absoluta para cada cantidad se proporciona entre paréntesis.

- a) $x = \log[2.00(\pm 0.02) \times 10^{-4}] = -3.69897$
- b) $x = \text{antilog}[1.200(\pm 0.003)] = 15.8493$
- c) $x = [4.73(\pm 0.03) \times 10^{-4}]^3 = 1.0583 \times 10^{-10}$

Solución

- a) De acuerdo con la ecuación (4) de la tabla a1.6 se obtiene

$$s_x = \pm 0.434 \times \frac{0.002 \times 10^{-4}}{2.00 \times 10^{-4}} = \pm 0.00434$$

Entonces, $\log[2.00(\pm 0.02) \times 10^{-4}] = -3.699 \pm 0.004$.

- b) Mediante la ecuación 5 de la tabla a1.6, se llega a

$$\begin{aligned} \frac{s_x}{x} &= 2.303 \times (\pm 0.003) = \pm 0.006909 \\ s_x &= \pm 0.006909 \times 15.8493 = \pm 0.1095 \end{aligned}$$

Por tanto, $\text{antilog}[1.200(\pm 0.003)] = 15.8 \pm 0.1$.

- c) De acuerdo con la ecuación (3) de la tabla a1.6 se obtiene

$$\begin{aligned} \frac{s_x}{x} &= 3 \left(\frac{\pm 0.03 \times 10^{-4}}{4.73 \times 10^{-4}} \right) = \pm 0.01903 \\ s_x &= \pm 0.01903 \times 1.0583 \times 10^{-10} = \pm 2.014 \times 10^{-12} \end{aligned}$$

Por tanto $[4.73(\pm 0.03) \times 10^{-4}]^3 = 1.06(\pm 0.02) \times 10^{-10}$.

Los ejemplos anteriores demuestran que el redondeo de los datos cuando se conocen las desviaciones estándar de las cantidades es relativamente directo si se usa la matemática de la propagación de errores. Sin embargo, muchas veces los cálculos se tienen que efectuar con datos cuya precisión está señalada sólo por la convención de las cifras significativas. En este caso, se tienen que plantear suposiciones de sentido común en cuanto a la incertidumbre de cada cantidad. Con ellas la incertidumbre del resultado final se determina luego mediante la ecuación a1.29. Para finalizar, el resultado se redondea de modo que contenga sólo cifras significativas. Observe que los programas de las calculadoras y las computadoras retienen varias cifras adicionales que no son significativas, por esa razón el usuario debe tener cuidado de redondear los resultados finales en forma apropiada de modo que haya sólo cifras significativas.

a1C PRUEBAS DE HIPÓTESIS

Las pruebas de hipótesis son la base para tomar muchas de las decisiones en la ciencia y la ingeniería. Entonces, para explicar una observación, se presenta un modelo hipotético y se prueba en forma experimental. Si los resultados de los experimentos no apoyan al modelo,

se le rechaza y se busca una nueva hipótesis. Si se logra la concordancia, el modelo hipotético sirve como base para experimentos posteriores.

Los resultados experimentales rara vez concuerdan de manera exacta con los pronosticados a partir de un modelo teórico. Por consiguiente, los científicos tienen que juzgar a menudo si una diferencia numérica es el resultado de errores aleatorios inevitables en todas las mediciones o de errores sistemáticos. Ciertas pruebas estadísticas son útiles para definir estos criterios.

En las pruebas de esta clase se utiliza la *hipótesis nula*, la cual supone que las cantidades numéricas por comparar son, de hecho, iguales. Entonces se aplica una distribución de probabilidades para calcular la posibilidad de que las diferencias observadas sean resultado de un error aleatorio. Por lo regular, si la diferencia observada es mayor o igual a la diferencia que ocurriría 5 veces en 100 al azar (un nivel de significancia de 0.05), se considera que la hipótesis nula es cuestionable y entonces la diferencia se toma como significativa. Asimismo, se podrían adoptar otros niveles de significancia, como 0.01 (1%), o bien, 0.001 (0.1%), lo cual depende de la certeza deseada en el juicio. Cuando se expresa como una fracción, el nivel de significancia se denota a menudo con el símbolo α . El nivel de confianza, NC, como un porcentaje se relaciona con α mediante $NC = (1 - \alpha) \times 100\%$.

Los ejemplos específicos de pruebas de hipótesis que usan los químicos a menudo incluyen la comparación de 1) la media de un conjunto de datos experimentales entre los cuales se cree que está el valor verdadero, 2) la media de un valor predicho o límite (umbral) y 3) las medias o las desviaciones estándar de dos o más conjuntos de datos.

Hay dos resultados contradictorios que se consideran en cualquier prueba de hipótesis. El primero, la hipótesis nula H_0 , establece que $\mu = \mu_0$, donde μ es nuestra media experimental y μ_0 es el valor verdadero, el valor umbral u otra media con la cual se compara. El segundo, la hipótesis alternativa H_a , se puede establecer de varias maneras. Se podría rechazar la hipótesis nula y aceptar H_a si μ es diferente de μ_0 ($\mu \neq \mu_0$). En esta situación, la prueba se llama *prueba de dos colas* o *de dos extremos*. Otras hipótesis alternativas son $\mu > \mu_0$ y $\mu < \mu_0$. A éstas se les llama *pruebas de una cola* o *de un extremo*. Por ejemplo, suponga que le interesa determinar si la concentración de plomo en el agua de desecho de una industria sobrepasa el máximo permitido de 0.05 ppm ($\mu_0 = 0.05$ ppm). Su prueba de hipótesis se escribiría como sigue:

$$H_0: \mu = 0.05 \text{ ppm}$$

$$H_a: \mu > 0.05 \text{ ppm}$$

y la prueba sería de una cola.

Ahora suponga que los experimentos en un periodo de varios años determinaron que el nivel de plomo medio es $\mu_0 = 0.02$ ppm. Recientemente se efectuaron cambios en el proceso industrial y se sospecha que el nivel de plomo medio ya es diferente de 0.02 ppm. En este caso no importa si es más alto o más bajo que 0.02 ppm. La nueva hipótesis se expresaría de la manera siguiente

$$H_0: \mu = 0.02 \text{ ppm}$$

$$H_a: \mu \neq 0.02 \text{ ppm}$$

y la prueba sería de dos colas.

Con el objetivo de efectuar la prueba estadística se tiene que poner en marcha un procedimiento para realizarla. Los elementos decisivos de un procedimiento de prueba son la formación de un parámetro de prueba apropiado y la identificación de una región de rechazo. El parámetro o estadístico de prueba se formula a partir de los datos sobre los que basará la decisión de aceptar o rechazar H_0 . La región de rechazo incluye todos los valores del estadístico de prueba para los cuales H_0 se rechazará. La hipótesis nula se debe rechazar si el estadístico de prueba queda dentro de la región de rechazo. En el caso de pruebas que se relacionan con una o dos medias, el estadístico de prueba puede ser el parámetro z si se tiene una gran cantidad de mediciones o si se conoce σ . Otra opción es usar el parámetro t para cantidades pequeñas cuando se desconoce σ . Si existe duda, entonces se aplica la variable t .

En el caso del parámetro t el procedimiento es el siguiente:

1. Plantear la hipótesis nula: $H_0: \mu = \mu_0$.
2. Formular el parámetro de prueba: $t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s/\sqrt{N}}$.
3. Establecer la hipótesis alternativa H_a y determinar la región de rechazo. En este caso el valor crítico de t , t_{crit} es el valor determinado a partir de las tablas del parámetro t .
Para $H_a: \mu \neq \mu_0$, rechazar H_0 si $t \geq t_{\text{crit}}$ o si $t \leq -t_{\text{crit}}$ (prueba de dos colas).
Para $H_a: \mu > \mu_0$, rechazar H_0 si $t \geq t_{\text{crit}}$ (prueba de una cola).
Para $H_a: \mu < \mu_0$, rechazar H_0 si $t \leq -t_{\text{crit}}$ (prueba de una cola).

Es posible ilustrar el procedimiento considerando una prueba para hallar el error sistemático en un método analítico, como se puede ver en la figura a1.2. La determinación del analito en este caso da una media experimental que es un valor aproximado de la media de la población. Si el método analítico no tuviera error sistemático, es decir, sesgo, los errores aleatorios darían la distribución de frecuencias que se muestra mediante la curva A en la figura a1.2 y $\mu_A = \mu_0$, el valor

verdadero. El método B tiene algún error sistemático de modo que $\bar{x}_B$, la cual estima μ_B difiere del valor aceptado μ_0 . El sesgo se expresa mediante

$$\text{Sesgo} = \mu_B - \mu_0 \quad (\text{a1.30})$$

Al aplicar la prueba para el sesgo, no se sabe inicialmente si la diferencia entre la media experimental y el valor aceptado se debe a un error aleatorio o a uno sistemático real. La prueba t se utiliza para determinar la significancia de la diferencia, como se ilustra en el ejemplo a1.10.

EJEMPLO a1.10

Se probó un nuevo procedimiento para la determinación rápida de azufre en kerosenos en una muestra que, según su método de preparación, contenía 0.123% ($\mu_0 = 0.123\%$) S. Los resultados fueron % S = 0.112, 0.118, 0.115 y 0.119. ¿Los datos indican que hay un sesgo en el método con un nivel de confianza de 95%?

Solución

La hipótesis nula es $H_0: \mu = 0.123\%$ S, y la hipótesis alternativa es $H_a: \mu \neq 0.123\%$ S.

$$\begin{aligned} \sum x_i &= 0.112 + 0.118 + 0.115 + 0.119 = 0.464 \\ \bar{x} &= 0.464/4 = 0.116\% \text{ S} \\ \sum x_i^2 &= 0.012544 + 0.013924 + 0.013225 + 0.014161 \\ &= 0.53854 \\ s &= \sqrt{\frac{0.053854 - (0.464)^2/4}{4 - 1}} \\ &= \sqrt{\frac{0.000030}{3}} = 0.0032\% \text{ S} \end{aligned}$$

El estadístico o parámetro de prueba se puede calcular ahora como

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s/\sqrt{N}} = \frac{0.116 - 0.123}{0.032/\sqrt{4}} = -4.375$$

Mediante la tabla a1.5 se determina que el valor crítico de t para 3 grados de libertad y un nivel de confianza de 95% es 3.18. Como $t \leq -3.18$, se concluye que hay una diferencia significativa en el nivel de confianza de 95% y, por consiguiente, hay sesgo en el método. Observe que si se efectuara esta prueba con un nivel de confianza de 99%, $t_{\text{crit}} = 5.84$ (tabla a1.5). Puesto que $-5.84 < -4.375$, se aceptaría la hipótesis nula con un nivel de confianza de 99%, y se concluiría que no existen diferencias entre los valores experimentales y los aceptados.

Tenga en cuenta que en este ejemplo el resultado depende del nivel de confianza que se utilice. La elección del nivel de confianza depende de la voluntad de aceptar un error en el resultado.¹² El nivel de significancia (0.05, 0.01, 0.001, etc.) es la probabilidad de cometer un error al rechazar la hipótesis nula.

La prueba de hipótesis se usa ampliamente en las ciencias y la ingeniería.¹³ La comparación de una o dos muestras se efectúa como se describe aquí. Sin embargo, los principios se pueden generalizar a comparaciones entre más de dos medias poblacionales. Las comparaciones múltiples están en la categoría general del *análisis de varianza* (ANOVA).¹⁴ En estos métodos se aplica una sola prueba para determinar si hay una diferencia entre las medias poblacionales en vez de una comparación por pares, como se hace con la prueba t . A pesar de que el ANOVA señala una diferencia potencial, se pueden usar *procedimientos de comparación* múltiple para identificar cuál media poblacional específica difiere de las otras. Los *métodos de diseño experimental* aprovechan las ventajas del ANOVA al planificar y efectuar experimentos.

a1D MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS

La mayoría de los métodos analíticos se basan en una curva de calibración en la que una cantidad medida y se grafica en función de la concentración conocida x de una serie de patrones. La figura a1.6 muestra una curva de calibración típica calculada para la determinación cromatográfica de iso-octano en muestras de hidrocarburos. La ordenada (la variable dependiente), es el área bajo el pico cromatográfico del iso-octano, y la abscisa (la variable independiente), es el porcentaje en moles de iso-octano. Como casi siempre, la gráfica se aproxima a una línea recta. Sin embargo, observe que no todos los datos quedan exactamente sobre dicha recta debido a los errores aleatorios del proceso de medición. Por tanto, se debe tratar de determinar la “mejor” línea recta que pase por los puntos. El *análisis de regresión* proporciona los medios para obtener en forma objetiva dicha recta y también para especificar las incertidumbres asociadas con su uso subsiguiente. Aquí sólo se tratará el *método básico de mínimos cuadrados* para datos de dos dimensiones.

¹² Para un análisis de los errores en la prueba de hipótesis, consulte J. L. Devore, *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*, 6a. ed., cap. Pacific Grove, CA: Duxbury Press en Brooks/Cole, 2004.

¹³ Véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., cap. 7, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004; S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

¹⁴ Para un análisis de los métodos del ANOVA véase D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8a. ed., sección 7C, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

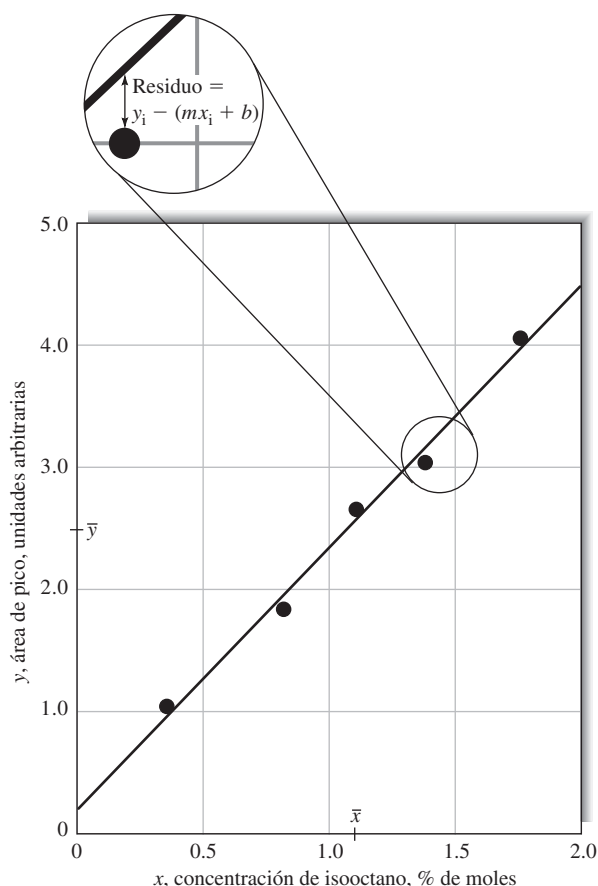


FIGURA a1.6 Curva de calibración para determinar isooctano en mezclas de hidrocarburos.

a1D.1 Suposiciones para el método de mínimos cuadrados

Al aplicar el método de mínimos cuadrados se plantean dos suposiciones. La primera es que hay realmente una relación lineal entre la respuesta medida y y la concentración del analito patrón x . La relación matemática que describe esta suposición se denomina *modelo de regresión*, el cual se puede representar como

$$y = mx + b$$

donde b la ordenada al origen, es decir, el valor de y cuando x es 0, y m es la pendiente de la recta. Asimismo, se supone que cualquier desviación de los puntos individuales respecto a la línea recta proviene de un error en la *medición*. Es decir, se supone que no hay error en los valores de x de los puntos (concentraciones). Ambas suposiciones son aceptables en varios métodos analíticos, pero tenga en cuenta que siempre que hay una incertidumbre importante en los datos x , el análisis básico lineal de los mínimos cuadrados po-

dría no dar la mejor línea recta. En tal caso podría ser necesario hacer un *análisis de correlación* más complejo. Además, el análisis simple de mínimos cuadrados podría no ser adecuado cuando las incertidumbres en los valores y varían de manera importante con x . En este caso sería necesario aplicar diferentes factores de ponderación a los puntos y efectuar un *análisis de mínimos cuadrados ponderado*.

a1D.2 Determinación de la recta de mínimos cuadrados

Como se observa en la figura a1.6, la desviación vertical de cada punto respecto a la línea recta se denomina *residuo*. La línea generada por el método de mínimos cuadrados es aquella que reduce al mínimo la suma de los cuadrados de los residuos de todos los puntos. Además de proporcionar el mejor ajuste entre los puntos experimentales y la recta, el método da las desviaciones estándar de m y b .

El método de mínimos cuadrados determina la suma de los cuadrados de los residuos SS_{resid} y los reduce al mínimo de acuerdo con la técnica de minimización del cálculo diferencial.¹⁵ El valor de SS_{resid} se determina con

$$SS_{\text{resid}} = \sum_{i=1}^N [y_i - (b + mx_i)]^2$$

donde N es la cantidad de puntos usados. El cálculo de la pendiente y de la ordenada al origen se simplifica al definir tres cantidades S_{xx} , S_{yy} , y S_{xy} como sigue:

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N} \quad (\text{a1.31})$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \quad (\text{a1.32})$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \quad (\text{a1.33})$$

donde x_i y y_i son pares de datos para x y y , N es la cantidad de pares de datos y $\bar{x}$ y $\bar{y}$ son los valores promedio de x y y ; es decir, $\bar{x} = \sum x_i / N$ y $\bar{y} = \sum y_i / N$.

Observe que S_{xx} y S_{yy} son las sumas de los cuadrados de las desviaciones respecto a la media de los valores individuales de x y y . Cuando se usa una calculadora de bolsillo que carece de la función de regresión

¹⁵ El procedimiento requiere derivar SS_{resid} respecto primero a m y luego a b , y hacer las derivadas iguales a 0. Lo anterior origina dos ecuaciones, denominadas normales, con las dos incógnitas m y b . Después se resuelven para tener los mejores valores aproximados de mínimos cuadrados de estos parámetros.

es más conveniente utilizar las expresiones que aparecen en el extremo derecho en las ecuaciones a1.31 a a1.33.

A partir de S_{xx} , S_{yy} , y S_{xy} , se pueden calcular seis parámetros muy útiles como sigue:

1. La pendiente de la recta, m :

$$m = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \quad (\text{a1.34})$$

2. La ordenada al origen, b :

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad (\text{a1.35})$$

3. La desviación estándar de la regresión, s_r :

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (\text{a1.36})$$

4. La desviación estándar de la pendiente, s_m :

$$s_m = \sqrt{\frac{s_r^2}{S_{xx}}} \quad (\text{a1.37})$$

5. La desviación estándar de la ordenada al origen, s_b :

$$\begin{aligned} s_b &= s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} \\ &= s_r \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2}} \end{aligned} \quad (\text{a1.38})$$

6. La desviación estándar de los resultados obtenidos a partir de la curva de calibración, s_c :

$$s_c = \frac{s_r}{m} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}} \quad (\text{a1.39})$$

La ecuación a1.39 permite calcular la desviación estándar de la media $\bar{y}_c$ de un conjunto de M análisis repetidos de incógnitas cuando se usa una curva de calibración que contiene N puntos; recuerde que $\bar{y}$ es el valor medio de y para los N datos de la calibración. Esta ecuación es una aproximación y supone que la pendiente y la ordenada al origen son parámetros independientes, lo cual no es rigurosamente cierto.

La desviación estándar respecto a la regresión s_r (ecuación a1.36) es la desviación estándar de y cuando las desviaciones se miden no a partir de la media de y , como es el caso común, sino desde la línea recta que resulta de la predicción de mínimos cuadrados. El valor de s_r se relaciona con SS_{resid} mediante

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [y_i - (b + mx_i)]^2}{N - 2}} = \sqrt{\frac{SS_{\text{resid}}}{N - 2}}$$

En esta ecuación el número de grados de libertad es $N - 2$ porque se pierde un grado de libertad al calcular m y otro al determinar b . La desviación estándar respecto a la regresión se denomina a menudo *error estándar de la estimación*. Corresponde burdamente al valor de una desviación típica respecto a la línea de regresión estimada aproximadamente. Los ejemplos a1.11 y a1.12 ilustran la manera en que estas cantidades se calculan y usan.

EJEMPLO a1.11

Efectúe el análisis de mínimos cuadrados de los datos experimentales proporcionados en las dos primeras columnas de la tabla a1.7 y representados en la figura a1.6.

Solución

Las columnas 3, 4 y 5 de la tabla contienen los valores calculados para x_i^2 , y_i^2 y $x_i y_i$, sus sumas aparecen en la última fila de cada columna. Observe que el número de dígitos que se mantiene en los valores calculados debería ser el *máximo permitido por la calculadora o la computadora*; es decir, *no debería realizarse el redondeo sino hasta que se haya completado todo el cálculo*.

Si se sustituye en las ecuaciones a1.31, a1.32 y a1.33 se obtiene

$$\begin{aligned} S_{yy} &= \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \\ &= 36.3775 - \frac{(12.51)^2}{5} = 5.07748 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_{xy} &= \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \\ &= 15.81992 - \frac{5.365 \times 12.51}{5} = 2.39669 \end{aligned}$$

TABLA a1.7 Datos de calibración para la determinación cromatográfica de isooctano en una mezcla de hidrocarburos.

Porcentaje molar de isooctano, x_i	Área del pico, y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i y_i$
0.352	1.09	0.12390	1.1881	0.38368
0.803	1.78	0.64481	3.1684	1.42934
1.08	2.60	1.16640	6.7600	2.80800
1.38	3.03	1.90440	9.1809	4.18140
1.75	4.01	3.06250	16.0801	7.01750
5.365	12.51	6.90201	36.3775	15.81992

Al sustituir estas cantidades en las ecuaciones a1.34 y a1.35 se obtiene

$$m = \frac{2.39669}{1.14537} = 2.0925 \approx 2.09$$

$$b = \frac{12.51}{5} - 2.0925 \times \frac{5.365}{5} = 0.2567 \approx 0.26$$

Por consiguiente, la ecuación de la recta obtenida por mínimos cuadrados es

$$y = 2.09x + 0.26$$

La sustitución en la ecuación a1.36 proporciona la desviación estándar respecto a la regresión:

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}} = \sqrt{\frac{5.07748 - (2.0925)^2 \times 1.14537}{5 - 2}} = 0.1442 \approx 0.14$$

y la sustitución en la ecuación a1.37 da la desviación estándar de la pendiente:

$$s_m = \sqrt{\frac{s_r^2}{S_{xx}}} = \sqrt{\frac{(0.1442)^2}{1.14537}} = 0.13$$

Para finalizar, la desviación estándar de la ordenada al origen se obtiene a partir de la ecuación a1.38:

$$s_b = 0.1442 \sqrt{\frac{1}{5 - (5.365)^2/6.9021}} = 0.16$$

de pico obtenida fue de 2.65. Calcule el porcentaje molar de isooctano en la mezcla y la desviación estándar si el área fue a) el resultado de una única medición y b) la media de cuatro mediciones.

Solución

En cualquier caso, la concentración desconocida se determina al reacomodar la ecuación de mínimos cuadrados de la recta, lo cual da

$$x = \frac{y - b}{m} = \frac{y - 0.2567}{2.0925} = \frac{2.65 - 0.2567}{2.0925} = 1.144 \text{ mol \%}$$

a) Si se sustituye en la ecuación a1.39, se obtiene

$$s_c = \frac{0.1442}{2.0925} \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{5} + \frac{(2.65 - 12.51/5)^2}{(2.0925)^2 \times 1.145}} = 0.076 \text{ mol \%}$$

b) Para la media de las cuatro mediciones,

$$s_c = \frac{0.1442}{2.0925} \sqrt{\frac{1}{4} + \frac{1}{5} + \frac{(2.65 - 12.51/5)^2}{(2.0925)^2 \times 1.145}} = 0.046 \text{ mol \%}$$

Tenga en cuenta que el surgimiento de programas eficaces para hojas de cálculo y estadística ha facilitado en gran medida la ejecución de análisis de datos por mínimos cuadrados.¹⁶

¹⁶ Véase S. R. Crouch y F. J. Holler, *Applications of Microsoft® Excel in Analytical Chemistry*, Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

EJEMPLO a1.12

La curva de calibración que se obtuvo en el ejemplo a1.11 se utilizó para la determinación cromatográfica de isooctano en una mezcla de hidrocarburos. El área

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

*a1.1 Considere los siguientes conjuntos de datos de mediciones repetidas:

A	B	C	D
61.45	3.27	12.06	2.7
61.53	3.26	12.14	2.4
61.32	3.24		2.6
	3.24		2.9
	3.28		
	3.23		

Calcule para cada conjunto a) la media e indique cuántos grados de libertad están asociados con el cálculo de $\bar{x}$; b) la desviación estándar de cada conjunto y los

grados de libertad asociados con el cálculo de s ; c) el coeficiente de variación de cada conjunto de datos y d) el error estándar de la media de cada conjunto.

- *a1.2** Los valores aceptados para los conjuntos de datos del problema a1.1 son A, 61.71; B, 3.28; C, 12.23 y D, 2.75. Calcule a) el error absoluto de la media de cada conjunto y b) el error relativo porcentual de cada una de las medias.
- *a1.3** Un método particular para determinar cobre da resultados que están por abajo de 0.5 mg. ¿Cuál será el error relativo porcentual debido a esta causa si el peso de cobre en la muestra es
a) 25 mg? b) 100 mg? c) 250 mg? d) 500 mg?
- *a1.4** Se desea utilizar el método que se describió en el problema a1.3 para analizar una mena que contiene alrededor de 4.8% de cobre. ¿Qué peso mínimo de muestra debería tomarse si el error relativo debido a 0.5 mg de pérdida ha de ser menor que
a) 0.1%? b) 0.5%? c) 0.8%? d) 1.2%?
- *a1.5** Una técnica instrumental presenta una desviación estándar de 1.0%. ¿Cuántas mediciones repetidas son necesarias si el error estándar de la media debe ser de 0.01%?
- *a1.6** Se sabe que cierta técnica presenta una media de 0.500 y una desviación estándar de 1.84×10^{-3} . También se sabe que sigue una distribución gaussiana. ¿Cuántas repeticiones se requieren para que el error estándar de la media no supere 0.100%?
- *a1.7** Un método particular para la determinación de cromo en muestras geológicas lleva asociado una pérdida constante por solubilidad de unos 1.8 mg. Una muestra que contiene aproximadamente 18% de Cr se analizó por este método. Si la muestra que se tomó para el análisis pesó 0.400 g, prediga el error relativo (en partes por millar) de los resultados debido al error sistemático.
- *a1.8** Los siguientes datos provienen del estudio de control del ion potasio en preparaciones de alimentos en una planta:

Muestra	% de K^+
1	5.15, 5.03, 5.04, 5.18, 5.20
2	7.18, 7.17, 6.97
3	4.00, 3.93, 4.15, 3.86
4	4.68, 4.85, 4.79, 4.62
5	6.04, 6.02, 5.82, 6.06, 5.88

Las preparaciones se extrajeron en forma aleatoria de la misma población.

- a) Determine la media y la desviación estándar s de cada muestra.
b) Obtenga el valor combinado s_{pooled} .
c) ¿Por qué s_{pooled} es un mejor valor aproximado de σ que la desviación estándar de cualquiera de las muestras?
- *a1.9** Se analizaron seis botellas del mismo vino en busca del contenido residual de azúcar y se obtuvieron los resultados siguientes:

Botella	% de azúcar residual (peso/vol)
1	0.99, 0.84, 1.02
2	1.02, 1.13, 1.17, 1.02
3	1.25, 1.32, 1.13, 1.20, 1.12
4	0.72, 0.77, 0.61, 0.58
5	0.90, 0.92, 0.73
6	0.70, 0.88, 0.72, 0.73

- a) Determine la desviación estándar s de cada conjunto de datos.
 b) Combine los datos para obtener una desviación estándar absoluta del método.

***a1.10** Calcule la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los siguientes cálculos. Redondee cada resultado de forma que contenga sólo cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.

$$a) y = 5.75(\pm 0.03) + 0.833(\pm 0.001) - 8.021(\pm 0.001) = -1.4381$$

$$b) y = 18.97(\pm 0.04) + 0.0025(\pm 0.0001) + 2.29(\pm 0.08) = 21.2625$$

$$c) y = 66.2(\pm 0.3) \times 1.13(\pm 0.02) \times 10^{-17} = 7.4806 \times 10^{-16}$$

$$d) y = 251(\pm 1) \times \frac{860(\pm 2)}{1.673(\pm 0.006)} = 129\,025.70$$

$$e) y = \frac{157(\pm 6) - 59(\pm 3)}{1220(\pm 1) + 77(\pm 8)} = 7.5559 \times 10^{-2}$$

$$f) y = \frac{1.97(\pm 0.01)}{243(\pm 3)} = 8.106996 \times 10^{-3}$$

***a1.11** Calcule la desviación estándar absoluta y el coeficiente de variación de los resultados de los cálculos siguientes. Redondee cada resultado para incluir sólo cifras significativas. Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar absolutas.

$$a) y = 1.02(\pm 0.02) \times 10^{-8} - 3.54(\pm 0.2) \times 10^{-9}$$

$$b) y = 90.31(\pm 0.08) - 89.32(\pm 0.06) + 0.200(\pm 0.004)$$

$$c) y = 0.0020(\pm 0.0005) \times 20.20(\pm 0.02) \times 300(\pm 1)$$

$$d) y = \frac{163(\pm 0.03) \times 10^{-14}}{1.03(\pm 0.04) \times 10^{-16}}$$

$$e) y = \frac{100(\pm 1)}{2(\pm 1)}$$

$$f) y = \frac{2.45(\pm 0.02) \times 10^{-2} - 5.06(\pm 0.06) \times 10^{-3}}{23.2(\pm 0.7) + 9.11(\pm 0.08)}$$

***a1.12** Considere los conjuntos siguientes de mediciones repetidas:

A	B	C	D	E	F
3.5	70.24	0.812	2.7	70.65	0.514
3.1	70.22	0.792	3.0	70.63	0.503
3.1	70.10	0.794	2.6	70.64	0.486
3.3		0.900	2.8	70.21	0.497
2.5			3.2		0.472

Calcule la media y la desviación estándar de cada uno de estos seis conjuntos de datos. Determine el intervalo de confianza de 95% para todos los conjuntos de datos. ¿Que significa este intervalo?

***a1.13** Determine el intervalo de confianza de 95% para todos los conjuntos de datos del problema a1.12 si s es un buen valor aproximado de σ y tiene los valores siguientes: conjunto A, 0.20; conjunto B, 0.070; conjunto C, 0.0090; conjunto D, 0.30; conjunto E, 0.15; y conjunto F, 0.015.

***a1.14** La desviación estándar de un método establecido para el análisis de hidrocarburos clorados en muestras de aire es de 0.030 ppm.

- a) Calcule el intervalo de confianza de 95% para la media de cuatro mediciones obtenidas con este método.
- b) ¿Cuántas mediciones deberían hacerse si se pretende que el intervalo de confianza de 95% sea ± 0.017 ?
- *a1.15** Con base en una amplia experiencia previa, se calculó que la desviación estándar de un método para determinar monóxido de carbono en los gases del escape de los automóviles es de 0.80 ppm.
- a) Determine el intervalo de confianza de 90% para un análisis por triplicado.
- b) ¿Cuántas mediciones serán necesarias para que el intervalo de confianza de 90% sea de 0.50 ppm para el conjunto de datos?
- *a1.16** El porcentaje certificado de níquel en una determinada muestra de un acero de referencia del NIST es de 1.12% y su desviación estándar es 0.03%. Un nuevo método espectrométrico para la determinación de níquel dio los siguientes porcentajes: 1.10, 1.08, 1.09, 1.12 y 1.09. ¿Hay algún indicio de sesgo en el método para un nivel de confianza de 95%?
- *a1.17** Un método volumétrico para la determinación de calcio en roca caliza se comprobó mediante el análisis de una caliza del NIST que contenía 30.15% de CaO. La media del resultado de cuatro análisis fue de 30.26% de CaO, con una desviación estándar de 0.085%. La combinación de los datos de varios análisis estableció que $s \rightarrow \sigma = 0.094\%$ de CaO.
- a) ¿Indican los datos la presencia de un error sistemático para un nivel de confianza de 95%?
- b) ¿Indican los datos la presencia de un error sistemático para un nivel de confianza de 95% si no se dispusiera de un valor combinado?
- *a1.18** Para comprobar la calidad del trabajo de un laboratorio comercial, se le solicitó el análisis por duplicado de una muestra de ácido benzoico purificado (68.8% de C, 4.953% de H). Se supone que la desviación estándar relativa del método es $s_r \rightarrow \sigma = 4$ ppt para el carbono, y de 6 ppt para el hidrógeno. Las medias de los resultados son 68.5% de C y 4.882% de H. Para un nivel de confianza de 95%, ¿hay alguna indicación de error sistemático en cualquiera de los análisis?
- *a1.19** El diámetro de una esfera es de 2.15 cm, y la desviación estándar asociada con la media es de 0.02 cm. ¿Cuál es el mejor cálculo del volumen de la esfera y cuál es la desviación estándar asociada con dicho volumen?
- *a1.20** Cierta medición de pH puede proporcionar lecturas con una desviación estándar de ± 0.01 pH unidades de pH en el intervalo de 2 a 12. Calcule la desviación estándar de $[\text{H}_3\text{O}^+]$ en cada extremo de ese intervalo.
- *a1.21** Se prepara una solución pesando 5.0000 g de un compuesto X en un matraz aforado de 100 mL. La balanza tenía una precisión, expresada como desviación estándar, de 0.2 mg y el matraz aforado podía llenarse con una precisión de 0.15 mL, también expresada como desviación estándar. ¿Cuál es la desviación estándar estimada de la concentración en g/mL?
- a1.22** La concentración de ion sulfato en agua natural se puede determinar midiendo la turbidez que resulta cuando se añade un exceso de BaCl_2 a una cantidad medida de muestra. El instrumento que se usa para este análisis, un turbidímetro,

se calibró con una serie de soluciones patrón de Na_2SO_4 . En la calibración se obtuvieron los siguientes datos:

$\text{mg SO}_4^{2-}/\text{L}, C_x$	Lectura del turbidímetro, R
0.00	0.06
5.00	1.48
10.00	2.28
15.0	3.98
20.0	4.61

Suponga que existe una relación lineal entre la lectura del instrumento y la concentración.

- Grafique los datos y dibuje a ojo una línea recta que pase por los puntos.
- Determine la pendiente de mínimos cuadrados y la ordenada al origen de la mejor recta que pase entre los puntos.
- Compare la recta que obtuvo en *b*) con la de *a*).
- Calcule la desviación estándar de la pendiente y de la ordenada al origen de la recta de mínimos cuadrados.
- Calcule la concentración de sulfato en una muestra que da una lectura en el turbidímetro de 3.67. Determine la desviación estándar absoluta del resultado y el coeficiente de variación.
- Repita los cálculos del inciso *e*), pero suponga que el valor 3.67 es la media de seis lecturas del turbidímetro.

a1.23 Los datos siguientes se obtuvieron al calibrar un electrodo selectivo del ion calcio para la determinación de pCa. Se sabe que existe una relación lineal entre el potencial E y pCa.

$\text{pCa} = -\log [\text{Ca}^{2+}]$	E, mV
5.00	-53.8
4.00	-27.7
3.00	+2.7
2.00	+31.9
1.00	+65.1

- Grafique los datos y trace a ojo una recta que pase por los puntos.
- Calcule la ecuación de mínimos cuadrados para la mejor recta que pasa por los puntos. Grafique dicha recta.
- Calcule la desviación estándar de la pendiente y la ordenada al origen de la recta de mínimos cuadrados.
- Calcule el pCa de una solución de suero en la que el potencial del electrodo fue de 10.7 mV. Determine las desviaciones estándar absoluta y relativa de dicho valor de pCa si éste se determinó a partir de una sola medición de voltaje.
- Calcule las desviaciones estándar absoluta y relativa de pCa si la lectura en milivoltios en *d*) era la media de dos mediciones repetidas. Repita el cálculo con base en la media de ocho mediciones.

***a1.24** Las siguientes son áreas relativas de los picos de cromatogramas correspondientes a soluciones patrón de metilvinilcetona (MVC):

Concentración de MVC, mmol/L	Área relativa del pico
0.500	3.76
1.50	9.16
2.50	15.03
3.50	20.42
4.50	25.33
5.50	31.97

- Determine la pendiente y la ordenada al origen de la recta de mínimos cuadrados.
- Grafique la recta de mínimos cuadrados, así como los puntos experimentales.
- Una muestra que contiene MVC da un área de pico relativa de 10.3. Calcule la concentración de MVC en la solución.
- Suponga que los resultados del inciso *d*) representan una sola medición, así como la media de cuatro mediciones. Calcule en ambos casos las desviaciones estándar absoluta y relativa.
- Repita los cálculos en *c*) y *d*) para una muestra que dio un área de pico de 22.8.

APÉNDICE DOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

La relación entre la actividad a_X de una especie y su concentración molar $[X]$ se expresa mediante

$$a_X = \gamma_X [X] \quad (\text{a2.1})$$

donde γ_X es una cantidad adimensional llamada *coeficiente de actividad*. Este coeficiente y, por tanto, la actividad de X, varían con la *fuerza iónica* de la disolución, de forma que el uso de a_X en lugar de $[X]$ en el cálculo de un potencial de electrodo, o en los cálculos de equilibrio hace que el valor numérico obtenido sea independiente de la fuerza iónica. En este caso, la fuerza iónica μ se define por la ecuación

$$\mu = \frac{1}{2} (c_1 Z_1^2 + c_2 Z_2^2 + c_3 Z_3^2 + \dots) \quad (\text{a2.2})$$

donde $c_1, c_2, c_3, \dots$ representan las concentraciones molares de los distintos iones en la disolución y $Z_1, Z_2, Z_3, \dots$ son sus cargas respectivas. Obsérvese que el cálculo de la fuerza iónica requiere tener en cuenta *todas* las especies iónicas de la disolución, no sólo las que reaccionan.

EJEMPLO a2.1

Calcule la fuerza iónica de una disolución 0.0100 M en NaNO_3 y 0.0200 M en $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

Solución

En este caso, se ignora la contribución de los H^+ y los OH^- a la fuerza iónica, puesto que sus concentraciones son muy pequeñas comparadas con las de las dos sales. Las molaridades del Na^+ , NO_3^- y Mg^{2+} son 0.0100, 0.0500 y 0.0200, respectivamente. Entonces

$$\begin{aligned} c_{\text{Na}^+} \times (1)^2 &= 0.0100 \times 1 = 0.0100 \\ c_{\text{NO}_3^-} \times (1)^2 &= 0.0500 \times 1 = 0.0500 \\ c_{\text{Mg}^{2+}} \times (2)^2 &= 0.0200 \times 2^2 = 0.0800 \\ \text{Suma} &= 0.1400 \end{aligned}$$

$$\mu = \frac{1}{2} \times 0.1400 = 0.0700$$

a2A PROPIEDADES DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Los coeficientes de actividad tienen las propiedades siguientes:

1. El coeficiente de actividad de una especie se puede considerar como una medida de la efectividad con la que esa especie influye en el equilibrio en el que participa. En disoluciones muy diluidas, en las que la fuerza iónica es mínima, los iones están suficientemente separados de forma que su comportamiento no influye en ninguno de los otros. En esta situación, la efectividad de un ion común en la posición del equilibrio depende sólo de su concentración molar y es independiente del resto de los iones. En estas circunstancias, el coeficiente de actividad se hace igual a la unidad y $[X]$ y a en la ecuación a2.1 son idénticas. A medida que la fuerza iónica aumenta, los iones vecinos más cercanos influyen en el comportamiento de un ion individual. El resultado es una menor efectividad del ion para modificar la posición del equilibrio químico. Entonces, su coeficiente de actividad se vuelve menor que la unidad. Este comportamiento se puede resumir en términos de la ecuación a2.1. Para fuerzas iónicas moderadas, $\gamma_X < 1$; a medida que la disolución se aproxima a dilución infinita ($\mu \rightarrow 0$), $\gamma_X \rightarrow 1$ y, por tanto, $a_X \rightarrow [X]$.

Para fuerzas iónicas elevadas, aumentan los coeficientes de actividad de algunas especies e, incluso, pueden llegar a ser mayores que 1. Es difícil interpretar el comportamiento de tales disoluciones, por lo que el estudio se limita a regiones de baja a moderada fuerza iónica, es decir, en las que $\mu < 0.1$). En la figura a2.1 se muestra la variación de algunos coeficientes de actividad característicos en función de la fuerza iónica.

2. En las disoluciones diluidas, el coeficiente de actividad de una especie dada es independiente de la naturaleza específica del electrolito y depende sólo de la fuerza iónica.
3. Para una fuerza iónica dada, el coeficiente de actividad de un ion se desvía más de la unidad a medida que aumenta la carga que lleva la especie. Este efecto

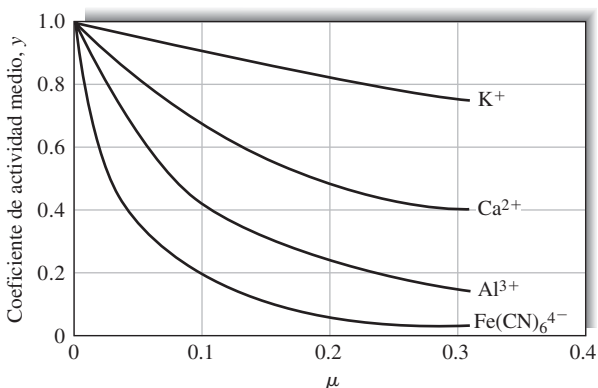


FIGURA a2.1 Efecto de la fuerza iónica en los coeficientes de actividad.

se muestra en la figura a2.1. El coeficiente de actividad de una molécula sin carga es casi uno, independientemente de la fuerza iónica.

- Los coeficientes de actividad de iones con la misma carga son casi iguales a cualquier fuerza iónica dada. Las pequeñas variaciones que existen se correlacionan con el diámetro efectivo de los iones hidratados.
- El producto del coeficiente de actividad por la concentración molar de un ion dado describe su comportamiento efectivo en todos los equilibrios en los que participa.

a2B EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Aunque los coeficientes de actividad de los iones individuales se pueden calcular a partir de consideraciones teóricas, medirlos en forma experimental es simplemente imposible. Sólo puede obtenerse un coeficiente de actividad medio para las especies de la disolución cargadas positiva y negativamente.

En el caso del electrolito $A_m B_n$ el coeficiente de actividad medio $\gamma_{\pm}$ se define mediante la ecuación

$$\gamma_{\pm} = (\gamma_A^m \gamma_B^n)^{1/(m+n)}$$

El coeficiente de actividad medio se puede medir de distintas maneras, pero es imposible desde el punto de vista experimental resolver este término en los coeficientes de actividad individuales γ_A y γ_B . Por ejemplo, si $A_m B_n$ es un precipitado, podemos escribir

$$\begin{aligned} K_{sp} &= [A]^m [B]^n \gamma_A^m \gamma_B^n \\ &= [A]^m [B]^n \gamma_{\pm}^{m+n} \end{aligned}$$

Al medir la solubilidad de $A_m B_n$ en una disolución en la que la concentración de electrolito se aproxima a

cero, es decir, cuando γ_A y $\gamma_B \rightarrow 1$, se puede obtener K_{sp} . Una segunda medida de la solubilidad a cierta fuerza iónica, μ_1 , proporcionaría los valores de $[A]$ y $[B]$. Estos datos permitirían entonces calcular $\gamma_A^m \gamma_B^n = \gamma_{\pm}^{m+n}$ para la fuerza iónica μ_1 . Sin embargo, es importante comprender que los datos experimentales son insuficientes para facilitar el cálculo de las cantidades individuales γ_A y γ_B , y que no parece que pueda haber información experimental adicional que permita la evaluación de estas cantidades. Esta situación es general; la determinación experimental de los coeficientes de actividad individuales parece ser imposible.

a2C LA ECUACIÓN DE DEBYE-HÜCKEL

En 1923, P. Debye y E. Hückel dedujeron la siguiente expresión teórica, que permite el cálculo de los coeficientes de actividad de los iones:¹

$$-\log \gamma_A = \frac{0.509 Z_A^2 \sqrt{\mu}}{1 + 3.28 \alpha_A \sqrt{\mu}} \quad (\text{a2.3})$$

donde

γ_A = coeficiente de actividad de la especie A

Z_A = carga de la especie A

μ = fuerza iónica de la disolución

α_A = diámetro efectivo del ion hidratado en nanómetros

Las constantes 0.509 y 0.328 se aplican cuando las disoluciones se encuentran a 25°C; cuando las temperaturas son diferentes se deben utilizar otros valores.

Infortunadamente, existe una considerable incertidumbre respecto a la magnitud de α_A en la ecuación a2.3. Al parecer, su valor es de casi 3 Å (0.3 nm) para la mayoría de los iones con una sola carga, por lo que para estas especies el denominador de la ecuación de Debye-Hückel se reduce a casi $(1 + \sqrt{\mu})$. Para iones con mayor carga, α_A podría ser superior a 10 Å. Debe tenerse en cuenta que, cuando la fuerza iónica es menor de 0.01, el segundo término del denominador es pequeño comparado con el primero; en esas circunstancias, la incertidumbre en α_A es poco significativa en el cálculo de los coeficientes de actividad.

Kielland² calculó los valores de α_A para numerosos iones a partir de distintos datos experimentales. Sus “mejores valores” para los diámetros efectivos se dan

¹ P. Debye y E. Hückel, *Physik. Z.*, 1923, 24, p. 185.

² J. Kielland, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1937, 59, p. 1675.

TABLA a2.1 Coeficientes de actividad de algunos iones a 25°C^a.

Ion	Coeficiente de actividad a las fuerzas iónicas indicadas					
	α_X , nm	0.001	0.005	0.01	0.05	0.1
H ₃ O ⁺	0.9	0.967	0.934	0.913	0.85	0.83
Li ⁺ , C ₆ H ₅ COO ⁻	0.6	0.966	0.930	0.907	0.83	0.80
Na ⁺ , IO ₃ ⁻ , HSO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , H ₂ AsO ₄ ⁻ , OAc ⁻	0.4–0.45	0.965	0.927	0.902	0.82	0.77
OH ⁻ , F ⁻ , SCN ⁻ , HS ⁻ , ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , IO ₃ ⁻ , MnO ₄ ⁻	0.35	0.965	0.926	0.900	0.81	0.76
K ⁺ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HCOO ⁻	0.3	0.965	0.925	0.899	0.81	0.75
Rb ⁺ , Cs ⁺ , Tl ⁺ , Ag ⁺ , NH ₄ ⁺	0.25	0.965	0.925	0.897	0.80	0.75
Mg ²⁺ , Be ²⁺	0.8	0.872	0.756	0.690	0.52	0.44
Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , ftalato ²⁻	0.6	0.870	0.748	0.676	0.48	0.40
Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , S ²⁻	0.5	0.869	0.743	0.668	0.46	0.38
Pb ²⁺ , CO ₃ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , C ₂ O ₄ ²⁻	0.45	0.868	0.741	0.665	0.45	0.36
Hg ₂ ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , Cr ₄ ²⁻ , HPO ₄ ²⁻	0.40	0.867	0.738	0.661	0.44	0.35
Al ³⁺ , Fe ³⁺ , Cr ³⁺ , La ³⁺ , Ce ³⁺	0.9	0.737	0.540	0.443	0.24	0.18
PO ₄ ³⁻ , Fe(CN) ₆ ³⁻	0.4	0.726	0.505	0.394	0.16	0.095
Th ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , Ce ⁴⁺ , Sn ⁴⁺	1.1	0.587	0.348	0.252	0.10	0.063
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	0.5	0.569	0.305	0.200	0.047	0.020

^aCalculados con la ecuación a2.3.

en la tabla a2.1. También se presentan los coeficientes de actividad calculados a partir de la ecuación a2.3 que utiliza estos valores para el parámetro del tamaño.

Para fuerzas iónicas hasta 0.01, los coeficientes de actividad de la ecuación de Debye-Hückel dan resultados, a partir de los cálculos de los equilibrios, que concuerdan mucho con los experimentales; incluso a fuerzas iónicas de 0.1, no se encuentran grandes discrepancias. Sin embargo, a fuerzas iónicas más altas, la

ecuación falla, y se tienen que utilizar los coeficientes de actividad medios determinados experimentalmente. Es una lástima que muchos cálculos electroquímicos requieren disoluciones de elevada fuerza iónica para las que no se dispone de coeficientes de actividad experimentales. Por tanto, hay que emplear concentraciones en lugar de actividades; deben esperarse incertidumbres que varíen desde unos porcentajes relativos bajos hasta un orden de magnitud.

APÉNDICE TRES ALGUNOS POTENCIALES ESTÁNDAR Y FORMALES DE ELECTRODO

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Aluminio		
$\text{Al}^{3+} + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Al}(s)$	-1.662	
Antimonio		
$\text{Sb}_2\text{O}_5(s) + 6\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{SbO}^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	+0.581	
Arsénico		
$\text{H}_3\text{AsO}_4 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+0.559	0.577 en 1 M HCl, HClO ₄
Azufre		
$\text{S}(s) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S}(g)$	+0.141	
$\text{H}_2\text{SO}_3 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons \text{S}(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+0.450	
$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+0.172	
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0.08	
$\text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{2-}$	+2.01	
Bario		
$\text{Ba}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ba}(s)$	-2.906	
Bismuto		
$\text{BiO}^+ + 2\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Bi}(s) + \text{H}_2\text{O}$	+0.320	
$\text{BiCl}_4^- + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Bi}(s) + 4\text{Cl}^-$	+0.16	
Bromo		
$\text{Br}_2(l) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1.065	1.05 en 4 M HCl
$\text{Br}_2(ac) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1.087 ^c	
$\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Br}_2(l) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.52	
$\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Br}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.44	
Cadmio		
$\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cd}(s)$	-0.403	
Calcio		
$\text{Ca}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ca}(s)$	-2.866	
Carbono		
$\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ (quinona) + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	+0.699	0.696 en 1 M HCl, HClO ₄ , H ₂ SO ₄
$2\text{CO}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	-0.49	
Cerio		
$\text{Ce}^{4+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ce}^{3+}$		+1.70 en 1 M HClO ₄ ; +1.61 en 1 M HNO ₃ ; +1.44 en 1 M H ₂ SO ₄
Cloro		
$\text{Cl}_2(g) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+1.359	
$\text{HClO} + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Cl}_2(g) + \text{H}_2\text{O}$	+1.63	
$\text{ClO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{Cl}_2(g) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.47	

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Cobalto		
$\text{Co}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Co}(s)$	-0.277	
$\text{Co}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Co}^{2+}$	+1.808	
Cobre		
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s)$	+0.337	
$\text{Cu}^{2+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}^+$	+0.153	
$\text{Cu}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s)$	+0.521	
$\text{Cu}^{2+} + \text{I}^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{CuI}(s)$	+0.86	
$\text{CuI}(s) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}(s) + \text{I}^-$	-0.185	
Cromo		
$\text{Cr}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cr}^{2+}$	-0.408	
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cr}(s)$	-0.744	
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	+1.33	
Estaño		
$\text{Sn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Sn}(s)$	-0.136	-0.16 en 1 M HClO_4
$\text{Sn}^{4+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+}$	+0.154	0.14 en 1 M HCl
Flúor		
$\text{F}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{HF}(ac)$	+3.06	
Hidrógeno		
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2(g)$	0.000	-0.005 en 1 M HCl , HClO_4
Hierro		
$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}(s)$	-0.440	
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+0.771	0.700 en 1 M HCl ; 0.732 en 1 M HClO_4 ; 0.68 en 1 M H_2SO_4
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	+0.36	0.71 en 1 M HCl ; 0.72 en 1 M HClO_4 , H_2SO_4
Litio		
$\text{Li}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Li}(s)$	-3.045	
Magnesio		
$\text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mg}(s)$	-2.363	
Manganeso		
$\text{Mn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}(s)$	-1.180	
$\text{Mn}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+}$		1.51 en 7.5 M H_2SO_4
$\text{MnO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.23	
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	+1.51	
$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{MnO}_2(s) + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.695	
$\text{MnO}_4^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{MnO}_4^{2-}$	+0.564	
Mercurio		
$\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l)$	+0.788	0.274 en 1 M HCl ; 0.776 en 1 M HClO_4 ; 0.674 en 1 M H_2SO_4
$2\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+}$	+0.920	0.907 en 1 M HClO_4
$\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}(l)$	+0.854	
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(s) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + 2\text{Cl}^-$	+0.268	0.244 en sat KCl ; 0.282 en 1 M KCl ; 0.334 en 0.1 M KCl
$\text{Hg}_2\text{SO}_4(s) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + \text{SO}_4^{2-}$	+0.615	

Semirreacción	E^0, V^a	Potencial formal, V^b
Níquel		
$Ni^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Ni(s)$	-0.250	
Nitrógeno		
$N_2(g) + 5H^+ + 4e^- \rightleftharpoons N_2H_5^+$	-0.23	
$HNO_2 + H^+ + e^- \rightleftharpoons NO(g) + H_2O$	+1.00	
$NO_3^- + 3H^+ + 2e^- \rightleftharpoons HNO_2 + H_2O$	+0.94	0.92 en 1 M HNO_3
Oxígeno		
$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1.776	
$HO_2^- + H_2O + 2e^- \rightleftharpoons 3OH^-$	+0.88	
$O_2(g) + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1.229	
$O_2(g) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2O_2$	+0.682	
$O_3(g) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons O_2(g) + H_2O$	+2.07	
Paladio		
$Pd^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Pd(s)$	+0.987	
Plata		
$Ag^+ + e^- \rightleftharpoons Ag(s)$	+0.799	0.228 en 1 M HCl ; 0.792 en 1 M $HClO_4$; 0.77 en 1 M H_2SO_4
$AgBr(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + Br^-$	+0.073	
$AgCl(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + Cl^-$	+0.222	0.228 en 1 M KCl
$Ag(CN)_2^- + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + 2CN^-$	-0.31	
$Ag_2CrO_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2Ag(s) + CrO_4^{2-}$	+0.446	
$AgI(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + I^-$	-0.151	
$Ag(S_2O_3)_2^{3-} + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + 2S_2O_3^{2-}$	+0.017	
Platino		
$PtCl_4^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons Pt(s) + 4Cl^-$	+0.73	
$PtCl_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons PtCl_4^{2-} + 2Cl^-$	+0.68	
Plomo		
$Pb^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Pb(s)$	-0.126	-0.14 en 1 M $HClO_4$; -0.29 en 1 M H_2SO_4
$PbO_2(s) + 4H^+ + 2e^- \rightleftharpoons Pb^{2+} + 2H_2O$	+1.455	
$PbSO_4(s) + 2e^- \rightleftharpoons Pb(s) + SO_4^{2-}$	-0.350	
Potasio		
$K^+ + e^- \rightleftharpoons K(s)$	-2.925	
Selenio		
$H_2SeO_3 + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons Se(s) + 3H_2O$	+0.740	
$SeO_4^{2-} + 4H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2SeO_3 + H_2O$	+1.15	
Sodio		
$Na^+ + e^- \rightleftharpoons Na(s)$	-2.714	
Talio		
$Tl^+ + e^- \rightleftharpoons Tl(s)$	-0.336	-0.551 en 1 M HCl ; -0.33 en 1 M $HClO_4$, H_2SO_4
$Tl^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons Tl^+$	+1.25	0.77 en 1 M HCl
Titanio		
$Ti^{3+} + e^- \rightleftharpoons Ti^{2+}$	-0.369	
$TiO^{2+} + 2H^+ + e^- \rightleftharpoons Ti^{3+} + H_2O$	+0.099	0.04 en 1 M H_2SO_4

Semirreacción	E^0 , V ^a	Potencial formal, V ^b
Uranio		
$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+0.334	
Vanadio		
$\text{V}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{V}^{2+}$	-0.256	0.21 en 1 M HClO_4
$\text{VO}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{V}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	+0.359	
$\text{V}(\text{OH})_4^+ + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{VO}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.00	1.02 en 1 M HCl , HClO_4
Yodo		
$\text{I}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0.5355	
$\text{I}_2(\text{ac}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$	+0.615 ^c	
$\text{I}_3^- + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0.536	
$\text{ICl}_2^- + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(\text{s}) + 2\text{Cl}^-$	+1.056	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(\text{s}) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.196	
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{I}_2(\text{aq}) + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.178 ^c	
$\text{IO}_3^- + 2\text{Cl}^- + 6\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons \text{ICl}_2^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.24	
$\text{H}_5\text{IO}_6 + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{IO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.601	
Zinc		
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Zn}(\text{s})$	-0.763	

^aG. Milazzo, S. Caroli y V. K. Sharma, *Tables of Standard Electrode Potentials*, Londres: Wiley, 1978.

^bE. H. Swift y E. A. Butler, *Quantitative Measurements and Chemical Equilibria*, Nueva York: Freeman, 1972.

^cEstos potenciales son hipotéticos porque corresponden a disoluciones que son 1.00 M en Br_2 o I_2 . Las solubilidades de estos dos compuestos a 25°C son 0.18 M y 0.0020 M, respectivamente. En disoluciones saturadas que contienen un exceso de $\text{Br}_2(\text{l})$ o $\text{I}_2(\text{s})$, deberían usarse los potenciales estándar de la semirreacción $\text{Br}_2(\text{l}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$ o bien $\text{I}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{I}^-$. Por el contrario, a concentraciones de Br_2 y I_2 menores que la de saturación, deberían utilizarse estos hipotéticos potenciales de electrodo.

APÉNDICE CUATRO COMPUESTOS RECOMENDADOS PARA LA PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES PATRÓN DE ALGUNOS ELEMENTOS COMUNES^a

Elemento	Compuesto	PM	Disolvente ^b	Notas
Aluminio	Al metálico	26.98	HCl caliente dil.	a
Antimonio	KSbOC ₄ H ₄ O ₆ · $\frac{1}{2}$ H ₂ O	333.93	H ₂ O	c
Arsénico	As ₂ O ₃	197.84	Hcl dil.	i,b,d
Azufre	K ₂ SO ₄	174.27	H ₂ O	
Bario	BaCO ₃	197.35	Hcl dil.	
Bismuto	Bi ₂ O ₃	465.96	HNO ₃	
Boro	H ₃ BO ₃	61.83	H ₂ O	d,e
Bromo	KBr	119.01	H ₂ O	a
Cadmio	CdO	128.40	HNO ₃	
Calcio	CaCO ₃	100.09	dil HCl	i
Cerio	(NH ₄) ₂ Ce(NO ₃) ₆	548.23	H ₂ SO ₄	
Cobalto	Co metálico	58.93	HNO ₃	a
Cobre	Cu metálico	63.55	HNO ₃ dil.	a
Cromo	K ₂ Cr ₂ O ₇	294.19	H ₂ O	i,d
Estaño	Sn metálico	118.69	HCl	
Estroncio	SrCO ₃	147.63	HCl	a
Flúor	NaF	41.99	H ₂ O	b
Fósforo	KH ₂ PO ₄	136.09	H ₂ O	
Hierro	Fe metálico	55.85	HCl, caliente	a
Lantano	La ₂ O ₃	325.82	HCl, caliente	f
Litio	Li ₂ CO ₃	73.89	HCl	a
Magnesio	MgO	40.31	HCl	
Manganeso	MnSO ₄ · H ₂ O	169.01	H ₂ O	g
Mercurio	HgCl ₂	271.50	H ₂ O	b
Molibdeno	MoO ₃	143.94	1 M NaOH	
Níquel	Ni metálico	58.70	HNO ₃ , caliente	a
Plata	AgNO ₃	169.87	H ₂ O	a
Plomo	Pb(NO ₃) ₂	331.20	H ₂ O	a
Potasio	KCl	74.56	H ₂ O	a
	KHC ₈ H ₄ O ₄	204.23	H ₂ O	i,d
	K ₂ Cr ₂ O ₇	294.19	H ₂ O	i,d
Silicio	Si metálico	28.09	NaOH, concentr.	
	SiO ₂	60.08	HF	j
Sodio	NaCl	58.44	H ₂ O	i
	Na ₂ C ₂ O ₄	134.00	H ₂ O	i,d

Titanio	Ti metálico	47.90	H ₂ SO ₄ , 1:1	a
Uranio	U ₃ O ₈	842.09	HNO ₃	d
Vanadio	V ₂ O ₅	181.88	HCl, caliente	
Wolframio	Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O	329.86	H ₂ O	h
Yodo	KIO ₃	214.00	H ₂ O	i
Zinc	ZnO	81.37	HCl	a

^a Los datos de esta tabla se tomaron de una lista más completa recopilada por B. W. Smith y M. L. Parsons, *J. Chem. Educ.*, **1973**, 50, p. 679. A menos que se indique, los compuestos deben desecarse a 110°C hasta peso constante.

^b A menos que se especifique, los ácidos concentrados son de calidad para análisis.

a Se aproxima a la calidad de un patrón primario.

b Muy tóxico.

c Pierde $\frac{1}{2}$ H₂O a 110°C. Después de desecarlo, pm = 324.92. El compuesto desecado debe pesarse rápidamente cuando se saca del desecador.

d Disponible como patrón primario a través del *National Institute of Standards and Technology*.

e El H₃BO₃ debe pesarse directamente de la botella. Pierde una molécula de H₂O a 100°C y es difícil desecarlo hasta peso constante.

f Absorbe CO₂ y H₂O. Debería calcinarse justo antes de usarlo.

g Puede desecarse a 110°C sin que pierda agua.

h Pierde las dos moléculas de agua a 110°C, pm = 293.82. Después de desecarlo, guárdelo en el desecador.

i Patrón primario.

j El HF es muy tóxico y ataca el vidrio.

RESPUESTAS A PROBLEMAS SELECCIONADOS

Capítulo 1

- 1.9** $9.00 \times 10^{-4} \text{ M}$
- 1.10** a) $m = 0.0701$; $b = 0.0083$
 b) $s_m = 0.0007$; $s_b = 0.0040$
 c) IC de 95% para $m = 0.0701 \pm 2.78 \times 0.0007 = 0.070 \pm 0.002$
 IC de 95% para $b = 0.0083 \pm 2.78 \times 0.004 = 0.08 \pm 0.01$
 d) $4.87 \pm 0.09 \text{ mM}$
- 1.11** b) $0.410 \mu\text{g/mL}$ c) $S = 3.16V_s + 3.25$
 d) $0.410 \mu\text{g/mL}$

Capítulo 2

- 2.1** a) $R_1 = 500 \Omega$; $R_2 = 2.0 \text{ k}\Omega$; $R_3 = 2.5 \text{ k}\Omega$
 b) 5.0 V c) 0.002 A (2.0 mA)
 d) 0.02 W
- 2.2** a) 4.4 V b) 0.039 W
 c) 30%
- 2.3** a) -15% b) -1.7%
 c) -0.17%
- 2.4** a) $74 \text{ k}\Omega$ b) $740 \text{ k}\Omega$
- 2.5** a) $V_1 = 1.21 \text{ V}$; $V_2 = V_3 = 1.73 \text{ V}$; $V_4 = 12.1 \text{ V}$
 b) $I_1 = I_5 = 1.21 \times 10^{-2} \text{ A}$; $I_2 = 3.5 \times 10^{-3} \text{ A}$; $I_3 = I_4 = 8.6 \times 10^{-3} \text{ A}$
 c) $P = 1.5 \times 10^{-2} \text{ W}$ d) 13.8 V
- 2.6** a) 0.085 W b) $8.0 \times 10^{-3} \text{ A}$ (8.0 mA)
 c) 8.0 V d) 5.3 V
 e) 16 V
- 2.7** 0.535 V
- 2.10** a) $20 \text{ k}\Omega$ b) $2 \text{ M}\Omega$
- 2.13**
- | t, s | $i, \mu\text{A}$ | t, s | $i, \mu\text{A}$ |
|---------------|------------------|---------------|------------------|
| 0.00 | 2.40 | 1.0 | 1.46 |
| 0.010 | 2.39 | 10 | 0.0162 |
| 0.10 | 2.28 | | |
- 2.14** a) 0.69 s b) 0.069 s
 c) $6.9 \times 10^{-5} \text{ s}$
- 2.15** a) 0.15 s b) 0.015 s
 c) $1.5 \times 10^{-5} \text{ s}$

Capítulo 3

- 3.1** a) $v_+ > v_-$ por $65 \mu\text{V}$ para límite + y $v_- > v_+$ por $75 \mu\text{V}$ para límite -

- b) $v_+ > v_-$ por $26 \mu\text{V}$ para límite + y $v_- > v_+$ por $28 \mu\text{V}$ para límite -
 c) $v_+ > v_-$ por $8.7 \mu\text{V}$ para límite + y $v_- > v_+$ por $9.3 \mu\text{V}$ para límite -

- 3.2** 1.0×10^4 o 80 dB
- 3.3** 2.6×10^6
- 3.4** a) 0.001% b) $1.0 \times 10^{-6}\%$
- 3.6** $R_1 = 2.9 \text{ k}\Omega$; $R_2 = 7.1 \text{ k}\Omega$
- 3.11** $t_r = 6.7 \text{ ns}$; $\Delta v/\Delta t = 1500 \text{ V}/\mu\text{s}$
- 3.16** a) $v_o = \frac{v_1 R_{f1} R_{f2}}{R_1 R_4} + \frac{v_2 R_{f1} R_{f2}}{R_2 R_4} - \frac{v_3 R_{f2}}{R_3}$
 b) $v_o = v_1 + 4v_2 - 40v_3$
- 3.21** 34.0 cm de extremo común

Capítulo 4

- 4.1** a) 11000 b) 1011011
 c) 10000111 d) 110001100
- 4.2** a) 0010 1000 b) 1001 0001
 c) 0001 0011 0101 d) 0011 1001 0110
- 4.4** a) 5 b) 21
 c) 117 d) 859
- 4.5** a) 4 b) 89
 c) 347 d) 968
- 4.7** a) $1111_2 = 15_{10}$ b) $101110010_2 = 370_{10}$
 c) $111111_2 = 63_{10}$ d) $11000_2 = 24_{10}$
- 4.8** a) 0.039 V b) 0.0024 V
 c) 0.00015 V
- 4.11** a) 1 Hz b) 20 Hz
- 4.12** 62.5 kHz

Capítulo 5

- 5.7** a) $S/N = 358$ b) $n = 18$
- 5.8** a) $S/N = 5.3$ b) $n = 29$
- 5.9** $1.28 \times 10^{-4} \text{ V}$; ruido reducido en un factor de 100
- 5.10** $n = 100$
- 5.11** $(S/N)_{50} = 7.1(S/N)_1$; $(S/N)_{200} = 14.1(S/N)_1$
- 5.12** $(S/N)_D = 3.9(S/N)_A$

Capítulo 6

- 6.2** $\nu = 4.80 \times 10^{17} \text{ Hz}$; $E = 3.18 \times 10^{-16} \text{ J}$; $E = 1.99 \times 10^3 \text{ eV}$
- 6.3** $\nu = 8.524 \times 10^{13} \text{ s}^{-1}$; $\bar{\nu} = 2843 \text{ cm}^{-1}$; $E = 5.648 \times 10^{-20} \text{ J}$
- 6.4** $\lambda = 81.5 \text{ cm}$; $E = 5.40 \times 10^{-26} \text{ J}$
- 6.5** $\nu_{\text{especie}} = 2.75 \times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$; $\nu = 5.09 \times 10^{14} \text{ Hz}$; $\lambda_{\text{especie}} = 540 \text{ nm}$
- 6.6** 2.42
- 6.7** 260 nm
- 6.8** 469 nm
- 6.9** **a)** $6.02 \times 10^{-20} \text{ J}$ **b)** $3.64 \times 10^5 \text{ m s}^{-1}$
- 6.10** 1.8 μm
- 6.11** **a)** 393 nm **b)** 448 nm
- 6.12** 17.3%
- 6.14** **a)** 52.7%; **b)** 3.17%; **c)** 91.4%
- 6.15** **a)** 0.524; **b)** 0.065; **c)** 1.53
- 6.16** **a)** 72.6%; **b)** 17.8%; **c)** 95.6%
- 6.17** **a)** 0.825; **b)** 0.366; **c)** 1.83
- 6.18** $4.98 \times 10^{-3} \text{ M}$
- 6.19** $1.35 \times 10^{-4} \text{ M}$

Capítulo 7

- 7.3** **a)** 580 nm **b)** 967 nm
c) 1.93 μm
- 7.4** **a)** $3.56 \times 10^7 \text{ W m}^{-2}$ **b)** $4.61 \times 10^6 \text{ W m}^{-2}$
c) $2.88 \times 10^5 \text{ W m}^{-2}$
- 7.5** **a)** 1010 nm y 829 nm
b) $3.86 \times 10^2 \text{ W cm}^{-2}$ y $8.54 \times 10^2 \text{ W cm}^{-2}$
- 7.9** **a)** 2.43 μm **b)** 3.48 μm , 2.17 μm , etc.
- 7.12** 1985 líneas/mm
- 7.13** $\lambda/\Delta\lambda = 1260$; $\Delta\bar{\nu} = 0.95 \text{ cm}^{-1}$
- 7.16** 3.26
- 7.18** **a)** 4.50×10^4
b) 0.42 nm/mm y 0.21 nm/mm
- 7.22** **a)** $1.6 \times 10^5 \text{ Hz}$ **b)** $9.6 \times 10^4 \text{ Hz}$
c) $1.0 \times 10^4 \text{ Hz}$ **d)** $2.2 \times 10^3 \text{ Hz}$
- 7.23** **a)** 2.5 cm **b)** 0.075 cm

Capítulo 8

- 8.8** **a)** $5.7 \times 10^{-3} \text{ nm}$ (0.057 Å)
b) $6.9 \times 10^{-3} \text{ nm}$ (0.069 Å)
- 8.9** para Na y Mg^+ , respectivamente, N_f/N_0
a) 3.8×10^{-6} y 1.2×10^{-12}
b) 7.6×10^{-4} y 8.0×10^{-8}
c) 0.10 y 2.5×10^{-3}

Capítulo 9**9.11** 104 mm**9.12**

	Altura	T	$N_f/N_0 \times 10^4$	I_x/I_y
a)	2.0	1973	2.22	1.00
b)	3.0	2136	4.58	2.06
c)	4.0	2092	3.81	1.72
d)	5.0	1998	2.50	1.13

9.14

	Na	Mg^+
a)	2.7×10^{-5}	6.9×10^{-11}
b)	6.6×10^{-4}	5.9×10^{-8}
c)	0.051	5.7×10^{-4}

9.15 **a)** 1.2×10^{-5} **b)** 1.8×10^{-2} **9.16** $0.046 \pm 0.009 \mu\text{g Pb/mL}$ **9.20** 0.297 ppm Pb**Capítulo 10****10.4** **a)** 2.9 Å/mm **b)** 0.97 Å/mm**Capítulo 12****12.1** 0.138 Å**12.2**

	V_{min} para $\text{K}\beta_1$, kV	V_{min} para $\text{L}\beta_1$, kV
a)	112	17.2
b)	3.59	Ninguna línea
c)	15.0	1.75
d)	67.4	9.67

12.5 $1.69 \times 10^{-3} \text{ cm}$ **12.6** $4.92 \text{ cm}^2/\text{g}$ **12.7** $4.82 \times 10^{-3} \text{ cm}$ **12.8** **a)** 1.39% **b)** 0.262%**12.9** para Fe, Se y Ag, respectivamente,**a)** 80.9°, 42.9° y 21.1°**b)** 51.8°, 28.5° y 14.2°**c)** 36.4°, 20.3° y 10.1°**12.11** **a)** 4.05 kV **b)** 1.32 kV**c)** 20.9 kV **d)** 25.0 kV**Capítulo 13****13.1** **a)** 91.6% **b)** 11.0%**c)** 39.9% **d)** 57.4%**e)** 36.7% **f)** 20.3%**13.2** **a)** 0.801 **b)** 0.308**c)** 0.405 **d)** 0.623**e)** 1.07 **f)** 1.27

- 13.3** a) 95.7% b) 33.2%
 c) 63.2% d) 75.8%
 e) 60.6% f) 45.1%
13.4 a) 0.500 b) 0.007
 c) 0.103 d) 0.322
 e) 0.770 f) 0.968
13.5 $1.80 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
13.7 a) 0.353 b) 44.4%
 c) $1.52 \times 10^{-5} \text{ M}$
13.8 a) 0.244 b) 0.305
 c) 57.0% y 49.5% d) 0.545
13.9 0.124
13.15 a) 51.4% T y $A = 0.289$
 b) 0.717 c) 0.264

Capítulo 14

- 14.1** 21.1 ppm
14.2 0.0684%
14.6 $3.89 \times 10^{-5} \text{ M}$
14.7 0.0149%
14.8 a) $c_{\text{Ni}} = 6.75 \times 10^{-5} \text{ M}$; $c_{\text{Co}} = 5.90 \times 10^{-5} \text{ M}$
 b) $c_{\text{Co}} = 1.88 \times 10^{-4} \text{ M}$; $c_{\text{Ni}} = 3.99 \times 10^{-5} \text{ M}$
14.9 a) $c_{\text{A}} = 3.95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $c_{\text{B}} = 5.69 \times 10^{-6} \text{ M}$
 b) $c_{\text{A}} = 2.98 \times 10^{-5} \text{ M}$; $c_{\text{B}} = 1.23 \times 10^{-6} \text{ M}$
14.10 a) At 485 nm, $\varepsilon_{\text{In}} = 150$; $\varepsilon_{\text{HIn}} = 974$.
 At 625 nm, $\varepsilon_{\text{In}} = 1808$; $\varepsilon_{\text{HIn}} = 362$.
 b) $K_{\text{a}} = 1.86 \times 10^{-6}$ c) $\text{pH} = 4.58$
 d) $K_{\text{a}} = 1.81 \times 10^{-6}$
 e) $A_{485} = 0.131$; $A_{625} = 0.391$
14.14 $c_{\text{Al}} = 0.57 \mu\text{M}$
14.15 [triptamina] = $4.5 \times 10^{-2} \text{ M}$
14.21 $K_{\text{f}} = 7.16 \times 10^9$
14.22 $K_{\text{f}} = 3.28 \times 10^5$

Capítulo 15

- 15.7** b) $F = 22.35c + 3.57 \times 10^{-4}$
 d) 0.544 $\mu\text{mol/L}$ e) 0.015%
 f) 0.010%
15.9 490 mg
15.10 3.43%
15.11 $1.35 \times 10^{-5} \text{ M}$

Capítulo 16

- 16.1** a) $1.90 \times 10^3 \text{ N/m}$ b) 2083 cm^{-1}
16.2 a) $4.81 \times 10^2 \text{ N/m}$ b) 2075 cm^{-1}
16.4 $1.4 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ o $0.70 \mu\text{m}$
16.5 $1.3 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ o $0.75 \mu\text{m}$
16.6 tres modos vibracionales y tres bandas de absorción.

- 16.7** a) inactiva b) activa
 c) activa d) activa
 e) inactiva f) activa
 g) inactiva

16.10 a) $N_1/N_0 = 8.9 \times 10^{-7}$ b) $N_2/N_0 = 7.9 \times 10^{-13}$

16.13 256 interferogramas

- 16.14** a) 3.20 kHz b) 3.27 kHz
 c) 3.33 kHz

Capítulo 17

- 17.2** alcohol vinílico, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$
17.4 acroleína, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$ con H_2O como contaminante
17.5 propanonitrilo, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{N}$
17.9 $8.9 \times 10^{-3} \text{ cm}$
17.10 0.022 cm
17.11 $7.9 \times 10^{-3} \text{ cm}$

Capítulo 18

$\Delta\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$	a) $\lambda_{\text{ex}} = 632.8 \text{ nm}$		b) $\lambda_{\text{ex}} = 488.0 \text{ nm}$	
	λ_{st}	λ_{as}	λ_{st}	λ_{as}
218	641.7	624.2	493.2	482.9
314	645.6	620.5	495.6	480.6
459	651.7	614.9	499.2	477.3
762	664.9	603.7	506.8	470.5
790	666.1	620.7	507.6	469.9

- 18.4** a) 2.83
 b) La efectividad del detector depende de la longitud de onda.
18.5 a) 0.342 (20°C) y 0.367 (40°C)
 b) 0.105 y 0.121 c) 0.0206 y 0.0264
18.7 a) $\frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} = 0.77$ b) $\frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} = 0.012$ polarizado
 c) $\frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} = 0.076$ polarizado d) $\frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} = 0.76$

Capítulo 19

- 19.7** a) 301 MHz b) 75.5 MHz
 c) 283 MHz d) 121 MHz
19.8 a) 60 MHz b) 200 MHz
 c) 301 MHz d) 499 MHz
19.9 a) 299 Hz b) 450 Hz
 c) 1200 Hz
 d) $\delta = 1.5$ independiente de la fuerza del campo
19.11 $N_j/N_0 = 0.9999878$
19.17 $N_j/N_0 = 0.99998$

Capítulo 20

- 20.5** a) 0.126–0.498 T b) 3000–192 V
20.6 5.97 V

20.7 44.3 μs

- 20.11 a) 2.22×10^3 b) 770
 c) 7.09×10^4 d) 4.15×10^3

- 20.13 a) $(M + 2)^+/M^+ = 1.96$
 $(M + 4)^+/M^+ = 0.96$
 b) $(M + 2)^+/M^+ = 1.30$
 $(M + 4)^+/M^+ = 0.32$
 c) $(M + 2)^+/M^+ = 0.65$
 $(M + 4)^+/M^+ = 0.106$

Capítulo 21

- 21.4 a) 165.4 eV b) SO_3^{2+}
 c) 1306.6 eV d) 1073.5 eV
- 21.5 a) 406.3 eV b) 819.5 eV
 c) Al obtener el pico con fuentes de energía distinta, como los tubos de rayos X de Al y de Mg, los picos de Auger no cambian con las dos fuentes, pero los picos de XPS sí lo hacen.
 d) 403.4 eV

Capítulo 22

- 22.1 a) 0.705 V b) 0.642 V
 c) 0.141 V
- 22.2 a) 0.015 V b) 0.826 V
 c) 0.484 V
- 22.3 a1) -0.101 V a2) -0.104 V
 b1) 0.771 V b2) 0.750 V
- 22.4 a1) 0.163 V a2) 0.159 V
 b1) 0.163 V b2) 0.140 V
- 22.5 a) -0.043 V b) -0.10 V
 c) 0.694 V d) 0.178 V
- 22.6 a) 1.20 V b) 0.307 V
- 22.7 a) 0.326 V espontánea como está escrita
 b) -0.685 V no espontánea como está escrita
 c) -0.867 V no espontánea como está escrita
- 22.8 a) -0.357 V no espontánea como está escrita
 b) 1.23 V espontánea como está escrita
 c) 0.571 V espontánea como está escrita
- 22.9 -0.90 V
- 22.10 -0.367 V
- 22.11 -0.037 V
- 22.12 -1.92 V
- 22.13 1.85×10^{-4}
- 22.14 1.0×10^{-15}
- 22.15 0.268 V
- 22.16 -0.644 V
- 22.17 0.24 V

Capítulo 23

- 23.13 a) 0.540 V b) -1.085 V
 c) -0.583 V d) 0.482 V
- 23.14 a) 0.031 V
 b) $\text{SCE}||\text{CuBr}(\text{sat}), \text{Br}^-(x\text{M})|\text{Cu}$
 c) $p\text{Br} = (E_{\text{cel}} + 0.213)/0.0592$
 d) 1.99
- 23.15 a) 0.366 V
 b) $\text{SCE}||\text{Ag}_3\text{AsO}_4(\text{sat}), \text{AsO}_4^{3-}(x\text{M})|\text{Ag}$
 c) $p\text{AsO}_4 = \frac{(E_{\text{cel}} - 0.122) \times 3}{0.0592}$
 d) 6.33
- 23.16 6.22
- 23.17 5.61
- 23.18 0.604 V
- 23.19 9.8×10^6
- 23.20 a) $5.21 \text{ y } 6.18 \times 10^{-6}$
 b) $4.07 \text{ y } 8.51 \times 10^{-5}$
 c) para a), $5.19-5.23$; para b), $4.05-4.09$
- 23.21 3.77
- 23.22 2.75×10^{-16}
- 23.23 1.69×10^{-5}
- 23.25 a) 5.4
 b) $3.64 \times 10^{-6}-4.97 \times 10^{-6}$
 c) -23.3% y 16.7%
- 23.26 $4.28 \times 10^{-4}\%$

Capítulo 24

- 24.1 a) -1.342 V b) 0.238 V
- 24.2 a) -0.050 V b) -0.079 V
 c) -0.199 V d) -0.189 V
 e) -0.043 V
- 24.5 a) 0.432 V b) 0.266 V
 c) -0.101 V
- 24.6 a) 19.6 min b) 6.55 min
- 24.7 a) 7.83 min b) 5.22 min
 c) 2.61 min
- 24.9 0.731%
- 24.10 665 g/equiv
- 24.11 $33.7 \mu\text{g}$

Capítulo 25

- 25.10 a) -0.059 V b) $+0.059 \text{ V}$
- 25.11 6.7 mV/s
- 25.13 $2.23 \times 10^{-4} \text{ M}$

Capítulo 26

- 26.14 a) $N_A = 2775$ b) $\bar{N} = 2533$ o 2500
 $N_B = 2472$ $s = 200$
 $N_C = 2364$
 $N_D = 2523$
 c) $H = 0.0097 \text{ cm}$

- 26.15 a) $k_A = 0.74$
 $k_B = 3.3$
 $k_C = 3.5$
 $k_D = 6.0$
- b) $K_A = 6.2$
 $K_B = 27$
 $K_C = 30$
 $K_D = 50$
- 26.16 a) $R_s = 0.72$
 c) $L = 108$ cm
- b) $\alpha_{C,B} = 1.08$
 d) $(t_R)_2 = 61.7$ o 62 min
- 26.17 a) $R_s = 5.2$
- b) $L = 2.0$ cm
- 26.18 a) $\bar{N} = 2.7 \times 10^3$
 c) $H = 0.015$
- b) $s = 100$
- 26.19 a) $R_s = 1.1$
 c) $R_s = 3.7$
- b) $R_s = 2.7$
- 26.20 a) $N = 4.7 \times 10^3$
 c) $t_R = 19$ min
- b) $L = 69$ cm
- 26.21 a) $k_1 = 4.3$; $k_2 = 4.7$; $k_3 = 6.1$
 b) $K_1 = 14$; $K_2 = 15$; $K_3 = 19$
 c) $\alpha_{2,1} = 1.11$; $\alpha_{3,2} = 1.28$
- 26.22 deshidroepiandrosterona = 14.99%; estradiol = 18.10%; estrona = 27.40%; testosterona = 22.99%;
 estriol = 16.52%

Capítulo 27

- 27.21 558
- 27.22 a) 30.2 mL/min
 b) 8.3 mL; 54.7 mL; 115.0 mL; 219.1 mL
 c) 24.1 mL/g; 55.5 mL/g; 109.6 mL/g
 d) $K_1 = 33.8$; $K_2 = 77.8$; $K_3 = 154$
 e) $t'_R = 35.83$ min; $V_R^0 = 990$ mL
- 27.23 a) $k_1 = 5.6$; $k_2 = 13$; $k_3 = 25$
 b) $\alpha_{2,1} = 2.3$; $\alpha_{3,2} = 2.0$
 c) $\bar{N} = 1.7 \times 10^3$ platos; $H = 0.064$ cm
 d) $(R_s)_{2,1} = 7.5$; $(R_s)_{3,2} = 6.4$

Capítulo 28

- 28.11 a) acetato de etilo, dimetilamina, ácido acético
 b) hexano, propileno, benceno, diclorobenceno

28.20

R_s	N
0.50	5 476
0.75	12 321
0.90	17 742
1.0	21 904
1.10	26 504
1.25	34 225
1.50	49 284
1.75	67 081
2.0	87 616
2.5	136 900

Si el segundo pico fuera el doble del ancho del primero, R_s y N serían menores.

28.21

Tiempo, h	Concentración de ibuprofeno, mg/mL	% de cambio/0.5 h
0		
0.5	14.05	
1.0	12.28	12.61
1.5	7.79	36.53
2.0	5.62	27.85
3.0	3.34	20.29
4.0	2.86	7.17
6.0	2.43	3.76
8.0	1.90	5.42

Según la tabla, la pérdida de porcentaje mayor sucede entre 1.0 y 1.5 h.

- 28.22 a) $k_1 = 26.7$
 b) 71% CHCl_3 y 29% n -hexano

Capítulo 30

- 30.5 a) 1.1×10^5 b) 2.2×10^5 c) 6.6×10^5
- 30.6 3.9 min

Capítulo 31

- 31.2 %Ca = 18.1
 %Ba = 22.4

Capítulo 32

- 32.4 5.95 días
- 32.5 a) 10 cuentas o 10.0%
 b) 27.4 cuentas o 3.65%
 c) 83.7 cuentas o 1.20%
 d) 141 cuentas o 0.71%
- 32.6 a) 64 cuentas o 5.8% b) 55 cuentas o 6.9%
 c) 73 cuentas o 9.1%
- 32.7 a) 443 cpm b) 5.79 cpm
 c) IC de 95% = 443 ± 11 cpm
- 32.8 a) 708 cuentas b) 379 cuentas
- 32.9 18.4 h
- 32.10 14.5 h
- 32.13 560 mL
- 32.14 5.31 mg
- 32.15 36 g
- 32.17 3.46 ppm

Capítulo 34

- 34.10 11.4 nm; el diámetro de una esfera hipotética con el mismo coeficiente de difusión translacional
- 34.11 1.22×10^{-10} cm²/s
- 34.12 1.92×10^{-10} cm/s; 5.2×10^9 s
- 34.13 70.4 min; 8952 G
- 34.14 145 nm

Apéndice 1

a1.1

		A	B	C	D
a)	$\bar{x}$	61.43	3.25	12.10	2.65
	df	3	6	2	4
b)	s	0.11	0.02	0.06	0.21
	df	2	5	1	3
c)	CV	0.17%	0.60%	0.47%	7.9%
d)	s_m	0.061	0.008	0.040	0.10

a1.2

		A	B	C	D
a)	Error absoluto	-0.28	-0.03	-0.13	-0.10
b)	Error relativo	-0.45%	-0.82%	-1.1%	-3.8%

a1.3 a) -2.0% b) -0.5%
 c) -0.2% d) -0.1%

a1.4 a) 10 g b) 2.1 g
 c) 1.3 g d) 0.87 g

a1.5 $N = 1 \times 10^4$ a1.6 $N = 13.5$ (14 repeticiones)

a1.7 -25 ppt

a1.8

Muestras	Media	Desviación estándar
1	5.12	0.08
2	7.11	0.12
3	3.99	0.12
4	4.74	0.10
5	5.96	0.11

- b) $s_{\text{comb}} = 0.11\%$
 c) s_{comb} es un promedio ponderado de los valores aproximados de σ . Usa todos los datos de las cinco muestras. La confiabilidad de s mejora con el número de resultados.

a1.9 a)

Botella	Desviación estándar
1	0.096
2	0.077
3	0.084
4	0.090
5	0.104
6	0.083

b) $s_{\text{comb}} = 0.088$

a1.10

	s_y	CV	y
a)	0.030	-2%	1.44(± 0.03)
b)	0.089	0.42%	21.26(± 0.09)
c)	0.14×10^{-16}	1.8%	$7.5(\pm 0.1) \times 10^{-16}$
d)	750	0.58%	$1.290(\pm 0.008) \times 10^5$
e)	0.005	6.9%	$7.6(\pm 0.5) \times 10^{-2}$
f)	1.1×10^{-4}	1.34%	$8.1(\pm 0.1) \times 10^{-3}$

a1.11

	s_y	CV	y
a)	3×10^{-10}	-4%	$6.7(\pm 0.3) \times 10^{-9}$
b)	0.1	8.4%	$1.2(\pm 0.1)$
c)	3	25%	$12(\pm 3)$
d)	6.8	4.3%	$158(\pm 7)$
e)	25	50%	$50(\pm 25)$
f)	1.5×10^{-5}	2.4%	$6.0(\pm 0.2) \times 10^{-4}$

a1.12

	A	B	C	D	E	F
$\bar{x}$	3.1	70.19	0.82	2.86	70.53	0.494
s	0.37	0.08	0.05	0.24	0.22	0.016
CI	± 0.46	± 0.20	± 0.08	± 0.30	± 0.34	± 0.020

El intervalo de confianza de 95% establece los valores alrededor de la media en donde debe quedar el valor verdadero 95% de las veces si los errores son aleatorios.

a1.13 Conjunto A, IC de 95% = ± 0.18 ; conjunto B, IC de 95% = ± 0.079 ; conjunto C, IC de 95% = ± 0.009 ; conjunto D, IC de 95% = ± 0.26 ; conjunto E, IC de 95% = ± 0.15 ; conjunto F, IC de 95% = ± 0.013

a1.14 a) $\bar{x} \pm 0.029$ b) $N = 11.9$ o 12 medicionesa1.15 a) $\bar{x} \pm 0.76$ b) $N = 6.9$ o 7 mediciones

a1.16 El sesgo está sugerido en el nivel de confianza de 95%.

a1.17 a) Se sugiere un error sistemático.

b) Ningún error sistemático está demostrado.

a1.18 Para C no se sugiere error sistemático, pero para H se señala un error sistemático.

a1.19 $V = 5.20 \text{ cm}^3$; $s_V = 0.15 \text{ cm}^3$ a1.20 A pH = 2.0, s para $[\text{H}_3\text{O}^+] = 2.3 \times 10^{-4}$; a pH 12.0, s para $[\text{H}_3\text{O}^+] = 2.3 \times 10^{-14}$.

a1.21 $s = 7.5 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$

a1.24 a) pendiente = 5.57, ordenada en el origen = 0.90

c) 1.69 mmol/L

d) Para una medición, $s_{\text{MVK}} = 0.080$; DER = 0.0482 (CV = 4.8%).

Para cuatro mediciones repetidas, $s_{\text{MVK}} = 0.052$; DER = 0.308 (CV = 3.1%).

e) $c_{\text{MVK}} = 3.93 \text{ mmol/L}$

Para una medición, $s_{\text{MVK}} = 0.08$; DER = 0.0203 (CV = 2.03%).

Para cuatro mediciones, $s_{\text{MVK}} = 0.05$; DER = 0.0126 (CV = 1.26%).

ÍNDICE

- 10-Antraquinona, 780
- Aberraciones cromáticas, 141
- Ablación con rayo láser, 227, 292-294
- Ablación por chispa, 227, 266
- Ablación, 227, 292, 604
- Absorbancia
 - corregida, 242-244, 385, 386
 - definición, 158
 - detección indirecta, 873
 - gráfica de, 153, 379, 386
 - intervalo, 360, 376
 - mediciones, 238, 336-341, 346, 375, 376, 455, 467-469
 - perfiles de absorción de llama, 232
- Absorción atómica, 153, 220, 222, 223, 230
 - análisis de, 236, 241, 248
 - electrotérmica, 248, 257
 - instrumentación, 237-244
 - líneas, 237, 250
 - mediciones, 247-249
- Absorción de rayos X
 - análisis, 312
 - aplicaciones de la, 325
 - espectros de la, 307, 308
 - medidas de la, 329
 - muestra total, 323
 - picos de la, 325
- Absorción molecular, 153, 155, 157, 223, 237, 431
- Absorción primaria
 - en fluorescencia, 408
 - en zona de combustión, 231-232
- Absorción secundaria de fluorescencia, 408
- Absortividad, 158, 339, 342, 367 (*véase también* Absortividad molar)
- Absortividad molar, 158, 367, 375
- Abundancia relativa, 581
- ac
 - circuitos, 34-36
 - fuelle de, sinusoidal, 37-39
- Aceleración, 434, 567, 612
 - por la gravedad, 959
- Aceleradores, 919
- Acidificación extracelular, 757, 758
- Ácido
 - constante de disociación, 339, 407, 880
 - error, 247, 644, 645, 671 (*véase también* Electrodo de vidrio)
- Acomodos de fotodiodos, 196-197
- Acrilamida, 890-892
- Actividad
 - coeficientes de, 634, 641, 642, 644, 687, 688, 766, 994-996
 - de radionúclidos, 912-915
 - efectos en los potenciales de electrodo, 634, 639, 640, 687, 688
- Actividad del ion hidrógeno en el electrodo de vidrio, 641, 668, 669
- Agente de resolución quiral, 837, 883
- Algoritmos, 91, 323
- Altura del pulso
 - análisis de la, 917
 - Selectores de, 317-318
- Ambiente químico en NMR, 509, 510, 532, 596
- Amortiguador de radiación, 242
- Amperometría, 716, 718, 720, 826, 874, 940
- Amperostato, 71, 707
- Amplificación, 47, 48, 65, 67, 114, 115, 239, 314, 317, 524
 - de la luz en rayos láser, 168 -171, 174
- Amplificador
 - de cierre, 116, 117, 241, 757
 - de diferencias, 69, 70, 114, 201
 - de voltaje inverso, 64
 - ruido, 116, 317, 344
 - operacional, 59-74
 - transistor del, 46-49
- Amplificador operacional de diferenciación, 73, 122
- Amplificadores operacionales, integración, 71-73
- Amplificador operacional
 - amplificador de diferencias, 69
 - aplicaciones al control del voltaje y la corriente, 70
 - aplicaciones en operaciones matemáticas, 71, 73
 - circuitos del, 62-63, 67, 69, 73, 378, 706
 - detector de cruce cero, 74
 - funciones, 71
 - propiedades del, 59-61
 - seguidor de voltaje, 62
 - usos del, 74
 - voltaje de salida, 706
- Análisis de absorción atómica de llama, 248
- atómico electrotérmico, 243, 247
- UV-visible, 350, 351
- bandas de, 155, 241, 346, 347, 368-402, 408, 437, 438, 464, 473, 476
- electrónicas, 368 493, 494
- superposición de, 468, 469, 474
- borde de, 307-309, 311, 597
- clínico, 681
- cuantitativo absoluto en espectroscopía de Rutherford por retrodispersión, 604
- de composición, 604, 896, 897
- de datos espectroscópicos, programas para, 99
- de inyección sucesivos, 939, 940
- de la división, 748, 749, 754
- de neutrones instrumental, 7, 922
- de radiación electromagnética, 132, 133, 141, 148, 151-156
- de radiación ultravioleta, 367, 368, 823
- de regresión, 11, 323
- de superficie, técnicas especiales de, 604

- del cabello, 584, 964, 965
- detectores, 824, 872
- diferencial, 897, 899
- espectro de, 237, 243, 307, 341, 346, 350, 356, 368, 369, 373, 375
- espectros, 153, 245, 307, 370, 371, 376, 469, 473
- espectroscopía, 148, 241, 369, 374, 431
 - atómica electrotérmica, 296
 - molecular, 336, 368
- filtros para, 176, 180, 413
- frecuencias de, 476, 499, 504, 511
- instrumentos de,
 - líneas de, 237, 242, 243, 368
 - máxima, 356, 367, 369, 375, 467
- mediciones, 204, 351, 374, 474, 823 (*véase también* Mediciones de absorbancia)
- métodos, 157, 273, 325, 872, 900, 907
- picos, superposición de, 378
- por activación, 909, 918, 924
- por inyección en flujo, 225, 247, 383, 931-935, 937, 938, 939-941
- proceso de, 146, 170, 243, 307, 498, 499, 501, 503
- químico, 17, 25, 26
- secundaria, 408
- semicuantitativo, 272, 292, 296, 300, 320
- sin patrón, 323
- sucesivo de inyección, 939
- técnicas de, 894, 908
- térmico diferencial, 897-900, 906, 907
- térmico, 894, 904, 907, 908
- termogravimétrico de alta resolución, 896
- transferencia de carga, 371
- transiciones en la, 402
- voltamétrico orgánico, 747-748
- Análisis elemental
 - mediante espectrometría de masas, 291, 301
 - mediante espectroscopía atómica, 269, 270, 272
 - mediante métodos con rayos X, 318, 324, 325, 328, 330
 - mediante NMR, 529
 - mediante técnicas de superficie, 301, 595, 600-602, 604, 624, 626
- Análisis espectrofotométricos
 - adiciones estándar, 376
 - cuantitativo por mediciones de absorción, 375
 - efectos del ruido instrumental en, 343, 345, 347
 - limpieza y manejo de celdas, 375
- Análisis microtérmicos, 904-906
 - en el caso John Vollman, 964-965
 - por activación de neutrones, 918-924
- Análisis termogravimétrico, 894-897, 906
 - aplicaciones del, 897, 907
- Analito, 1, 2, 9
 - átomos de, 221, 239, 245
 - bandas de, en electroforesis capilar, 873, 880
 - blanco en inmunsensores, 733, 734
 - concentración del, 749
 - desconocida, 11
 - estándar, 12
- cromatografía de, 841
 - electroquímica de, 662, 665, 671, 677
 - espectrometría de masas de, 283, 294, 300, 301, 562, 564
 - migración de, 880
 - negativos en espectrometría de masas, 562
 - positivos en espectrometría de masas, 300
- emisión del, 250
- especies polarizables en cromatografía de gases, 802
- fluorescencia del, 419
- fluorescente en electroforesis capilar, 873
- inestable en cromatografía de fluidos supercríticos, 856, 863
- iones
 - líneas de, 260, 267, 268
- núcleos del, 509, 920
- partículas de, 826
- preconcentración por extracción de fase sólida, 890
- recuperación en separaciones, 862, 863
- semirreacción, 702 (*véase también* Semirreacción)
- señal, 17, 235
- Analizador clínico portátil, i-STAT, 681-682
- Analizador de correlación con filtro infrarrojo, 449
- Analizador multicanal, 317, 319, 595, 603
- Analizadores
 - altura del pulso en, 315-317, 916, 917
 - automáticos, 930-948
 - clínicos computarizados, 681
 - con correlación de filtros, 448
 - con trampa de iones, 569-571
 - de dispersión de energía, 612
 - de fotosedimentación, 958
 - de flujo continuo, 930-932
 - de la energía de los electrones, 594
 - de masas, 291, 557, 560, 566, 570, 574, 588, 594
 - de microsonda, 608
 - de tiempo de vuelo, 603
 - discretos, 929, 930, 945
 - electrostáticos, 290, 568, 603
 - i-STAT, 682
- Analizadores cuadrupolares de masas, 287-290, 569, 575, 576
 - en cromatografía de gases-espectrometría de masas, 798
 - en cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, 828
 - en descarga luminiscente en espectrometría de masas, 300
 - en espectrometría de masas en tándem, 575
 - en plasma de acoplamiento inductivo-espectrometría de masas, 291-292
- Analizadores de masas, 283
 - de doble enfoque, 291
 - de ion secundario, 602, 603
 - de tiempo de vuelo, 290, 798
 - de trampa de iones, 570
 - de sector magnético, 566, 568
 - para el laboratorio en un microcircuito, 941

- Analógicos(as)
 computadoras, 25, 59, 81
 dominios, 5, 6, 74, 88
 filtración, 115
 instrumentos, 344, 378, 608
 osciloscopios, 51
- Anatasa, 624, 625
- Ancho de banda
 de filtros, 177, 179, 180
 de ganancia unitaria, 65
 de monocromadores, 188, 189
 de rayos láser, 173
 en electrónica, 65, 112, 115
 espectral, 184, 347, 373
- Ancho de banda fuera de la columna,
 en cromatografía de
 líquidos, 818
- Anchura de la línea del espectro, 509
- Anchura de la línea natural, 220-221
- Anchura de la rendija, 137
 efecto en la resolución, 188
 elección en el monocromador, 189
 en el acomodo del espectrómetro,
 197
- Anfolitos, 881
- Angstroms, 217
- Ángulo de incidencia, 179, 185, 186,
 471, 472, 607
- Anilina, 373, 374, 407
- Aniones
 en cromatografía, 839-843
 en electroquímica, 630, 635, 659,
 663-665, 686, 688
- Anisotropía, corrimiento químico,
 532, 533
- Ánodo
 en la celda electroquímica, 630-632,
 639, 647, 650, 748
 del alambre, 193, 314
 reacción en el, 709
- ANOVA (análisis de varianza), 985
- Anticuerpos, 679, 733, 734, 740, 741,
 848, 925
- AntiStokes, 149, 483, 484
- Antraceno, 316, 410, 412
- Aplicaciones
 cuantitativas, 300, 324, 465, 493,
 583, 597, 746, 904
 pasivas con computadoras, 103, 104
- Aplicaciones cualitativas de la
 espectroscopía de absorción
 UV-visible, 372-374
- Aplicaciones de las hojas de
 cálculo, 95
- Aplicaciones diagnósticas de los
 osciloscopios, 52
- Áreas relativas, 519, 528, 597
- Argón
 flujos, 225, 226, 257, 292
 iones, 227, 255, 269, 600
- Atomización, 215, 230, 231, 234-236,
 258, 281, 283, 292
 dispositivos de, 116, 224, 226, 300
 electrotérmica, 230, 233-235, 242,
 248
- Atomizador, 221, 223, 224, 226, 227,
 230, 235
- Atomizadores electrotérmicos
 corrección de fondo con, 242, 243,
 250
 para espectroscopía atómica, 234,
 235, 257
 principios, 224, 233-235
- Átomos
 concentración de, 140, 246
 de analito en estado basal, 274
 energéticos en espectrometría de
 masas, 562
 no excitados en espectroscopía
 atómica, 222, 238
 pesados en fosforimetría, 404, 407,
 420, 421
- Auger
 electrones, 596, 598, 600, 608, 610
 espectroscopía electrónica, 592,
 598-600
- Autoabsorción, 258, 268
- Automatización, 90, 816, 929-931, 940
- Banda
 espectro de, en espectroscopía,
 150, 152, 223
 separación de, en cromatografía, 765
- Bandas
 cromatográficas, 764, 765, 768-771,
 773 -775, 778, 780, 818, 833,
 847
 de conducción, 173, 174, 191, 193
 de metileno en NMR, 515, 518, 519
 de rechazo de filtro, 179, 180
 de valencia, 173, 174
 enfocadas en electroforesis, 881
 espectroscópicas, 150-153, 223, 341,
 342, 368-370, 373, 374, 473-
 476, 485, 486, 493, 494, 518-
 520, 764, 765, 768-771, 773-
 775, 817, 818, 867-870, 880,
 881
 moleculares, 223, 245, 294, 341
- Bandas de combinación en
 espectroscopía de IR, 437
- Batería, 26, 27, 30, 35, 357, 721
- Benceno, espectro UV del vapor
 de, 155, 189, 190, 346, 347,
 373
- Bioluminiscencia, 422, 757-760
- Biosensores, 10, 203, 605, 679, 680,
 733, 734, 740, 753
- Biotina, 741
- Bits (dígitos binarios), 8, 84, 88, 90,
 91, 93
- Blanco, 13, 17, 19-22, 241, 343, 358
- Blanco de molibdeno, rayos X, 304,
 311
- Blindaje del núcleo, en
 espectroscopía NMR, 514
- Blindaje para la reducción de ruido,
 114
- Bobina de barrido, en microscopio de
 barrido electrónico, 608,
 609
- Bobina de núcleo X, 524
- Bolómetro, 67, 201, 452
- Bomba peristáltica, 247, 760, 932,
 937, 941
 en análisis por inyección en flujo,
 932-933
- Bombardamiento rápido de átomos,
 fuentes de, en
 espectrometría de masas,
 562-563
- Bombas de émbolo, 820
- Bombeo
 energía de, 170, 172
 láser, 168-169, 170-172
- Bremsstrahlung*, 257, 303
- Bromo electrogenerado, 710, 711
- Bytes, 91
- Cabeza del sensor en el vehículo
 explorador de Marte, 319,
 324
- Calcinación, 234, 235, 247
- Calentamiento, en electroforesis
 capilar, 144, 146, 160, 640,
 869

Calibración

- en absorción atómica, 11-13, 17, 19-21, 246-248, 267, 268, 278, 291, 292, 298, 342, 366, 375, 376, 688, 746, 846, 889
 - en cromatografía, 783
 - en emisión atómica, 258, 267, 268
 - en espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo, 291, 292, 298
 - en espectroscopía de UV-visible, 375, 376
 - en espectroscopía por luminiscencia, 419
 - en potenciometría, 688
 - en voltametría, 746, 752
 - función de la, 13
 - multivariada, 13
 - sensibilidad, 20, 21, 191
- Calibración de masas molecular
- patrones de, en cromatografía de exclusión por tamaño, 847
- Californio 252 como fuente de neutrones, 918
- Calorimetría por barrido diferencial, 893, 894, 896, 900, 901, 903, 904
- Cambios en el momento del dipolo en absorción IR, 431, 432, 435-438
- Campo
- centrífugo, 884, 959, 961
 - gradiente de, imágenes por resonancia magnética, 538-540
 - gravitacional, 959-961
 - origen de la desorción del, 552, 559, 585
 - origen de la ionización del, 558, 559
- Campo electromagnético, 134, 140, 175
- Campo magnético
- absorción en el, 155
 - electrónico, relación con el corrimiento químico, 511
 - fijación del, NMR, 523
 - fuerza del, 499, 501, 567-568, 576
 - precesión del, en NMR, 502
 - y niveles de energía en el, NMR, 499

Canal

- del analizador de altura del pulso, 317
 - del dispositivo *MOSFET*, 49
 - multiplicador de electrones, 286
 - número de, 320, 322
- Canal de comunicación, inyección en secuencia, 940
- Capa de agotamiento, en semiconductores, 45, 194
- Capacidad calorífica
- análisis térmico de la, 901-904
 - componente de la, en calorimetría modulada de barrido diferencial, 901, 903
 - determinación de la, 903
 - y transductores térmicos, 201, 451
- Capacitancia en circuitos eléctricos, 34-42, 50, 64
- Caracterización de superficie por espectroscopía y microscopía, 589, 590, 592, 594, 596, 598, 600, 602, 604, 606, 608, 610, 612, 614, 616, 622, 623
- Carbono-13 NMR, 529-531
- Carga y resistencia interna, 30, 31, 62, 66, 67
- Catalizador, determinación de, 382
- Cátodo, en celda electroquímica, 630-632, 637, 639, 647, 650, 698-700
- cd
- circuitos básicos, 26, 27
 - fuerza de potencia, 70
 - señal, 34, 62, 110, 115, 117, 118
 - voltajes, 49, 50, 68, 202
- Celda
- analizador de trampa de iones, 572
 - biológica sencilla, 422, 675, 872
 - compartimiento óptico de la, en espectroscopía, 358, 383, 413, 445, 470
 - constante, en calorimetría de barrido diferencial, 903
 - coulombimétrica, 698-700, 703, 704, 708, 709
 - de capa-barrera, 193
 - de colisión en espectrometría de masas, 574-576
 - de interacción en espectrometría de masas, 573-575

- de tres electrodos, 718, 724
 - de vidrio, 336, 337
 - detector de la, 826
 - electrolítica, 630, 697-700
 - electroquímica, 628, 630, 631
 - en espectrofotometría, 351, 352, 375, 380
 - en espectroscopía Raman, 489
 - fotoconductora, 68, 69
 - fotovoltaica, 191-193, 351
 - galvánica, 630, 631
 - para absorción IR, 447-449, 456-458, 467, 474
 - para atomización electrotérmica, 249
 - para luminiscencia, 414
 - potenciales de, 633, 646, 684, 687
 - cálculo de, 645, 652
 - medición de, 684
 - potenciales normales, 644 (*véase también* Potenciales normales de electrodo)
 - reacción de, 630, 631, 633-635, 639, 640
 - resistencia de la, en electroquímica, 684, 698, 705, 706, 723
- Celda de observación
- espectrofotométrica de flujo detenido, 384
- Celda fotovoltaica de GaAs, 192
- Celda fotovoltaica, 192-193
- Celda galvánica, 629-631, 638-640, 645, 647
- Celdas acopladas para espectrofotometría, 342, 351, 375, 467
- Celdas capilares en espectroscopía Raman, 489
- Celdas de flujo en análisis por inyección de flujo, 932, 936, 937
- en cromatografía en líquidos, 823
 - voltametría de las, 731
- Celdas electroanalíticas, 633
- Celdas electrolíticas, 629-632, 647, 649-651 (*véase también* Celdas electroquímicas)
- Celdas electroquímicas, 628, 630, 633, 634, 636, 638-640, 647, 653, 659, 77, 705, 716, 717, 722, 723

- agitadas, 726
- depósito en, 734
- desechables, 683
- detectoras en cromatografía de
 - líquidos de alta resolución, 823
- detectoras en electroforesis capilar, 874
- en instrumentos sensibles a gases, 677
- galvánicas, 629
- métodos en, 628
- preconcentración en, 748
- reacciones en, 737, 751
- Celdas fotovoltaicas de capa-barrera, 192
- Celdas líquidas para infrarrojo, 457
- Centellador, 315, 611-613
- Centros de dispersión
 - de Mie, 952
 - de rayos X, 309
- Chispas
 - de alto voltaje, en espectroscopía de emisión, 269, 272
 - de radiofrecuencia, en espectrometría de masas, 299, 300, 583
- Choques entre iones y moléculas, 555
- Ciclo de muestreo
 - para análisis por inyección en flujo, 933
 - para cromatografía de líquidos, 821
- Circuito
 - modelo de, en celda electroquímica, 722, 723, 746
 - partes de un, 26, 43, 90
- Circuitos
 - ac, 34-36, 42
 - dc, 26, 27, 30-32
 - de amplificador operacional, 59-64, 67-74
 - digitales, 80, 81, 114
 - RC, 36, 37, 39-42
- Circuitos de corriente alterna, 32
- Circuitos de corriente directa, 26, 27
- Circuitos del detector del termopar, 201
- Circuitos eléctricos, 26-28, 34
- Circuitos en paralelo, 28-29
- Circuitos en serie, 26, 27
- Circuitos RC, 35-41
- Circuito RC en serie, 35, 37, 39, 40, 57
- Círculo de Rowland, 261, 262, 265, 266, 595
- Cobre
 - depósito de, 699, 700, 703
 - electrodo de, 630, 631, 638, 663
- Coefficiente
 - de variación, 19, 24, 972
 - de selectividad, 21, 22
- Coefficientes de actividad, 688, 994-996
- Coefficientes de selectividad, 21, 22, 670, 671, 674, 680
- Coherencia de la radiación
 - electromagnética, 139 -140, 168, 170
- Cola de los picos cromatográficos, 769, 788, 829, 849
- Colector
 - electrodo, en espectrometría de masas, 285, 566
 - transistor del, 47, 48
- Colimadores, análisis de rayos X, 312, 318
- Colisiones, espectroscopía óptica, 152, 155, 169, 220, 221, 274
- Colorímetro, 204
- Columna
 - ajustable, 808
 - de cromatografía, 763, 849, 850
 - de fase inversa, 832, 836
 - de fase unida, 804, 805, 828
 - de intercambio iónico, 835, 836, 841, 843
 - de paredes revestidas, 801
 - diámetro de, 774, 775
 - eficiencia de, 768-772, 775, 783, 800, 816, 817, 883
 - empaque de, 778, 792, 802, 803, 806, 807, 818, 821-823, 831, 844, 854, 883
 - exclusión por tamaño, 845-847
 - longitud de, 770, 778, 808, 859
 - preparación de, 789
 - resolución de, 775
 - supresora, 841-844
 - temperatura de, 779, 783, 789, 790, 792, 822
 - variables de la, 806, 807
- Columna cromatográfica, 765, 768, 769, 772, 774, 800, 831, 840, 944, 947
- Columna rellena
 - con cribas moleculares, 810
 - electrocromatográfica, 883
 - en cromatografía de columna, 763
 - en cromatografía de fluidos supercríticos, 859
 - en cromatografía de gases, 800-801
 - en cromatografía de líquidos, 821
 - ensanchamiento de la zona en la, 773
- Columnas analíticas
 - en cromatografía, 822, 844
 - ordinarias rellenas, 791
- Columnas capilares en cromatografía de gases, 791, 795, 798, 800, 801
- Columnas cromatográficas de gases, 801-805
- Columnas PLOT, 810
- Columnas tubulares abiertas
 - en cromatografía de fluido supercrítico, 859
 - en cromatografía de gases, 801
- Columnas WCOT, 801
- Combustible, llamas de combustión, 221, 230, 231, 233, 241
- Comparadores, 62, 74, 84, 88, 89, 202
- Complejos, transferencia de carga en, 371
- Componentes
 - alta frecuencia, 41, 115
 - baja frecuencia, 40, 41
 - flujo de calor inverso en calorimetría de barrido diferencial, 901, 902
 - no inversos en calorimetría de barrido diferencial, 901
- Comportamiento de las partículas como ondas, 132
- Composición de la superficie, 274, 301, 590, 598
- Composición química en análisis de superficie, 589, 590, 597
- Computadora
 - aplicaciones de la, 91
 - control mediante, 103, 104, 260, 265, 523, 595, 616, 824, 893
 - memoria, 92, 94
 - programas, 95, 97, 99, 101
 - redes, 104, 105, 107
 - sistema, 94, 107
 - terminología, 90, 91

- Computadora portátil para el laboratorio electrónico, 127-130
- firmas electrónicas para, 127, 128
- Computadoras, 25, 26, 54, 80-82, 90-108
- Concentración
- concomitante, 296
 - constante de electrones en plasma de acoplamiento inductivo, 258
 - de partículas en sedimentación, 960
 - de polarización, 649-651, 697-700, 703, 706, 707, 716
 - en cromatografía, 765, 935
 - diferencia de la, 635, 651, 724, 774
 - en electroquímica, 724, 725, 727, 728, 741
 - errores en la, en
 - espectrofotometría, 344-346
 - estimaciones de, en análisis de rayos X, 320, 323
 - gradientes de, en electroquímica, 633, 699, 725, 726, 751
 - incertidumbre respecto a la, en
 - espectrofotometría, 343, 345
 - límite, 19
 - micelar crítica, 882
 - perfiles de,
 - de extinción, 408
 - rectangulares, 934
 - segura de mercurio, niveles de 332
 - total en electroquímica, 381, 724
 - unidades de, en
 - espectrofotometría, 337, 338
- Concentración analítica, 385-387
- Concentración de oxígeno
- determinación automática de la, 948
- Concentración del ion hidrógeno, 684, 688
- Concentración en la superficie, 650, 727, 728, 738, 741
- Concentraciones de, en electroquímica, 645, 688, 746
- Condiciones de los diodos de rotura, 50, 51
- Conducción
- en celdas electroquímicas, 630, 632
 - en membranas, 665, 668, 671, 672
 - en semiconductores, 44-47, 49, 173
- Conductancia eléctrica, 29, 44, 45, 67-69, 194
- Confianza
- intervalos de, 976-980
 - nivel de, 19, 20, 110, 914, 977-980, 984, 985
- Constante de formación de complejos, 384-390
- Constante de fuerza, 434-436
- Constante de tiempo, 36
- Constantes de acoplamiento, NMR, 515, 517-519
- Constantes de distribución, en separaciones, 766-769, 777-779, 789, 803, 810, 844, 846, 882
- Constantes de velocidad
- heterogéneas estándar, 742
 - para inactivación, 404
- Contacto intermitente, microscopios de fuerza atómica, 618
- Contador
- electrodo del, 700, 701, 705, 718, 719, 722
 - electrónico, 81, 83-85, 87, 89, 317, 318
 - proporcional, 314, 315, 916
- Conteo, 81, 83-86, 317, 602, 910-912, 916, 924
- compuerta de, 85-87
 - tasa de, 599, 912, 914, 915, 920, 921, 924
- Control de un instrumento
- análisis térmico para, 894
 - en espectrometría de masas, 318, 576, 577
 - programas para, 99
- Convección
- en análisis de flujo, 934, 935
 - en electroquímica, 633, 651, 724, 726-728, 878
- Convención de signos de la IUPAC para potenciales de celda, 31, 639-640
- Convención de signos en el electrodo, 639, 640, 686
- Conversión
- externa en luminiscencia, 403, 404, 406, 408
 - interna en luminiscencia, 402-406, 420
- Conversión interna
- nuclear, 911
 - y luminiscencia, 402-404
- Convertidor analógico-digital, 30, 81, 87-90, 95, 197, 524, 706
- Convertidor analógico-digital, 87-90, 95
- Convertidores
- de frecuencia en voltaje, 7
 - de voltaje en frecuencia, 7, 706
- Corriente
- densidad de la, 651, 652
 - seguidor de, 62-64, 66, 67
- Corriente catódica, 738, 744
- Corriente de anillo, 514
- Corriente de respuesta, 724, 744
- a la excitación de paso, 725
 - en voltametría cíclica, 737
 - en voltametría, 717
- Corriente de túnel en microscopio de barrido de efecto túnel, 615, 617
- Corriente limitante, 722
- Corriente máxima, 33-34
- Corriente no faradaica, 633, 742-743
- Corriente residual, 743
- Corrientes
- alternas, 42 (*véase también* Circuitos de ca)
 - anódicas, 649, 721, 729, 738, 739, 744, 749
 - directas, 26, 30 (*véase también* circuitos de cd)
- Corrientes de Faraday, 632, 633, 742, 743, 751
- Corrimiento Doppler, 220, 221
- Corrimiento químico
- en NMR, 511-515, 517, 519, 520, 536
 - espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, 596
- Coulombimetría a corriente
- constante, 735 (*véase también* Coulombimetría)
 - fuentes para, 71
- Coulombimetría, 697-703
- a potencial controlado, 702, 703
- CPU, 90-94
- Cribas moleculares, 790, 810
- Cristal de cuarzo, 10, 87
- microequilibrio en, 2, 9-10
 - oscilador del, 9, 87

- Cristalinidad, 327, 328, 904
 Cristalización, 490, 665, 899, 903, 904
 Cromatografía, 762
 afinidad de la, 848
 aplicaciones de la, 781
 de adsorción, 817, 829, 837, 839, 841, 852
 de exclusión de iones, 843-844
 de fase unida, 828
 de fase unida químicamente, 828, 829
 de fluidos supercríticos, 857-862
 de gases, 582, 788-804, 806-810, 890, 891
 de gases-espectrometría de masas, 582, 761
 de intercambio iónico, 817, 836, 839-841, 843, 873
 de líquidos, 816-848
 de pares iónicos, 836, 838
 y extracción de fluidos supercríticos, 763, 856-864, 866
 en fase inversa, 829, 830, 833, 836
 en papel, 848
 gas-sólido, 788, 810
 líquido y sólido, 837, 839
 teoría de velocidad de la, 768
 Cromatografía de iones, 839-844, 852, 875
 aplicaciones de la, 841, 842
 de una sola columna, 843
 de líquido, 816-848
 de líquidos de alta resolución, 816-848
 de líquidos, 816 -856
 de pares de iones, 836, 838
 Cromatografía de reparto, 828-836
 aplicaciones de la, 835-837
 Cromatografía en capa fina, 848-851
 aplicaciones de la, 848, 850
 Cromatografía por exclusión de tamaño, 844-847
 aplicaciones de la, 847, 848
 Cromatogramas, 765, 766, 768, 769, 771, 775, 779
 Cruce entre sistemas, 404, 405, 407, 409, 421
 Curva de error normal, 968, 973, 974, 976
 Curvas de calibración, 11, 17, 19-21, 246-248, 267, 268, 278, 291, 292, 298, 342, 366, 375, 376, 688, 746, 846, 889, 985-988
 Curvas de titulación
 coulombimétricas, 708, 714
 fotométricas, 379, 380
 voltamétricas, 736
 Curvas de titulación fotométrica, 379-381
 Curvas de trabajo (*véase también* Curvas de calibración)
 Datos
 análisis de, 80, 90, 95, 99, 102, 323
 quimiométricos, 595
 dominios de, 3-5
 sistema de, 127, 130, 595, 798
 Datos contados, 8
 dB (decibel), 41, 65
 Debye-Hückel
 ecuación de, 995-996
 teoría de, 641, 995-996
 Debye-Scherrer, cámara de polvo de, 326, 327
 Decaimiento de inducción libre en NMR, 505, 508-510, 521, 522, 535, 538, 540, 541, 543
 Decimales escritos en código binario, 82, 83
 Dendrímero, 740, 741
 Densidad de fluidos supercríticos, 856-858, 860
 Densitómetro para cromatografía en capa fina, 851
 Depósito
 electrolítico, 652, 697- 699, 749
 etapa de, en análisis de redisolución, 748
 tiempo de, en análisis de redisolución, 750
 Desacoplamiento de la resonancia en NMR, 529-531
 Desacoplamiento en NMR, 520, 521, 529-533, 536
 Desacoplamiento heteronuclear en NMR, 529
 Desacoplamiento homonuclear en NMR, 520
 Desactivación de estados excitados, 390, 402-406, 419-421
 Descripción matemática de las ondas, 135
 Desintegración radiactiva, 910, 911, 913 (*véase también* Radiactividad)
 Desmodulador sincrónico, 117
 Desolvatación en llamas, 230
 Desorción
 en electroquímica, 649
 en espectrometría de desorción-ionización láser mediante matriz, 560
 Despolarización
 de un electrodo, 699, 735
 razón de, en espectroscopía Raman, 486-487
 Desviación estándar agrupada, 976, 978
 Desviación estándar de la muestra, 972
 Desviación estándar relativa, 19, 110, 286, 706-708, 711, 715
 Desviación estándar, 967, 969, 971-976, 978, 980-984, 986 -988
 agrupada 976, 978
 como medida de la eficiencia de la columna, 770
 de datos de conteo en análisis radioquímicos, 914
 de la muestra, 972
 de la población, 971-972
 de la transmitancia, 343
 Desviaciones
 de la ley de Beer, 338-343, 466
 medición absoluta de las, 973
 medición de las, 972-976, 980, 986, 987
 medición estándar de las, 969, 971-976, 978, 980-984, 986-988
 químicas, 338-340
 Desviaciones de la ley de Beer de los instrumentos, 338, 340-342, 466
 Desviaciones de la linealidad
 en las mediciones de absorción, 341
 en las mediciones de fluorescencia, 408
 en las mediciones de pH, 671
 en plasma de acoplamiento inductivo, 268
 Desviaciones estándar relativas, 19, 110
 de la concentración, 343, 345
 en el conteo, 914

- Desviaciones químicas de la ley de Beer, 339, 340
- Detección
 - electroquímica en electroforesis capilar, 874
 - espectrométrica de masas, 294, 297, 874, 875, 883
- Detección de grupos funcionales
 - en análisis de superficies, 596, 602, 620, 621
 - en espectrometría de masas, 552, 578
 - en infrarrojo, 438, 459, 460, 464, 474, 493
 - en Raman, 493
 - en resonancia magnética nuclear, 512, 513, 515, 516, 526, 529, 533
 - en UV-visible, 369, 373, 374
- Detector, 9, 157
 - compensado con litio, 316, 317
 - de captura de electrones, 795, 796
 - de Everhart-Thornley para el electrón secundario, 612
 - de fotoionización para cromatografía de gases, 797, 809
 - de germanio de alta pureza, 916, 917, 922
 - de Hall de la conductividad electrolítica, 796
 - de ionización de llama, 793, 794, 859
 - de la dispersión de la luz por evaporación, 826
 - de nivel del amplificador operacional, 74
 - de oscurecimiento, 951
 - de quimioluminiscencia del azufre, 798, 800
 - de quimioluminiscencia específica de nitrógeno, 800
 - de rayos láser en microscopios de fuerza atómica, 617
 - de ruido, 205, 206
 - electroquímico para separaciones, 826, 874
 - ideal para cromatografía de gases y cromatografía de líquidos de alta resolución, 793, 823
 - multicanal con electrodos en serie, 707
 - semiconductor, 317, 318, 612, 916
 - térmico de conductividad, 794, 795
 - voltamétrico, 730, 731
- Detector ultravioleta, 9, 164
- Detector de iones
 - electroóptico, 285, 286
 - en espectrometría de masas, 574, 828
- Detector Daly, 287
- Detectores de absorción UV, en cromatografía de líquidos, 824
- Detectores de absorción UV-visible en cromatografía de líquidos, 823
- Detectores de captura de electrones, 795-796
- Detectores de conductividad, 796, 841
 - electrolítica para cromatografía de gases, 796
- Detectores de conductividad térmica, 794, 823, 825
- Detectores de electrones multicanal de dos dimensiones, 595
- Detectores de infrarrojo en cromatografía de líquidos, 824
- Detectores de silicio con litio difundido para rayos X, 316
- Detectores del índice de refracción en cromatografía de líquidos, 825, 826
- Detectores en cromatografía de líquidos de alta resolución, 823-828
- Detectores en dispositivos de acoplamiento de carga, 196, 198, 199, 261, 264, 265, 335, 353, 361, 413, 415, 491, 606, 879 (*véase también* Detectores en serie)
- Detectores en serie, 286, 353, 354, 360, 415, 474, 481, 491, 492, 568
 - coulombimétricos, 706, 707
 - sistemas con, 354
 - sistemas espectrométricos, 388
- Detectores para cromatografía de líquidos, 823, 828
- Detectores rellenos con gas para análisis con rayos X, 314, 315
- Detectores térmicos, 201, 344, 451
- Detectores termoiónicos en cromatografía de gases, 796
- Determinación de monóxido de carbono, 448
- Determinaciones simultáneas de multicomponentes, 361
- Diagrama de Bode, 41, 64, 65, 115
- Diagrama del nivel de energía, 147, 171, 215-217, 219, 220, 305, 606
- Diagrama recíproco doble, 388, 389
- Diagramas de nivel de energía parcial, 152, 154, 401
- Diagramas de niveles de energía, 151, 152, 483
- Diálisis con análisis por inyección en flujo, 933
- Diámetros hidrodinámicos, 957, 962
- Diferencia de potencial
 - a través de un capacitor cargado, 35
 - a través de una membrana de vidrio, 668
 - en el límite de la fase de unión líquida, 635
 - en un diodo semiconductor, 44
- Difracción
 - ángulo de, 138, 183, 185, 326
 - de la radiación electromagnética, 137-139, 181, 183, 185, 186
 - de rayos X, 303, 309, 326
 - orden de, 183, 185, 186
 - patrones de, 139, 140, 326, 951, 953
- Difracción de rayos X mediante cristales, 309, 312
- Difusión
 - coeficiente de, 699, 725, 728, 739, 773-775, 778, 818, 854, 869, 884
 - coeficiente de, traslacional, 957
 - en remolino, 772, 773
 - longitudinal, 774, 775, 869, 935
 - transporte de masa por, 651, 724
 - y análisis por inyección en flujo, 935
- Difusión en remolino, ensanchamiento de la zona causado por la, 772-773
- Dilución de isótopos, 924, 925

- Dimensiones de la partículas de relleno
en cromatografía de líquidos, 817-818
- Dínodos, 194, 195, 284, 285
- Diodos, 44-46, 50, 174, 175, 197, 350, 353
emisores de luz, 54, 174, 350, 413, 757, 758, 960
láser, 173-175
semiconductores, 44, 45, 50, 174
Zener, 50, 51
- Dióxido de carbono
rayo láser como fuente de IR para, 450
sonda sensible al gas para, 677-679
- Dispersión, 143
angular, 181, 185
anómala, 141, 159 (*véase también* Dispersión)
anómala, 141, 159
cruzada, de rejilla de difracción, 186
de la luz láser en ángulo bajo, 951-955
de la radiación electromagnética, 141
de la radiación, 142, 143
de los monocromadores, 182, 185, 186, 189
de radiación parásita, 341
de Rayleigh, 143, 482-491, 952-953
de rayos X, 309
dinámica de la luz, 955, 957, 958
en análisis por inyección en flujo, 934-937, 940, 941
en experimentos espectroscópicos de superficie, 590
en luz láser en ángulo agudo, 951
lineal del monocromador, 181, 185-186
lineal recíproca, 185-186, 188-189
Raman, 481, 485
valores de, en análisis por inyección en flujo, 935, 936
- Dispositivos de acoplamiento de carga, 196, 198, 261, 413, 491 (*véase también* Detectores en serie)
- Dispositivos de inyección de carga, 196, 198, 199, 261, 262, 263, 264, 491 (*véase también* Detectores en serie)
- Dispositivos de transferencia de carga, 196, 198, 204 (*véase también* Detectores en serie)
- Dispositivos electrónicos moleculares, 721
- Dispositivos periféricos de la computadora, 92-93
- Dispositivos semiconductores no lineales, 43-44
- Dispositivos semiconductores, 43, 48
- Distancia focal del elemento óptico, 185
- Distribución de frecuencia en datos, 968-970
- Distribución del tamaño, medición de la, 951, 955, 961
- Distribuciones gaussianas, errores aleatorios en las, 768, 968, 969, 977, 978
y cromatogramas, 768, 770, 771
- Divisor del haz, 208, 351, 353, 443
- Doble capa eléctrica, 632
- Doble capa, 632, 633, 723, 746, 870
- Dominios eléctricos, 3-5, 9, 10, 26, 81
- Dominios no eléctricos, 3-4, 6, 8-9, 81
- Ecuación de Boltzmann, 221
- Ecuación de Nernst, 634, 640, 642, 644
cálculo de los potenciales de semicelda con la, 642, 643
con potenciales formales, 645
efectos de reemplazar actividad por concentración en la, 644
en los perfiles de concentración voltamétrica, 724
- Ecuación de velocidad, 383
- Ecuaciones de divisores de la corriente, 29
- EDTA
como agente protector, 245
como titulador, 380, 381, 735
en electroquímica, 663, 664
- Efecto Compton, 911, 917
- Efecto de Bernoulli, 202, 256, 917
- Efecto del átomo pesado, 404-405
- Efecto Overhauser nuclear, 520, 531
- Efectos de intensificación en fluorescencia de rayos X, 322, 323
- Efectos de la matriz, 325
en absorción atómica, 241
en el método patrón interno, 17
en espectrometría de masas con plasma acoplado de manera inductiva, 296
en espectrometría UV-visible, 376
en fluorescencia de rayos X, 321
en la calibración, 13
en las fuentes de plasma, 269
intensificación de los, en fluorescencia de rayos X, 322
minimización de los, en los métodos de adición estándar, 13
- Eficiencia
de la columna cromatográfica, 769, 772
de la corriente, 703, 707, 712
- Eficiencia del cuanto, 404-408, 418
- Eje de enlace, 437, 438, 514, 515
- Electrocinética
de inyección, en electroforesis capilar, 871-872
y cromatografía micelar, 867, 882, 883
- Electrocromatografía capilar, 867
- Electrocromatografía, 867, 883, 884
- Electrodeposición, 652, 699, 700, 720, 749
etapa de, en análisis de redisolución, 749
- Electrodo, 664
área del, 633, 651, 683, 699, 725, 739
con indicador metálico, 662-663
con película de mercurio, 720-721, 737, 740, 749
de Ag, 639
de calomel saturado, 638, 660-662, 666, 737, 738
de cloruro de plata, 637, 661, 662, 666, 689, 718
de disco rotatorio, 736-737, 749
de disco, 719, 720, 736, 737
de gota de mercurio colgante, 719, 720, 742, 744, 749
de gota de mercurio, 716-717
de hidrógeno, 636-638, 641, 659, 660
de nanoaguja, 752
de oro, en voltametría cíclica, 740, 741

- de plata, 628, 630, 639, 643, 644, 662, 663, 703
- enzimático, 680-682
- materiales para coulombimetría, 706, 719, 732
- métodos de calibración del, 687, 688
- potenciales de, 635, 636, 638-641, 643, 645, 646
- reacción de, 630, 635, 638, 649, 650, 663, 697, 700, 703, 724, 729, 737, 739
- reacción directa en
 - coulombimetría, 707
- respuesta del, 686, 687
- semirreacción en, 638
- sistemas de, amperométrico, 735
- sistemas de, vidrio y calomel, 684
- superficie del, 630, 632, 633, 637, 649, 651, 698-700, 724-727
- superficie modificada del, 716
- tabla de potenciales de, estándar, 644, 997-1000
- Electrodo de referencia
 - de calomel saturado, 665
 - de cloruro de plata, 666, 674, 678, 689, 731
 - estándar de hidrógeno, 636
 - externo, 666
 - ideal, 660
 - interno, 666, 683
 - no polarizable, 697
 - potenciales del, 668
- Electrodo de trabajo, 716
 - de bloque, 731, 732
 - de platino, 704
 - fijo, 723
- Electrodo de vidrio
 - error ácido en el, 671, 689
 - error alcalino en el, 670, 671, 689
 - higroscopicidad, 668
 - membranas, 665-670
 - potencial de asimetría, 669
- Electrodo del generador, en
 - coulombimetría, 707
- Electrodo indicador, 659, 660, 662, 664, 665, 686, 687, 691
- Electrodos
 - anillo de, para espectrometría de masas, 570
 - auxiliares, 708
 - clásicos, 751
 - cristalinos de estado sólido, 673
 - de anillo-disco, 736, 737
 - de calomel, 660, 662, 668, 689
 - (véase también Electrodo de calomel saturado)
 - de enzimas, 680
 - de estado sólido, 672, 735
 - de grafito para espectroscopía, 259, 271, 272, 721
 - de iones específicos, 677 (véase también Electrodos selectivos de iones)
 - de membrana cristalina, 671, 672
 - de membrana líquida, 672-675
 - de membrana selectivos de iones, 286, 576, 664-675
 - de referencia, 637-638
 - de zinc, 633, 638
 - derechos, 638-640, 686, 697
 - esféricos, 751, 755
 - izquierdos, 638, 639, 659, 660, 697
 - metálicos, 636, 662, 665, 720, 735
 - modificados, 720, 721, 739, 740
 - selectivos de iones, 664
- Electrodos de membrana, 664-665, 668-671, 675-677, 680, 686, 692-695
 - de referencia de Ag-AgCl, 662, 670, 673, 704
 - inertes, 664, 749
 - no polarizados ideales, 648-649
 - planos, 724 -726, 728, 752
 - selectivos de iones, 659, 664-675, 680, 683
 - voltamétricos comerciales, 719
- Electrodos de mercurio, 663-664, 719, 720
 - de gota, 716, 717, 737
- Electrodos de platino, 631, 636, 642-644, 664, 703
 - en coulombimetría, 698, 704, 709
 - en electroforesis capilar, 871
 - en voltamperometría cíclica, 740
 - giratorios, 735
- Electroferograma, 873, 876
- Electroforesis
 - capilar, 867-870, 875, 876
 - instrumentos para, 878, 879
 - ordinaria, 868, 869
 - principios, 867, 868
- Electroforesis capilar en gel, 867, 869, 877
- Electroforesis capilar, 582, 583, 867-883
 - instrumentos de, 868
- Electroforesis capilar de zona, 875-877
- Electrogravimetría, 697
- Electroimán, en espectrómetros de NMR, 521, 523, 566, 567
- Electrólisis, 697-701, 721, 724, 725, 728, 748
 - a corriente constante, 697, 699
 - a potencial constante, 700, 701, 703, 706,
 - análisis de redisolución, 748
 - celdas de, en coulombimetría, 704
- Electrolito
 - soluciones concentradas, 635
 - soluciones, 628, 630, 635, 636, 641, 689, 709, 732, 880
 - soporte, 718
- Electrolito soporte, 704, 718, 720, 722, 724, 746, 747
- Electrones
 - aberturas del haz de, en
 - microscopio de barrido eléctrico, 613
 - análisis de superficie del haz de, 592, 594, 598, 600, 607-611
 - cañón de, en análisis de superficies, 591, 595, 599, 600, 608, 609, 613
 - captura de, 306-307, 910-911
 - densidad de, en NMR, 511, 514, 596
 - detector de, en microscopio de barrido electrónico, 608, 609, 613
 - dispersión de, en espectrometría electrónica con pérdida de energía, 602
 - emisión de, en transductores de radiación, 144, 191, 193, 344
 - emitidos en análisis de superficies, 591-594, 599
 - en estado basal, 220, 400
 - energéticos en espectrometría de masas, 551, 552
 - energía de los, en electroquímica, 636, 638
 - espectro de los, 595, 600
 - espectrometría con pérdida de energía de los, 602

- espectrómetros de, 593, 594
- espectroscopia de, 591-595, 597, 599, 601, 602
- fuerza del haz de, en rayos X, 303, 304
- haz de, 591, 592, 598, 600, 602, 608, 610
- haz de, en el tubo de rayos catódicos, 51, 52, 612
- haz de, en espectrometría de masas, 557, 572, 581
- instrumentos para espectroscopia de, 594, 595
- microscopio de, 602, 608, 611, 613
- microsonda de, 328, 607, 610-612
- receptores de, 371
- retrodifundidos, 610-613
- señales secundarias de, 611, 613
- spin* de los, 215, 399, 400
- transferencia de, 631, 649, 650, 735, 740
- Electrones de valencia, 43, 44, 173, 175, 368, 596
- Electrones del núcleo, 596, 598
- Electrones secundarios, 195, 285, 315, 608, 610-612
- Electrónica digital, 25, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 98, 100, 102, 104, 106, 108
- Electrónica, 2, 43, 59, 80, 136, 319, 354, 411, 412, 449, 947
- Electroquímica del cerebro, 745, 746
- Elementos de resolución en espectroscopia de transformada de Fourier, 205
- Eliminación de la protección, NMR, 514, 515
- Elipsometría, 606
- Elución con gradiente, en cromatografía, 781, 819-820
- Elución, 763, 764, 769, 788, 819, 830
- Eluyente
 - en cromatografía de iones, 841-844
 - en cromatografía en columna, 764
 - fuerza del, 764, 774, 785, 792, 797, 800, 803, 823-825, 839, 841-844, 858, 890
- Emisión
 - bandas de, 189, 210, 223, 238
 - de electrones de enlace, 135
 - de fluorescencia en el monocromador, 415, 416, 418
 - de radiación electromagnética, 135, 147, 148, 157, 255, 269, 272
 - en espectroscopia, 148, 165, 168, 254-276
 - espectro de, 150, 151
 - espontánea, 169, 170, 172
 - estimulada, 168-171
 - fuentes para espectrometría de emisión atómica, 254, 266, 273
 - intensidad, 272, 280
 - líneas de, 219, 220, 238, 241, 244, 259, 265, 267
 - mediciones, 22
 - selector de longitud de onda de la, y fluorescencia, 411, 412, 414
- Emisión atómica
 - detectores, 797
 - espectrometría, 254-276
 - fuentes, 254
- Emulsiones fotográficas, 194, 196, 271
- Enantiómeros, separación de, 837, 838, 860, 861
- Energía
 - cambios en la dispersión de la, 483, 484, 494
 - del fotón, 146
 - diferencias entre estados de, 147, 148, 153-155, 216, 220, 222, 305, 405, 411, 431, 432, 503
 - eléctrica, 147, 148, 151, 152, 193, 283, 349, 630, 632
 - entre bandas, 173, 174
 - exceso de, 148, 149, 152, 169, 920
 - instrumentos de dispersión de, análisis con rayos X, 320, 321
 - libre en electroquímica, 634, 639
 - paso de, en espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, 594
 - resolución de, 317, 596, 603
 - transferencia de, en moléculas, 403, 408, 409, 484
- Energía cinética del fotoelectrón en el efecto fotoeléctrico, 144-146
- Energía de las vibraciones, 403, 437, 492
- en rayos láser, 169
- niveles de, 154, 402, 432, 435
- Energía potencial de un oscilador armónico, 434
- Energías de enlace, 175, 314, 593-596, 911
- Energías de las partículas beta, 911
- Energías de transición electrónicas, 237
- Enlaces químicos, fuerza constante de los, 435, 436
- Ensanchamiento Doppler, 221, 237, 238, 955, 957
- Entrada
 - en la columna para cromatografía de gases capilar, 791
- Entrada de no inversión, en amplificador operacional, 61-63, 69, 74, 114, 706
- Entrada inversa, en amplificador operacional, 61-63, 67, 71, 74, 705
- Entrecruzamiento de fases
 - estacionarias, 804, 805, 810, 840, 845
- Environmental Protection Agency* (EPA), en determinaciones de mercurio, 332, 333
- Enzima inmovilizada, 679-680, 733
- Enzimas, 382, 383, 425
 - en biosensores, 679, 680
 - inmovilizadas, 679, 680, 733
- Equilibrio
 - de absorbancia en métodos cinéticos, 384, 385
 - de posición de equilibrio en vibraciones moleculares, 433, 434, 484, 485
- Equivalencia química, 11, 707
- Error
 - estándar de la estimación, 987
 - estándar de la media, 974, 975, 978
 - Redondeo de, 973
- Error alcalino, electrodo de vidrio, 670-671, 689
- Error de carga en el medidor, 31
- Errores
 - ácidos en mediciones de pH, 671, 689
 - al medir, 12, 13, 17, 19, 31, 967, 969, 973, 974

- alcalinos en mediciones de pH, 670, 671, 689
- aleatorios, 13, 19, 20, 967-969, 971-975
- aleatorios, 967-969, 971-975, 979, 981, 984, 985
- analíticos positivos, 241
- de carga, 30-32, 62, 66, 684
- determinados (*véase también* Errores sistemáticos)
- indeterminados, 11, 13, 19 (*véase también* Errores aleatorios)
- sistemáticos, 13, 17, 19, 967, 969-971, 984, 985
- Escaladores, 86, 87, 317, 318
- Especies bioquímicas
 - absorción IR de, 455
 - y luminiscencia, 420
- Especies de absorción, 153-158, 367, 374, 377
- Especies electroactivas, 707, 735, 737, 739, 743, 746, 753
- Especies inorgánicas
 - absorción mediante, 370, 371, 419
 - aplicaciones del infrarrojo lejano en las, 476
 - determinación fluorométrica de, 419-420
 - espectros Raman de las, 419, 492
 - quimioluminiscencia de las, 419, 424, 425
- Especies no retenidas, 766, 777, 833
- Especies que absorben radiación UV, 367
- Espectro
 - atómico
 - Auger, 600
 - banda de, 152
 - continuo, 168, 257, 304, 349
 - de absorción de rayos X, 325
 - de derivadas, 378, 379
 - de fluorescencia de rayos X, 309
 - de fuente dura, en espectrometría de masas, 552
 - de impacto del electrón, 557, 558, 581, 587
 - de lámpara de deuterio, 349
 - de lámpara de tungsteno, 350
 - de masas, 294
 - de rayos X, 304
 - de las masas, 551
 - de tiempo de vuelo-espectrometría de masas 560
 - de una mezcla, 376
 - del agua, 456
 - del fotoelectrón de rayos X, 592
 - del ion producto, 574
 - electromagnético, 134
 - electrónico, 597
 - emisión del, 150
 - en el IR cercano, 473
 - energía dispersa del, en
 - fluorescencia de rayos X, 317
 - fluorescencia del, 412
 - fuelle de chispa del, 299
 - IR lejano, 450
 - IR, 430, 431
 - Raman, 481, 490
 - región de la huella dactilar de IR, 464
 - NMR, 499, 505
 - de carbono 13, 529
 - de flúor 19, 534
 - sincrónico, de luminiscencia, 410
 - sistema de búsqueda de, en la
 - computadora, 464
 - y acomodo de diodos, 361
- Espectro bidimensional
 - a partir del espectrómetro de rejilla de difracción, 186, 198
 - de NMR, 535, 536
- Espectro de la radiación UV, 372, 373, 526
- Espectro de líneas, 150, 151, 254, 303, 304, 311
- Espectro de masas
 - en cromatografía de gases-espectrometría de masas, 798
 - masa molecular según el, 578
- Espectro del dominio de la
 - frecuencia, 121, 207, 209, 522, 525
- Espectro electromagnético, 134, 135
- Espectro IR de diferencia, calculado con computadora, 456, 457
- Espectro potencia-ruido, 115
- Espectrofluorómetros, 204, 411-413, 415, 417, 825
 - componentes, 413
- Espectrofotometría
 - de derivadas, 378
 - longitud de onda dual, 378, 379
- Espectrofotómetros computarizados de un solo haz, 358
- Espectrofotómetros computarizados, 431
- Espectrofotómetros de rayos X, 310
- Espectrofotómetros, 73, 182, 204, 213, 235, 240, 310, 344, 348, 349, 351-354, 356
 - característicos, 354
 - con detector en análisis por inyección en flujo, 933
 - controlados por computadora, 351
 - de doble haz, 240, 351, 359
 - de un solo haz, 351
 - de un solo haz, computarizados, 358
 - diseños, 352
 - dispersores IR, 438, 439, 444, 445
 - en el IR cercano, 344, 430
 - en serie, 353, 378
- Espectrógrafo, 204, 261, 270, 271, 353, 361, 491
- Espectrometría, 132
 - atómica de rayos X, 303
 - con pérdida de energía electrónica, 602
 - de absorción en el infrarrojo, 430-452, 454, 455-477
 - de absorción en IR medio, 457-467
- Espectrometría de absorción
 - molecular UV-visible
 - aplicaciones de la, 367, 398
 - de energía cinética de iones y análisis de masas, 576
 - de fluorescencia atómica con vapor frío, 333
 - de luminiscencia molecular, 399-429
 - de masas con trampa de iones, 570
 - IR
 - de masas de ion secundario, 602, 603
 - de masas en tandem, 573, 575, 576, 582, 584, 800, 828, 947
 - de masas mediante plasma de acoplamiento inductivo, 282, 291-299
 - de masas por aceleración, 30
 - introducción a la, 336, 366
 - por emisión atómica, 254-276
 - por emisión de plasma (*véase también* Plasma de acoplamiento inductivo)

- Espectrometría de masas, 281-302, 550-588, 798-874
 - acelerador en, 301
 - aplicaciones cuantitativas de la, 583-584
 - aplicaciones, 583, 798
 - de masas moleculares, 577-581
 - en tándem, 582
 - atómica, 281-302
 - de ion secundario, 602
 - detectores de, en cromatografía de gases, 798, 809
 - detectores de, en cromatografía de líquidos, 825
 - fuelle de chispa, 299
 - límites de detección en
 - espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, 297
 - microsonda láser para, 604
 - molecular, 550-588
- Espectrometría del IR cercano, 473-474
- Espectrometría en el infrarrojo
 - aplicaciones de la, 455-477
- Espectrometría óptica atómica, 215-228
 - componentes de los instrumentos para, 164-214
- Espectrómetro, 196, 197, 204, 260, 261, 264-266, 271, 272, 318, 319, 324, 325, 361, 487-490, 522, 523, 562-566, 576, 590, 603, 604, 622, 623
 - de alta resolución
 - de energía dispersa de rayos X, 317, 324, 328, 607
 - de masas en tándem a tiempo, 576
 - en NMR, 521
 - y rayos gamma, 917
- Espectrómetros de emisión con
 - canales múltiples, 260-262
- de fuente de plasma, 259
- de masas
 - atómicos, 283, 290
 - moleculares, 563-577
- de masas computarizados, 576, 577
- de masas de alta resolución, 282
- de masas de doble enfoque, 283, 290, 299, 300, 567-569, 578
- de rayos gamma, 916, 917
- de transformada de Fourier en el IR, 439-443, 451, 453, 454, 466, 467, 470, 471, 473, 474, 477 (*véase también* Transformada de Fourier, espectrómetros IR)
- de transformada de Fourier, NMR, 498, 522 (*véase también* Transformada de Fourier en NMR)
- de triple cuadrupolo, 575-577
- fotoléctricos con canales múltiples, 271
- Espectros
 - atómicos de absorción y de emisión, 150, 153
 - de alta resolución
 - de derivadas, 378
 - de emisión atómica, 227, 234, 254, 258, 269, 273
 - de fluorescencia, 403, 411, 414-416, 418
 - de fuente suave en espectrometría de masas, 552
 - de fuentes de plasma, 266
 - de NMR de protones, 510, 524, 529, 532
 - de partículas alfa, 916
 - de plasma, 257
 - de primer orden, en NMR, 517, 518
 - del impacto de electrones, 554, 555, 557, 581
 - del infrarrojo, 432, 437, 438, 446, 459, 464, 466, 467, 481, 482, 485
 - del ion producto en espectrometría de masas, 574
 - derivados, 378, 599
 - en el dominio del tiempo, 206, 207
 - en espectrometría de masas, 281, 300
 - en espectroscopía electrónica, 594
 - en fluorescencia de rayos X, 323
 - en IR, 431
 - en NMR, 509 526
 - en plasma de acoplamiento inductivo, 291
 - fotoacústicos, 473
 - ópticos atómicos, 215
- Espectroscopía
 - atómica, 215, 219, 223, 224, 300
 - de alta resolución con láser, 168
 - de descomposición inducida por láser, 274, 276
 - de dispersión de iones, 591, 603, 604, 622
 - de emisión óptica con descarga luminiscente, 273, 274
 - de impedancia electroquímica, 723
 - de IR cercano, 473-476
 - de suma de frecuencia de las vibraciones, 605
 - dominio de la frecuencia en, 206
 - en el IR medio, 459, 474
 - fotoelectrónica, 592
 - molecular, 131, 132, 166, 335, 477
 - por pérdida de energía del electrón, 591, 592
- Espectroscopía de resonancia
 - magnética nuclear, 498-549
- aplicaciones de la, 528-537
- celda para muestra en, 523
- de rotura inducida por láser, 274-276
- espectrómetros, 521, 526
- electrónica para análisis químicos (*véase también* Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X)
- en el IR lejano, 476
- fotoelectrónica ultravioleta, 592
- óptica con cortador, 115-117, 201, 239, 240, 242, 359, 446
- teoría de la, 499-509
- Raman de superficie aumentada, 495
- Raman inversa, 495
- Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X
 - electrón de, 622
 - espectros, 596, 597, 599
 - instrumentos para, 594, 595
- Espectroscopía Raman, 143, 149, 481-498
 - aplicaciones biológicas de la, 493
- Espejos móviles en el interferómetro de Michelson, 208, 439-441, 443, 492
- Espín
 - desacoplamiento de, 520, 532
 - número cuántico, 499, 500, 502, 529, 534, 542
- Estadísticas gaussianas, 973, 989
- Estado basal, 147, 148, 151-156

- Estado lógico, 84, 88, 94
- Estado sencillo, 216, 400-402, 411
excitado, 216, 400, 401, 405
- Estado triple, 216, 400, 409, 411
en fosforescencia, 156
- Estado virtual, 495, 606
en espectroscopía Raman, 482, 484
en medios láser, 171
- Estados de vibración basal, 149, 401
- Estados de vibración, 149, 152, 154, 155
- Estados electrónicos
de las moléculas, 152, 155, 400-402
de los átomos, 254
de los rayos láser, 169
excitados metaestables, 156
inferiores o bajos, 169, 403
propiedades de los, 147, 152, 154, 155
- Estados energéticos
de átomos y moléculas, 146, 147, 153, 154, 173
electrónicos excitados, 368, 488
rotacionales, 173, 368, 431
- Estados excitados, 147, 148, 152-154, 156
- Estandarización de los instrumentos
en luminiscencia, 418
- Estator del motor, 53
- Estudios espectrofotométricos de
iones complejos, 384, 385, 387, 389
- Etapas de preconcentración en
análisis de redisolución, 748
- Etilbenceno
espectro de masas, 551, 555
- Exactitud, 967
- Examen de ventanas, 263
- Exceso de voltaje, 649-652, 697-700
- Excitación
de átomos y moléculas, 147-151
del espectro, en fluorescencia, 410-412
electrónica ultravioleta, 368
longitud de onda en la excitación Raman, 481, 482, 488
selector de, en luminiscencia, 411, 412, 418
y luminiscencia, 410-413, 416, 418
- Exploradores para muestras en
microscopio de barrido de efecto túnel, 616
- Expresión del balance de masas, 246, 386, 387, 390
- Extinción, 407-409, 417, 421
de choque, 408, 421, 428
dinámica, 408, 409
estática, 409
- Extintor, 408-409, 428
en tubo Geiger, 315
- Extracción
celda de, 863, 864
de fluidos supercríticos, 856-857, 862-866
fase sólida en la, 890, 940
solvente en la, 930, 934, 936
- Factor de retardo, en cromatografía
de capa fina, 849-850
- Factor de saturación, en análisis por
activación de neutrones, 920
- Factor de selectividad, 768, 775, 776, 779, 806, 831
- Factores de retención, 767, 768, 776, 779, 808, 832
efecto en la resolución de la columna, 778
en cromatografía de fluidos supercríticos, 858
y efecto de la fuerza del solvente en la cromatografía de reparto, 831
y factor de retardo en cromatografía en capa fina, 850
- Fase
ángulo de, 33
diferencia de, 33
estacionaria, 762
móvil en cromatografía, 762
quiral, 806, 837
- Fases amorfas, 327, 328
- Fases estacionarias líquidas en cromatografía, 773-775, 801-803, 884
- Fases móviles líquidas, 774-779, 828-830, 859
- Ferroceno en electroquímica, 721, 740, 741, 745
- Fibra óptica, 202, 203, 286, 354-356, 361, 417
- Fijación de la frecuencia del campo, NMR, 525
- Filtración de gel, 817, 845, 847
- Filtración digital, 120, 121
- Filtro
instrumentos de, en IR, 447, 474
fotómetros de, en UV-visible, 204, 354, 380, 824
- Filtro de Notch, holográfico, 179-180, 491-492
- Filtro pasaaltas, 40, 41, 115
para masas, 288, 289
- Filtro pasabajas, 40-41, 115-117, 123
- Filtros
analizadores de correlación, 448
de absorción, 180
electrostáticos para masas, 301
interferencia en los, 176, 177, 179, 180, 350, 355, 414, 430
para espectroscopía de luminiscencia, 411-413, 424
para rayos X, 311, 326-328
para señales eléctricas, 40, 41, 50, 73, 113, 115, 117, 122
- Flip-flops*, 85
- Fluctuación, 50
- Fluidos supercríticos, 763, 856, 857, 961
- Flujo de calor, calorimetría de barrido diferencial, 900-904
- Flujo de gas a alta presión, efecto Bernoulli, 225, 226
- Flujo electroosmótico, 869-871, 875, 882, 883
- Flujo por división del campo de flujo, 887
- Flujo turbulento en electroquímica, 726
- Fluorescencia atómica
espectroscopía de, 222, 230, 234, 249, 250, 333
sistema para detectar mercurio, 333
- Fluorescencia de rayos X, 303, 317-319, 322, 323, 324, 325, 590, 598, 599, 608, 611
espectrómetro de dispersión de longitud de onda, 318
instrumento para dispersar la energía, 318
medición de la, 321
métodos, 317, 319, 321, 323-325
sistema para detectar la, 624

- Fluorescencia, 5, 6, 148, 156
 atómica (*véase* Espectroscopía de fluorescencia atómica)
 bandas de, 402, 403, 411
 detección de, en cromatografía de líquido, 414, 421, 825, 873
 eficiencia cuántica de la, 406-408, 428
 emisión de, 5, 402, 405, 407, 408, 411, 412, 414, 417, 419, 422, 494
 en espectroscopía, 168, 399, 422
 espectro, 219, 311, 410, 415, 425
 instrumentos para, 411, 413, 414
 intensidad de la, 407, 409, 410, 412
 molecular, 156, 157, 399, 400, 483
 teoría de la, 400-409
 y mediciones del tiempo de vida, 421
 y radiación, 155, 156, 169
 y resonancia, 219, 400
- Fluorómetros, 5, 6, 204, 411-415
- Fluoruro
 determinación de, 688, 689, 746
 electrodo de, 672
- Fosforescencia, 156
 a temperatura ambiente, 414, 421
 instrumentos para medir la, 411, 417
 mediciones a baja temperatura, 414, 417
 mediciones de, 409, 417, 421
 métodos, 420-421
 teoría de la, 400-409
- Fotocátodo, 144-145, 194-195
- Fotoconductores, 200, 451
- Fotocorriente, 144, 191, 193, 268
- Fotodescomposición de muestras
 minimización, 362, 491
- Fotodescomposición en
 espectroscopía Raman, 488
- Fotodetector, 351-352, 384, 957-958
- Fotodiodos, 194, 197, 354, 355
 en serie, 196, 353-354, 491
- Fotoelectrones, 146, 194, 597-598, 916
- Fotómetros, 354-355
 de doble haz, 354, 355
 de filtro infrarrojo, 447, 469
- Fotones, 132, 144
 conteo de, 195, 202, 313, 491, 957
 emisión de, 148-149
 en efecto fotoeléctrico, 146
- Fotorresistores, 184, 683, 733
- Fotosedimentación, 958-961
 analizadores de, 958
- Fototransductor, 5, 9, 81, 411
- Fototubos de vacío, 144, 193, 194
- Fototubos, 66, 67, 144, 191-194
- Fracción de rechazo de modo común, 70
- Fraccionamiento por flujo y campo, 884-888
- Fracciones de volumen, método de variaciones continuas, 385
- Fragmentación en espectrometría de masas, 551, 552, 554, 555, 557-560, 562, 574, 576, 578, 580
- Franjas de interferencia, 458
- Frecuencia
 ancho de banda de la, en electrónica, 112, 115
 componentes de la, 120, 524, 745, 759
 de corte, 115, 116
 de intercambio en NMR, 520
 de la radiación absorbida, 153
 de vibración fundamental, 436, 437
 del ciclotrón, 571
 del protón, 521, 523, 532
 dominio de la, 7, 207, 209, 508-510
 espectro de, 210, 211, 759
 intervalo de la, 65, 207, 211, 524, 722
 medidor de, 9, 85, 86
 natural, 434
 portadora en NMR, 524, 525
 precesión de la, en NMR, 539, 540
 resonante de un cristal, 10, 87
 respuesta de, en circuitos eléctricos, 41, 64, 65, 120
 señal de barrido, 571
 sintetizadores de, en NMR, 522, 524
 sistema de estabilización de la, NMR, 543
 suma de, 606
- Frecuencia
 característica de cristales de cuarzo, 9
 de entrada en circuitos digitales, 85-87
 de Larmor, en NMR, 502-509, 533
 de vibración molecular, 431, 434, 435, 482, 485
 natural, 432, 434
 incidente, generación de la suma de la frecuencia, 605
- Frecuencias de grupo características, en absorción IR, 460, 476
- Frecuencias de grupo, 459-461, 464
- Frente de los picos cromatográficos, 769
- Fuente de arco
 espectrómetros de, 273
 espectroscopía de emisión con, 227, 254, 269-274
- Fuente de plasma de corriente directa, 258-259
- Fuente de rayos láser
 como excitadores en electroforesis capilar de columna, 879
 en dispersión de luz a ángulo agudo, 951
 en dispersión dinámica de la luz, 957
 en elipsometría, 606
 en espectroscopía Raman no lineal, 495
 en medidas de fotoluminiscencia, 413
 para espectroscopía Raman, 488
 para fluorescencia atómica, 250
- Fuente del alambre incandescente, en espectroscopía IR, 450
- Fuentes
 continuas, 167, 168, 211, 242, 249, 349, 413
 de corriente, 31, 63, 64, 708, 712
 de descarga luminiscente, 228, 273, 300
 de desorción, 558, 560
 de deuterio, 349, 361
 de electrones, en microscopio de barrido electrónico, 608
 de excitación, 247, 250, 413, 488, 495, 496
 de impacto del electrón, 552, 557, 558
 de voltaje constante, 59, 70
 espectroscópicas, 167
 comunes de radioisótopos, 307
 de alambre de nicromo, 450
 de infrarrojo, 449-451, 477
 de iones en espectrometría de masas, 283, 288, 290, 294, 551, 552-563, 564

- de ionización química en espectrometría de masas, 557, 558, 587
- de fluorescencia secundaria, en rayos X, 311
- de plasma (*véase también* Plasma de acoplamiento inductivo)
- de radiactividad en los métodos de rayos X, 325
- de voltaje constante, 70
- Fuerza de los iones, 641, 642, 646, 647, 687, 688, 848, 994-996
- Fuerza del solvente, 831, 833, 835, 841, 863
- efecto en los factores de retención, 831
- Función
 - autocorrelación en la dispersión dinámica de la luz, 956, 957
 - de la elipsometría, 607
 - de la espectrometría de derivadas, 378
 - de las longitudes de onda
 - de los de los espectros de absorción, 153
 - trabajo, 145, 146, 593
- Función p , 663, 665
- Función trabajo
 - efecto fotoeléctrico, 146
 - para espectrómetro electrónico, 593
- Ganancia
 - de producto del ancho de banda, amplificador operacional, 65
 - del amplificador, 41, 60, 63-65, 67, 70
 - del transistor bipolar de unión, 47
 - del tubo fotomultiplicador o multiplicador de electrones, 285
 - de ciclo abierto, 59, 64-65
 - de diferencia, 70
- Gas-líquido, 803
- Gas portador en cromatografía de gases, 790, 795
- Gases disueltos, 677-679, 818
- Geles
 - cromatografía de exclusión por tamaño, 844, 845, 847
 - electroforesis en, 877, 878, 892
- Generación de la frecuencia de suma, 591, 604, 605, 606
- Giro a un ángulo mágico, 533
- Globar, 450
- Goniómetro, en análisis con rayos X, 312
- Gota de potencial óhmico en celdas electroquímicas, 647
- Grados de libertad, 437, 922, 975, 976, 979
- Gráfica
 - de rapidez inicial, 382
 - de relación molar, 386
 - de variaciones continuas, 385, 397
- Graficadores, 52, 54
- Gráficas de correlación, 460, 464
- Granate de alizarina R como reactivo fluorimétrico, 420
- Grupos funcionales y fluorescencia, 405, 420, 425
- Guardacolumnas en cromatografía de líquidos de alta resolución, 822
- Haz
 - detectado en análisis de superficie, 590, 604
 - de la muestra, en IR, 446
 - de referencia, 241, 444, 446, 448, 458, 467, 824
 - doble, 241, 352, 359, 444, 445
 - incidente de electrones en análisis de superficies, 611, 612
 - instrumento de doble, 351, 356
 - monocromático, 134, 143, 311, 326, 482, 592
 - polarizado en el plano, 143
 - primario, 303, 317, 590-592, 599, 604
 - secundario, 303, 590, 602
- Hertz (Hz), 33
- Hexacianoferrato, 371, 636, 738, 745
- Hipereflecto Raman, 495
- Hipótesis nula, 984, 985
- Holograma de transmisión de volumen, 179
- Hooke, ley de, 434
- Horno para grafito, en espectroscopía atómica, 234
- Hornos
 - para análisis térmico, 894, 895, 898
 - para espectrometría atómica, 234, 235, 243, 245, 247, 256, 257
- Huecos en semiconductores, 44-46, 48, 191, 193, 194, 198, 316
- Imagen actual, resonancia del ciclotrón de iones, 571, 572
- Imágenes de resonancia magnética del cerebro, 542
- Imágenes por resonancia magnética, 537-541
- Imanes en NMR, 522
- Impedancia de Faraday, 722, 723
- Impedancia, 39-42, 63, 71, 72
 - medidas de, 42
- Impedancias de salida del amplificador operacional, 59-63
- Incertidumbre de la curva de calibración, 14
- Incertidumbres, 344, 583, 975, 980, 982, 983, 985, 986
 - al analizar mezclas, 377, 378
 - de la longitud de onda, 375
 - de la posición de la muestra, 346
 - en análisis de rayos X, 320
 - en coulombimetría, 697
 - en el conteo, 85
 - en la calibración del electrodo, 687
 - en la concentración, 346
 - en espectrometría de masas de alta resolución, 578
 - en la frecuencia de radiación, 220
 - en las mediciones cromatográficas, 783
 - en mediciones de corriente, voltaje y resistencia, 30
 - en mediciones de pH, 684
 - en mínimos cuadrados, 12, 13, 924
 - en potenciales de unión, 660, 687
 - espectrofotométrica, 343 -345
- Incoherencia de la radiación electromagnética, 140
- Indicadores de las desviaciones de la ley de Beer, 339, 340
- Índice de polaridad, 831-832, 839
- Índice de refracción, 140-142, 177, 179, 180, 203, 339, 458, 472, 604-606, 823, 825, 885, 951, 957, 958
- Índice de retención de alcanos, 806, 807
- Índices de retención, 806, 807
- Inductores, 34, 35
- Información
 - del espectro, en instrumentos multicanal, 199, 204
 - digital, 5, 7, 8, 80

- en interferometría del intervalo de la muestra, 440
- flujo de la, 3,5, 115
- Información digital, 8, 9, 95, 104
- Inmunosensores, 733, 734
- Instrucciones para computadoras, 91, 92, 94
- Instrumentación
 - automatizada, 127, 326, 736, 929, 930, 945
 - calibración de, 11-17
 - comerciales para electroforesis capilar, 874, 875
 - componentes de, ópticos, 164, 249, 310, 411
 - coulombimétricos computarizados, 706
 - del análisis de frecuencias por computadora, 723
 - de barrido secuencial para espectrometría atómica, 259-261
 - de doble haz, 241, 346, 351-353, 358 -360, 441,444
 - de fluorescencia atómica con vapor frío, 333
 - de pulsos en NMR, 499
 - de transformada de Fourier, 265, 266, 430, 443
 - de un solo canal de rayos X, 318
 - dispersores de energía de rayos X, 310, 318-320, 322
 - dispersores de longitud de onda para análisis de rayos X, 310, 318
 - en tándem en espectrómetros de masas espacial, 575, 576
 - multinucleares en RMN, 534
 - no dispersores en fluorescencia atómica, 250
 - para cromatografía de gases, 789
 - para IR, 431, 447, 448
 - portátiles, 193, 315, 354, 415, 809
 - sector para espectrometría de masas, 566, 575
 - virtuales, 102, 103
- Instrumento de transformada de Fourier-Raman, 488, 491, 492 (*véase también* Transformada de Fourier, espectrómetros Raman)
- Instrumento para medir voltaje de alta impedancia, 67
- en potenciometría, 687
- Instrumentos
 - analíticos, 3, 9, 88, 90, 95, 103
 - multiplex, 204
 - computarizados, 90, 91
 - de calorimetría de barrido diferencial de potencia compensada, 900
 - de lectura, 10, 51, 54
 - de un solo haz, 240, 241, 351
 - dispersivos en fluorescencia atómica, 250
 - efecto de celdas que no corresponden, 343
 - electrocardiográficos, 115
 - espectroscopía atómica, 240
 - multicanal en UV-visible, 353-354, 360-361
 - para cromatografía de líquidos, 821-827
 - para el infrarrojo, 438-449
 - para el infrarrojo dispersores, 445, 446, 465
 - para resonancia magnética por haz de neutrones y espectrómetro de onda continua, 498, 499
 - para medir absorción molecular, 351
 - reticulares de un solo haz, 357
 - ventajas de los, 358
- Instrumentos espectroscópicos, 168
 - fuentes y detectores, 167
 - materiales de construcción y selectores de longitud de onda, 166
 - sistemas de detección, 792
 - tipos, 351
 - transductores para, 191
- Integradores
 - de grupo, 120
 - para coulombimetría, 706
 - electrónicos, 703, 704, 789 (*véase también* Amplificador operacional)
- Intensidad
 - de la radiación electromagnética, 134
 - distribución de la, en la dispersión de la luz, 952-954
- fluctuaciones de, en la dispersión de la luz, 956
- reflejada, 142, 470, 605
- Intensificación, en espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo, 296
- Interacciones bipolares
 - en cromatografía, 833
 - en RMN, 532, 537
- Interacciones de vibración, 433
- Interacciones del haz de electrones, en microscopio de barrido electrónico, 610
- Interacciones disociativas, en espectrometría de masas, 574
- Interacciones ligando-analito en cromatografía por afinidad, 848
- Intercambiadores de cationes
 - cromatografía en, 839, 842-844
- Intercambio químico en RMN, 519, 520, 535, 536
- Interfases
 - líquido-líquido, 605, 606, 774
 - solución-electrodo, 632, 703, 723, 727
- Interferencia constructiva, 136, 138, 140, 176, 183, 208, 310, 458
- Interferencia destructiva, 136, 140-142, 176, 208, 309
- Interferencia, cuña de, 177
- Interferencias
 - en el espectro, 241, 242, 248, 269
 - en espectroscopía atómica, 219, 239, 241-247, 250, 266, 267, 269
 - en espectroscopía, 241, 269
 - en espectroscopía de emisión de plasma, 269
 - espectrometría de masas con plasma acoplado de manera inductiva, 294-296
 - generales, 2, 13, 21, 22
 - isobáricas, en espectrometría de masas, 294, 300
 - químicas, 244, 248, 254, 258, 269
 - químicas en espectrometría de masas atómica, 295
- Interferogramas, 209-211, 439, 440, 442, 443, 466, 467

- Interferómetro de Fabry-Perot, 176-177
- Interferómetro de Michelson, 208-210, 213, 214, 439, 454, 491-492
- Interferómetro, 208-210, 440-443, 492
- Intervalo de longitud de onda
 ancho del borde del, 180
 de rayos X, 303
 del cristal de rayos X, 312
 del láser de colorantes, 173
 en diodo de láser, 174
 en espectrofotómetros, 357
- Introducción continua de la muestra
 en plasmas y llamas, 224
- Introducción de muestras sólidas
 en espectrometría de masas con
 descarga luminiscente, 300
 en espectroscopía atómica, 224, 226
 en espectroscopía de descomposición
 inducida por láser, 276
- Inyección
 electrocínética en electroforesis
 capilar, 871, 872
 en análisis por inyección en flujo,
 864, 871, 872, 877, 887, 931,
 933, 934
 en cromatografía, 783, 791, 801, 821
- Iones
 alcalino-metálicos, efecto en los
 electrodos de vidrio, 689
 atrapados, 570, 572
 de soluto orgánico en
 cromatografía para líquidos
 de alta resolución, 836
 detección simultánea de, en
 espectrometría de masas,
 286, 287
 energéticos en espectrometría de
 masas, 285, 287
 excitados, 276, 305, 307, 309, 593,
 598
 matriz protonada de, en
 espectrometría de
 desorción-ionización láser
 asistida mediante matriz,
 560
 nitrato, reducción de, 698-700
 primarios en métodos
 espectroscópicos, 603
 producto en espectrometría de
 masas en tándem, 573-576
 retrodispersión energética de
 Rutherford en, 603
- Iones cloro
 determinación de, 663, 710, 735,
 736, 932
 supresión mediante, 408
- Iones complejos, estudios
 espectrofotométricos, 384,
 385, 387
- Iones de las moléculas, 282, 555
- Iones hidrógeno, generación de, 708-709
- Iones metálicos de transición
 absorción mediante, 374
 espectros de, 370
- Iones retrodifundidos, 603
- Ionización
 fuente de, 565, 566, 570, 573, 583
 fuente potente de, 552, 553
 fuente suave de, 552, 553, 574, 575
 grado de, en espectroscopía
 atómica, 246
 por electroaspersión de, 552, 560,
 562
 por impacto de electrones, 554 -
 557, 558, 559, 563, 581
 química, 552, 553, 557, 558
 región de, en espectrometría de
 masas, 557, 565
 supresor de, en espectroscopía
 atómica, 246
- Ionización por electroaspersión en
 espectrometría de masas,
 552, 560
- Ionóforos, 674, 675
- Irradiación, análisis mediante
 activación de neutrones, 909,
 918, 920, 921, 924
- Laboratorio
 electrónico, 127-130
 operación del, en fluidos, 940
 registros para el, 52-53
 sin papel, 127
- Laboratorios analíticos electrónicos,
 127, 128
- LabVIEW, 99, 102-103, 745
- Lámpara de arco de xenón, 152, 351,
 413, 415, 417
- Lámpara de deuterio, 349, 350
- Lámparas de cátodo hueco, 238-244,
 250
- Lámparas de descarga sin electrodo,
 239, 250
- Láser de cuatro niveles, 171-173
- Láser de helio-neón, 172, 483
- Láser del ion argón, 482, 483, 488
- Láser excímero, 172
- Lazo en circuitos eléctricos, 26, 27,
 29, 821
- Lechada, 224
- Ley de Beer, 158, 308, 336-338
 aplicación en mezclas, 338, 376, 377
 limitaciones de la, 338-342, 348,
 375, 466
 titulaciones y, 380
- Ley de Bragg, 309
- Ley del desplazamiento de Wien, 160
- Leyes de Kirchhoff
 de corriente, 26-30
 de voltaje, 26-27, 30, 36, 62
- Limitaciones de los instrumentos en
 espectrometría IR, 464, 465
- Límite
 condiciones en el conteo, 81, 85
 potencial, 635, 667-670
- Límite de concentración dinámico, 19
- Límite de detección, 20
 de detector de quimioluminiscencia
 en cromatografía de gases
 específico para nitrógeno,
 800
 de sensor piezoeléctrico, 10
 en detector de conductividad, 796
 en detector de quimioluminiscencia
 del azufre en cromatografía
 de líquido, 800
 en fluorimetría, 420
- Límite de exclusión, cromatografía de
 exclusión por tamaño, 846,
 847
- Límite de linealidad, 21
- Límites de detección
 en absorción UV-visible, 374
 en espectrometría luminiscente,
 399, 419, 424
 en fluorescencia de rayos X, 324, 333
 en radioquímica, 918
 en separaciones, 782, 826, 872, 890
 en voltametría, 732, 734, 741, 742,
 744, 750
- Límites de detección atómica, 20
 en espectrometría de masas, 281,
 286, 290, 292, 294, 296, 297

- en espectroscopía, 237, 248-250, 264, 266, 267, 269, 273, 274
- Línea digital del suscriptor, 106, 107
- Linealidad de las curvas de
 - calibración, 21, 248
- Líneas atómicas, 219, 220
- Líneas de los rayos X, 304-305
- Líneas de Rayleigh, 482, 955, 956
- Líneas de resonancia, 219, 238, 240
- Líneas del espectro, 269
 - anchura de las, 220
 - ensanchamiento Doppler, 221
 - pliegues en las, debido al submuestreo, 525
- Litio, sales de, como electrolito de
 - soporte en voltametría orgánica, 747
- Longitud de onda
 - calibración en espectrometría de absorción, 350
 - máxima en diodos emisores de luz, 350
 - reproducibilidad en transformada de Fourier, 205, 474
 - resolución en transformada de Fourier, 205
- Longitud de onda de absorción
 - máxima, 220, 341, 356
- Longitud de onda de la luz
 - dispersión de Debye, 952
 - en microscopía, 608
- Longitud de onda múltiple en
 - calibración multivariada, 13, 389
- Longitud de trayectoria
 - en mediciones de absorción, 337
 - interferómetro, 209
 - IR a partir de las franjas de interferencia, 458
 - ley de Beer y, 158
- Lugar de trabajo, 105
- Luminol como reactivo
 - quimioluminiscente, 425
- Luz de láser de ángulo agudo, 893, 950, 951, 953
- Llama
 - atomización de la, 230, 232, 233, 241, 248
 - detectores fotométricos de, en cromatografía, 797, 859
 - en detector de ionización, 793, 794, 796, 797, 800, 859, 861
- espectro de emisión de la, 218
- espectroscopía de la emisión de, 230-233, 246, 248, 273
- fotómetros, 273
- perfiles de absorción de la, 232
- quimioluminiscencia de la, 425
- Mapa de *Vinland*, 493, 624-626
- Mapa del dominio de los datos, 3-4, 7-8
- Marco de referencia en rotación, en NMR, 505, 508
- Masa
 - cambio de, en análisis termogravimétricos, 896, 897
 - coeficientes de absorción de, 308
 - cromatogramas de, 799, 800
 - exacta, 282, 566, 578
 - fracción de, 308, 320
 - números de masas, 281
 - reducida, 434-436
- Masas atómica, 229, 281, 282, 298, 603, 604, 920
 - análisis espectrométrico de, 281
 - espectrometría de, 281-284, 291, 294
 - espectrómetros de, 284
 - número de, 296
 - unidades de, 281, 282
- Masas del espectro,
 - bibliotecas de espectros de masas, 552, 577, 581
 - presentación de los datos, 551, 580
- Masas molecular, 281
 - a partir de espectros de masas, 578
 - de alta precisión, 568
 - en cromatografía de exclusión por tamaño, 845-848
 - número de masa, 282
 - promedio o química, 282
- Material de referencia, patrón, 19
- Materiales dieléctricos, 177, 201, 202, 451
- Mattauch-Herzog, geometría de, en el espectrómetro de masas, 291
- Máximo de referencia en
 - espectrometría de masas, 551, 555, 558, 576, 577
- Mecánica cuántica del efecto túnel, 600
- Media
 - de la muestra, 967-969, 971, 976
 - de la población, 971
- Mediciones del tiempo de vida, y fluorescencia, 421-422
- Mediciones espectroquímicas,
 - aspectos cuantitativos, 157
- Mediciones potenciométricas, 659
 - curvas de calibración de las, 688
 - de pH, 690
 - directas, 686-690
- Mediciones voltamétricas
 - de barrido lineal, 718
 - de peróxido de hidrógeno, 733
- Medida de la relación de isótopos en
 - espectrometría de masas, 299, 578, 580
- Medidor de flujo para cromatografía de gases, 789, 790
- Medio amplificador de luz, 168-169, 172
- Mejoramiento del rendimiento de la columna, 775-779
- Membrana selectiva de iones, 665, 683
 - propiedades de la, 665
- Membranas permeables al gas, 677, 678
- Memoria de la computadora, 92-94
- Memoria sólo de lectura, ROM, 91, 94
- Mesa giratoria con muestras, 943
- Método de adición estándar, 13-15, 248, 375, 376, 427, 688, 746
- Método de mínimos cuadrados, 985-988
- Método de normalización del área,
 - cromatografía, 783, 784
- Método de patrón interno, 17, 18, 98
 - para cromatografía, 783, 807
 - para espectroscopía de emisión, 98, 272
- Método de referencia, espectrometría IR cuantitativa, 467
- Método de variaciones continuas, 385
- Métodos
 - acoplados, 283, 582, 800
 - analíticos, 1, 11, 17, 21, 22
 - catódicos de redisolución, 748, 749
 - cinéticos, 381-385
 - coulombimétricos, 11, 697, 701-703, 707-712, 714
 - de calibración de los instrumentos, 11-17
 - de flujo detenido en análisis por inyección en flujo, 937
 - en métodos cinéticos, 384

- de introducción de la muestra en espectroscopía atómica, 223, 225, 227, 228
- electroanalíticos, 628, 633, 647, 648, 651, 653, 659
- en flujo continuo, 383, 931, 933, 934
- espectrofotométricos, 381, 383
- espectrométricos, 132, 162
- espectroscópicos de fotones superficiales, 605, 606
- espectroscópicos de superficie, 589, 590
- fotoluminiscentes, aplicaciones de los, 418-421
- instrumentales, 1-3
- interfaciales, 652, 653
- no destructivos en análisis de activación por neutrones, 921-922
- ópticos, 215, 281
- para luminiscencia, 399-419
- radioquímicos, 909-928
- térmicos, 894, 896, 898, 900, 904, 906, 908
- Mezcladores
 - de flujo detenido, 384
 - en microfluidos, 941
- Mezclas de dos componentes, 377, 729, 767, 787
- Micelas
 - en cromatografía electrocinética, 882-883
 - en fosforescencia a temperatura ambiente, 421
- Microcomputadoras, 80, 90-92
- Microelectrodos
 - aplicaciones de los, 753
 - voltamétricos, 751-753
- Microscopía de barrido electrónico, 608, 613
- Microscopía de fuerzas atómicas, 613, 617-619
- Microscopía electroquímica de barrido, 753
- Microscopio de barrido
 - efecto túnel en, 613-616
 - electroquímico, 613, 753
 - sonda de, 613-621, 623, 753
- Microscopio de barrido de efecto túnel, 614, 615, 617
- Microscopio de barrido electrónico ambiental, 613
- Microscopio de barrido electrónico, 608-610, 612, 613
- Microscopio de sonda de barrido, 613, 619, 621, 753
- Microscopio IR, 477
- Microsonda de electrones, 328, 607, 610-612, 624
- Microsonda iónica, 603, 624
- Mie, teoría de, 951-952
- Migración
 - de aniones y cationes en la conducción electrolítica, 630
 - de cationes en el tubo Geiger, 315
 - de huecos y electrones en la unión *pn*, 44
 - de la fase móvil medida por el tiempo muerto, 766
 - de la mayoría de los portadoras en un transistor bipolar de unión, 47
 - en cromatografía, teoría de la velocidad, 768
 - en la polarización de la concentración, 651
 - en membranas selectivas de iones, 665
 - mecanismos de transferencia de masa en la, 633, 651
 - minimización de la, en la voltametría con electrolitos de soporte, 724
 - retraso en la, en electroforesis capilar en gel, 878
 - término de la, en el punto isoelectrico en electroforesis capilar, 881
 - y arrastre de iones Li en detectores de SiLi, 316
- Mínimos cuadrados, 15, 20
- análisis compensado de, 12, 279-280, 331
- método de, 985-988
- suavización polinomial, 120-123
- Módem con cable, 106, 107
- Módem, 9, 106
- Modo normal, 437-438
- Modos de vibración, 437, 438, 486
 - en la actividad IR y Raman, 485, 486
 - en las bandas Raman de resonancia, 494
- Modulación, 115-116
 - del índice de refracción, 179, 214
- Moléculas biológicas, 494, 534, 535, 550, 579
- Moléculas excitadas, 169, 171, 231, 349, 402-405, 407 (*véase también* Transiciones electrónicas)
- Momento angular en RMN, 499
- Momento magnético, 499-500, 502, 505-506
- Monocapa autoensamblada, 721, 741
- Monocromador de rayos X, 311-312, 325
- Monocromador Spectronic 20, 357
- Monocromador, 180-189
 - características de rendimiento del, 186
 - dispersión del, 185
 - efecto del ancho de la rendija en la resolución del, 188
 - en espectrometría de fluorescencia, 411, 413
 - en espectrometría IR, 444
 - en espectrometría Raman, 490
 - espectrógrafo de rejilla de difracción, 261
 - poder de captación de la luz del, 185
 - poder de resolución, 185
 - rendijas, 187
- MOSFET, 48
- Movilidad de iones, 635
- Movilidad electroforética, 868
- Muestras sólidas, 227
 - análisis directo de, con atomizadores electrotérmicos, 235
 - análisis directo de, en espectrometría de masas con descarga luminiscente, 300
 - en espectrometría de rayos X, 326
 - en espectroscopía del IR cercano, 475, 476
 - en espectroscopía en el IR medio, 469
 - en espectroscopía IR, 458
 - en espectroscopía Raman, 489
 - en espectroscopía NMR, 526
 - en métodos superficiales espectroscópicos, 590
 - en microscopio de barrido electrónico, 608

- Muestreo
 ciclos de, 821, 933
 cono de, en espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo, 291
 frecuencias de, 118, 745
 picolitro, 872
 señal NMR, 524
 superficies de, 590
 tasa de, 102, 525
 válvula de, 933, 934
- Multímetros digitales, 30-32, 42, 43, 52
- Multiplicadores de electrones
 de dinodo continuo, 284, 285
 de dinodo discreto, 284
 en espectrometría de masas, 284-286, 290, 292, 299, 570, 603
- Multiplicidad, 518
 en conversión interna, 402
 en cruces entre sistemas, 404
 en NMR, 517-519
- Nebulizador
 en el detector de dispersión de luz de evaporación, 826
 en espectrometría atómica, 224-225, 256
- Nebulizador de Babington, 225-226
- Nernst
 capa de difusión de, 726-727, 751
 centelleo de, 449-450
- Neutrones rápidos, 918, 922
- Neutrones térmicos, 918, 919, 922, 927, 928
- Nitrógeno de la urea, determinación del, 681, 947
- Nivel lógico, 84
- Niveles de vibración, 152, 155, 156, 169, 368, 402-405
 en el estado basal, 152
 en el estado excitado, 152
 en espectroscopía Raman, 484, 494
 mínimos, 152, 402, 405, 494
- Niveles electrónicos de energía, 152-154, 169, 242, 400, 402, 403
- Niveles energéticos en NMR, 498-500
 en espectroscopía óptica, 153, 154, 216, 221, 243, 400, 401, 433, 435-437, 482
- rotacionales, 155, 432
 división de niveles electrónicos, 242, 400
 en espectrometría de rayos X, 305, 306, 308, 309
- Núcleo
 diana en análisis de activación por neutrones, 918-919
 propiedades del, en NMR, 499-504
- Núcleo compuesto excitado, 918, 919
- Núcleos excitados, en NMR, 503-505
- Número de onda, 134, 457
 corrimiento del, 482, 483
 relación con la frecuencia de un interferograma, 209
 valores en IR, 430
- Número F, 185
- Números atómicos, 303-306, 318, 325, 593, 599, 909, 910, 920
- Números binarios, 8, 81-84, 88
- Números cuánticos de vibración, 433, 435, 436
- Números cuánticos del núcleo, 499
- Números cuánticos magnéticos, 499, 501, 504, 542
- Números decimales, 54, 81-83
- NMR multidimensional, 535-536
- Nyquist
 frecuencia de, 118-119, 525
 teorema de muestreo de, 118-119, 524
- Obturador, 158, 159, 241, 351, 353, 354
- Ohm, ley de, 5, 26-27, 30, 36, 38, 39, 63, 69, 73
- Onda de plasmón de superficie, 604, 605, 325, 916, 917
- Onda en forma de diente de sierra, 42
- Onda voltamétrica, 722, 747
- Ondas
 anódicas, 729, 738, 739, 744, 749
 amplitud de las, 133
 componentes, 136
 electromagnéticas superficiales, 604
- Ondas electromagnéticas
 difracción de doble rendija, 139
 efectos no lineales, 175
 interacción con la materia de las, 132
- polarización, 143
 superposición, 136
- Ondas seno, 33, 34, 508, 956
 descripción matemática, 135
 superposición, 137
- Operaciones en línea, captura de datos, 92
- Operaciones unitarias, 929, 931, 940, 942, 943
- Orbitales
 desdoblamiento de, 216
 en absorción molecular, 369, 370
 en captura K, 911
 en la banda de valencia de los semiconductores, 173
 en los complejos de transferencia de carga, 371
 en los espectros atómicos, 215
 en los espectros de rayos X, 593, 598
- Orden
 de difracción, 186
 de interferencia, 139, 177
- Ordenada al origen de la curva de calibración, 12-17
- Origen
 de la energía radiante, 413, 418, 419
 de la radiación monocromática, ley de Beer, 340
 de la temperatura de, 237, 576
 de las fluctuaciones de la intensidad, compensación, 348, 418
 del ruido fluctuante, 279, 346, 365, 419
- Origen de las líneas, 168, 237
- Origen del continuo
 espectrómetros, 237
 sistemas de corrección de fondo, 242
- Oscilaciones del campo eléctrico, 133
- Oscilador armónico, 433-435
- Oscilador de cristal, 87
- Oscilador no armónico, 436
- Oxígeno disuelto, 409, 730
 determinación de, con el electrodo de Clark, 732
 efecto del, en la fluorescencia, 407, 409
- Ozono
 determinación de, 424

- en detección de azufre por quimioluminiscencia, 800
- Pantalla alfanumérica, 54
- Pantalla de cristal líquido, 54
- Partes de un instrumento, 3, 4
- Partículas alfa, 603, 604, 910, 916, 917
- Partículas beta, 910, 916, 919
- Patrón de interferencia, 178, 179, 184, 209, 210
- Patrones de Airy, 953, 954, 962
- Patrones de división
 - efecto Zeeman, 243
 - en NMR, 519, 526
- Patrones, en calibración, 11, 17
- Pendiente, 12, 14, 19, 20, 986-988, 992, 993
- de mínimos cuadrados, 992
- Perfil de la zona, en análisis por inyección en flujo, 935
- Perfil isobárico, 294, 858
- Perfiles de concentración-distancia en voltametría, 726
- Periodo de pulsación, 136, 156, 206
- Peróxido de hidrógeno, 375, 399, 425, 679, 730, 733, 737
- pH, 636, 670
 - medidores de, 685-690
- pI (*véase también* Punto isoeléctrico)
- Picos múltiples en NMR, 515-519
- Pixel, 198-199
- Placas de microcanal, 285-286
- Planck, constante de, 146, 156, 161-163, 169, 304, 435, 499
- Plano focal en el espectrómetro de masas, 285, 286, 291, 568
- Plano focal en el espectrómetro óptico, 181, 182, 185, 187, 188, 194, 196, 203, 260, 261, 270, 353, 361
- Plasma de acoplamiento inductivo
 - en espectrometría de emisión, 255-258, 266-269
 - fuentes, 255-259, 263, 266-269, 276, 291-294
- Plasma de corriente directa, 255, 258, 259, 266
- Plasma inducido con microondas, 255, 797
- Plato
 - altura del, 769-778, 816-818, 850, 859-860, 869
 - cantidad, 769, 771, 850, 869, 889
 - teoría de, en cromatografía, 770
- Plato de metal para las muestras, 560
- Platos teóricos, 769
- Población
 - desviación estándar de la, 971
 - inversión de la, en rayos láser, 171-172
 - media, 971
 - varianza de la, 971, 981
- Poder de resolución
 - de monocromador, 185, 218
 - de retículas, 185
 - en columna cromatográfica, 768, 775
 - en electroforesis, 867
 - en espectrómetro de masas de doble enfoque, 300
- Polarizabilidad, 143, 484-486
- Polarización, 144, 652
 - cinética, 697
 - de átomos o moléculas, 140
 - de radiación, 143-144
 - directa del diodo semiconductor, 45-46
 - directa, 45, 47, 54
 - efectos ópticos no lineales en, 175
 - electroquímica, 648, 649, 651
 - en NMR, 533
 - en voltamperometría, 716-719
 - inversa, 45, 46, 50, 194, 197
 - transferencia de carga en la, 649, 651
 - voltaje de, 612, 615, 683, 757
- Polarografía, 716-717, 737
- Portadores, mayoritarios 26, 44, 45, 47
- Positrón, 910-911
- Potencia de la radiación, 134
 - emisión Raman y, 486
 - en mediciones de transmitancia y absorbancia, 336
 - mediciones de la, en IR, 467
 - y ley de Beer, 337
- Potencia radiante, 157
- Potencia, 63
 - de captación de luz del monocromador, 184-186
 - de la emisión de fluorescencia, 407
 - de un haz de electrones en espectroscopía
 - fotoelectrónica de rayos X, 592
- disipada en un elemento resistivo, 27
- ganancia de, 63
- gráfica de, contra temperatura en calorimetría de barrido diferencial, 900
- radiante, en rayos X, 308
- suministro de energía, 49-50
- Potencial
 - de asimetría en el electrodo de vidrio, 669, 670
 - de unión, 630, 635, 665, 667, 668, 686-689
 - en circuitos resistivos, 26
 - en un termopar, 201
 - en un tubo de rayos X, 303
 - formal, 645, 997-1000
- Potenciales, 633-647
 - constantes, electrólisis a, 700
 - de celda electroquímica, 636
 - de conmutación en voltametría cíclica, 738, 739
 - de electrodos de calomel, 660
 - de electrodos de referencia, 661
 - del electrodo estándar, 640, 641, 644, 645, 686
 - en celdas electroanalíticas, 633
 - en electrodo de vidrio, 668
 - en electrólisis, 697
 - estándar, 641, 645 (*véase también* Potencial estándar de electrodo)
 - cálculo de, 641
 - límite en un electrodo de vidrio, 668
 - tablas de electrodo estándar, 997-1000
- Potenciómetro
 - de laboratorio, 67
 - divisor de voltaje, 28
 - registros de, en el laboratorio, 53
- Potenciostato, 70-71, 699, 701, 704, 705, 730, 731, 757-759
- Precesión del núcleo, 501-502
- Precisión de los instrumentos, 344
- Preconcentración en línea en cromatografía
 - electrocínética micelar, 883
- Predisociación en fluorescencia, 403, 404

- Principio de incertidumbre, 156, 220
- Principios, 150, 152, 206, 250, 264, 915, 916
correcciones de, 242-244
- Prismas, 182, 186
en monocromadores de red, 187
materiales para, 166
- Probabilidad de transición, 367, 404, 405
- Problema general de elución,
en cromatografía, 780-781
- Problemas analíticos, 1, 17, 18
- Procedimientos analíticos, 11
- Procedimientos instrumentales, 2, 3
- Proceso endotérmico, análisis
térmico, 899
- Proceso exotérmico en el análisis
térmico, 898-904
- Procesos de excitación no radiativos,
147
- Producto iónico en espectrometría de
masas en tándem, 573 -576
- Programación de la temperatura
en cromatografía de fluidos
supercríticos, 858
en cromatografía de gases, 791, 792
- Programas de computación para
resolver ecuaciones, 98, 99
- Promedio de conjunto, 117-119
- Promedio de movimiento, 120, 125
- Promedio por grupos, 118-120
- Propagación del error, 982
- Propiedades de onda de la radiación
electromagnética, 133, 135,
137, 139, 141, 143
- Propiedades cuántico-mecánicas de
la radiación, 144-157
- Protección diamagnética, NMR, 514
- Protones de metilo, en NMR, 511-518
- Proyecto del genoma humano, 867, 878
- Prueba de dos colas, 984
- Prueba de la hipótesis, 983-985
- Pruebas de una cola, 984
- Pseudocondiciones de primer orden,
393
- Puente salino, 630
- Punta en voladizo, en microscopios
de fuerza atómica, 617, 618
- Punto Curie, 202, 451, 895
- Punto de cruce del haz de electrones,
599, 600
- Punto de equivalencia en titulaciones,
379, 380, 691, 709, 712, 714,
734-736
- Punto isoelectrónico, 876, 880, 881
- Puntos de ebullición en
cromatografía de gases, 791,
792, 803
- Puntos suma, 64, 71, 72
- Quemadores de flujo laminar, 233
- Quimioluminiscencia, 149, 399, 422-425
fotómetros para, 424
métodos de, 424
señales de, 424
- Radiación, 132-133
absorción de la, 152-155
bandas de, 152, 167, 402, 450
coherente, 139-140, 178
del cuerpo negro, 152
detector de, 164, 310, 910
dispersa, 142
emisión de, 149-152
en el infrarrojo cercano, 175, 191,
348, 350
en la absorción atómica, 237
energía de la, unidades, 146, 155
fuente de radiación, 68, 115, 165,
166-175
intensidad de la, 132, 204, 315, 356,
470, 475
interacciones con la materia, 147-149
sincrotrón de, 303, 594
transductores de radiación, 191-201
transmitida, 148, 165, 176
- Radiación del continuo, 150, 152, 221,
223, 237, 242, 257, 294, 303,
304, 306, 311, 326, 351, 413,
449, 450
- Radiación gamma, 303, 306, 612, 910,
911, 916-918, 922
- Radiación infrarroja, 134, 149, 155,
172, 174, 180, 182, 191, 201-
203, 209, 213, 364, 166, 167,
430-432
- Radiación UV, mediciones
espectrofotométricas con,
372
visible, absorción, 367, 368
- Radiación electromagnética, 2, 9,
132-137, 139-141, 143-145,
147, 149
- absorción de la, 148, 368, 498
(véase también Absorción)
- de longitud de onda corta, 303
- del plano polarizado, 133, 143
- dispersa, 285 (véase también
Dispersión)
- emisión de, (véase también Emisión)
- fuentes de, 140
- propiedades de la, 132
- Radiación monocromática
incoherente, 169
ley de Beer, 158
rayos láser de diodo, 173
- Radiación parásita, 341, 348, 443
efectos de la, 348, 469
- Radiación polarizada, 143, 486, 502
en espectroscopía Raman, 486
en la corrección de fondo Zeeman,
243
en NMR, 502
- Radiación policromática,
desviaciones instrumentales
debido a la, 340-342, 356
- Radiación X, 305-309, 312-316, 325,
916, 917
detector de, 313, 319, 608, 609
difracción de, 309, 310, 325, 626, 904
emisión de, 149, 303, 309, 319, 324,
325, 328, 607, 610, 911
espectro de, 150, 151, 317, 593, 597
resultados de la, 911
espectro de líneas, 151, 304, 305
espectrómetros de dispersión de
energía, 311, 313, 607
espectroscopía de dispersión de
energía, 317
fotoelectrón
espectroscopía, 592
espectro, 593, 597
fuentes de, 303, 310, 316, 318, 594,
596
monocromadores, 312
monocromática, 592, 595
Rayos X
transductores, 313, 314, 317
tubo de, 303, 304, 306, 309-312,
317-319, 326-328, 594, 599
- Radiactividad, 909
- Radio analítico, 959, 962
- Radionúclidos, 910, 925
- Raman
dispersión, 484-485, 488

- espectrómetros, 491
- espectros, 481-482, 485-486, 489-495
- frecuencias funcionales de grupo, 493
- microsonda, 490, 493
- transiciones activas, 486
- Ranura de salida del monocromador, 181, 184, 187-189, 203, 204, 260, 261, 285
- Rayos gamma inmediatos, 918-920
- Rayos láser, 168-175
 - con diodos, 173-175
 - como referencia en el espectrómetro IR de transformada de Fourier, 440
 - de colorantes, 168, 173
 - dióxido de carbono y, 450
 - en la fabricación de rejillas holográficas, 184
 - microsonda de, 274
 - para desorción de muestra en espectrometría de desorción-ionización láser mediante matriz, 560
- Reacción
 - reversible, 722, 742, 744, 753, 754
 - velocidad de, 2, 382-383, 645, 650, 920
- Reacción postcolumna, 836
- Reacciones de disociación, 244, 245, 339
- Reactancia
 - capacitiva, 34-39, 40, 723
 - inductiva, 34
- Reactivo iónico en espectrometría de masas, 558
- Reactivos químicos, 372
- Rectificadores, 44, 50, 446
- Red de computadoras, 103-107
- Red de servidores, 105
- Redes de área local, 105, 107
- Redisolución anódica, 748-750 (*véase también* Análisis de redisolución)
- Reducción de dos electrones, 729-730
- Reducción de oxígeno
 - en onda voltamétrica, 730
 - voltamograma de, 737
- Reflectancia atenuada total
 - en cristales, 472, 478
 - espectroscopía, 472, 478
 - mediciones, 471
- Reflectancia, 470, 475
- Reflexión
 - rejillas de, 173, 181-184, 309, 358, 444
 - de la radiación, 142
 - espectros de, en IR, 431, 470, 471, 477
- Reflexión interna total
 - en fibra óptica, 203
 - de ondas de plasmón superficiales, 604
- Refracción de la radiación, 141, 181, 182, 185, 186, 458, 471, 478
- Región del IR cercano, 455
- Región UV en el vacío, 369
- Región UV-visible, 185, 341
- Regiones del espectro infrarrojo, 455
- Reglas de selección, 436, 437, 485
- Regresión no lineal, 388
- Reguladores, 49, 51
- Rejilla
 - de difracción, 183, 186, 262, 265
 - del espectrómetro, 198, 260, 262-264
 - del monocromador, 186, 187
- Relación señal-ruido, 110, 111
- intensificación de la, 113, 123
- Relaciones corriente-voltaje
 - diodos y, 45, 51
 - electroquímica y, 648, 649, 697, 699, 728, 729
- Relaciones corriente-voltaje en reacciones reversibles, 728
- Relaciones giromagnéticas, 499-501, 504, 529, 534
- Relaciones masas-carga
 - en cuadrupolos en espectrometría de masa, 289
 - en el espectro de masas, 551
 - en espectrometría de masas atómica, 282
- Relajación vibracional, 156, 401-403, 426
- Relajación, 152, 494
 - en absorción UV-visible, 368
 - en espectrometría de masas, 551, 552, 554
 - en espectroscopía Auger, 598
 - en espectroscopía Raman, 485, 494
 - en fluorescencia, 403
 - en rayos láser, 171
 - en NMR, 503, 504, 506, 508
 - no radiactiva, 155
 - procesos de, 155, 368, 503, 504, 506, 598
- procesos de, no radiactivos en NMR, 503
- Relleno de fase inversa, 829, 836
- Reloj de precisión, 85
- Rendija de entrada del monocromador, 180, 181, 185, 187-189, 197, 261
- Rendimiento del cuanto, 404, 408, 423 (*véase también* Eficiencia del cuanto)
- Repetición
 - de análisis, 19
 - de mediciones, 967, 970, 973, 979
- Residuos en análisis de mínimos cuadrados, 12, 99, 100, 388
- Resistencia interna del electrodo de vidrio, 30, 31, 55, 57, 62, 66, 67, 71, 124, 649, 655, 684
- Resistencia, 26
 - en divisor de voltaje, 28
 - en paralelo, 29
 - en serie, 27
- Resistores estándar, 31, 32, 706
- Resolución atómica, 617
- Resolución del espectro, 188, 360
- Resolución espacial
 - de microsonda láser en espectrometría de masas, 604
 - de técnicas analíticas, 625
 - elevada en espectroscopía Auger, 599
 - en espectrometría de masas, 294
 - en microscopio de barrido electrónico, 611
- Resonancia del ciclotrón iónico, 571-572
- Resonancia magnética nuclear de alta resolución, 509-510
- espectrómetros, 498, 515, 521
- Resonancias, de plasmón de superficie, 590, 604, 605, 733
- Respuesta del instrumento, 6, 11, 15, 16, 248
- Restrictor en extracción de fluidos supercríticos, 863
- Restrictor, 821, 857, 858, 863, 864
 - en columna de cromatografía de líquido, 821
 - en cromatografía de fluidos supercríticos, 857, 858
- Retardo cero del interferómetro, 211, 440, 441

- Retícula, 179-181, 184-187, 189
 cóncava, 184, 261, 262, 359
 de escalera, 186
 de escalerilla, 183, 184, 186
 en monocromadores, 181, 182, 184,
 185, 188, 189, 260, 359, 360,
 413, 415, 438, 476, 825
 holográfica, 184
 instrumentos con, 358, 440, 474,
 476, 477
 matriz, 182, 183
 ultravioleta, 182
- Retrodispersión de Rutherford, 603-
 604
- Robótica, 943, 945
- Ruido, 126
 efecto del, en los análisis
 espectrofotométricos, 343-
 346
 eléctrico, 6, 662
 explosión de, 111-1 12, 115, 191,
 206, 344
 origen del, en análisis instrumental,
 111
 químico, 111, 582
 señales y, 110
- Ruido instrumental, 111
 ambiental, 81, 111, 113, 204
 blanco, 112
 de Johnson, 111-112, 344-345
 efecto en el análisis
 espectrofotométrico, 343-
 345
 fluctuante, 112, 113, 115, 206
- Ruido térmico, 111, 112, 191,
 201, 451, 452, 795
- Saturación de los estados de energía,
 en NMR, 503-504, 520
- Sedimentación en fraccionamiento
 del campo de flujo, 885, 886
- Sedimentación gravitacional, 960
- Sedimentación por centrifugación,
 960, 961
- Segmentos en serie, 265
- Seguidor de corriente, 63, 64, 66, 67, 75
- Seguidor de voltaje, 62, 63, 65, 67, 71,
 114, 684
- Selección de la longitud de onda, 351,
 357, 411
 con filtros, 176
 con rayos X, 325
- en espectrometría de fluorescencia,
 413
 filtros, 879
- Selectores de longitud de onda, 164-
 166, 175-177, 179, 181, 183,
 185, 187, 189, 487
 en absorción atómica, 237
 en luminiscencia molecular, 418
 en Raman, 487
 en UV-visible, 348
- Semicelda, 630, 635-640, 645, 649,
 659, 660
 potenciales de la, 639, 642, 644,
 646, 659
 reacciones de, 630, 631, 635, 640,
 641, 648, 649 (*véase también*
 Semirreacciones)
- Semiciclo, 116, 117, 243, 271, 272
- Semiconductores, 26, 31, 43-47, 168,
 173, 174, 191-193, 198-201,
 276, 451, 452, 592, 597, 604,
 607, 683, 719
- Semionda
 potencial de, 722, 727-730, 746, 749
 rectificador de la, 50
- Semirreacción, 635-646
- Sensibilidad analítica, 19, 20
- Sensor Clark de oxígeno, 732
- Sensor de gases
 en electroquímica, 677-679, 681
 en cromatografía para líquidos de
 alta resolución, 818, 819
 purga en análisis térmicos, 894,
 895, 903
- Sensor potenciométrico con luz
 dirigible, 683-684, 757-760
- Sensor, acomodo de,
 en el analizador i-STAT, 682
in vivo, 683
- Sensores, 9, 10, 417, 683
 de fibra óptica, 203
 de gas, 679
 de glucosa, 733
 potenciométricos
 fotodireccionables, 760
in vivo, 683
- Señal
 analítica, 20, 115, 117, 119
 cíclica de excitación en voltametría,
 737
 de baja frecuencia, 85
 medición de la, 85
- de fondo, 84, 89
 de flujo de calor, inversión, 901
 de nivel lógico, 7
 de rayo láser en el interferómetro,
 440
 digital, 81, 87, 93, 95
 dominio analógico, 6, 7
 eléctrica, 3, 5-7, 71, 164, 165, 191
 en el dominio de la frecuencia, 120,
 207, 499, 505, 508, 521, 541,
 572
 en escalera, 742, 744
 en instrumentos de rayos X, 313,
 317
 en instrumentos ópticos, 202
 forma de la, 84, 87
 fuente de, en voltametría, 718
 integración de la, en NMR, 525
 interferograma de la, 209, 210
 modulada, 115, 208, 240, 448
 muestreo de la señal con
 transformada de Fourier IR,
 440
 oscura, 365
 potencia de la, en espectroscopía
 en el dominio del tiempo,
 206, 208, 209
 procesadores de la, 348
 radiofrecuencia en espectrometría
 de masas de transformada de
 Fourier, 572
 sinusoidal, 74, 116, 117
- Señales en el dominio del tiempo, 7
 de alta frecuencia, 209
- Separación
 de aniones, 871, 875, 880
 de carga, 635
 de fase inversa, 829, 833, 835
 electrocromatográfica, 884
 en electroforesis, 867
 por intercambio de iones, 839, 875
 (*véase también*
 Cromatografía de iones)
 métodos de , 762
 quirál, 860, 883 (*véase también*
 Separaciones quirales)
- Separación de iones
 mediante cromatografía de iones,
 569, 839-844, 875
 mediante electroforesis capilar, 875
 mediante espectrometría de masas,
 566 -577

- Separación de la longitud de onda en monocromadores de trama, 181
- Separaciones cromatográficas, 762, 775, 831
- Separaciones de fases normales, 832, 835, 839
- Separaciones quirales preliminares, 861
- Separaciones quirales, 837, 883
- Separador en análisis por inyección en flujo, 934
- Separador en espectrometría de masas, 798
- Serie de transición de los actínidos, 370
- Sesgo en mediciones, 970, 984, 985
- Si tipo n , 196, 199, 316
- Sistema de detección de fluorescencia láser en la columna, 879
- Sistema de duplicación de la frecuencia para láser, 175
- Sistema de entrada en espectrometría de masas, 283, 563-565
- Sistema de iluminación de la muestra en espectroscopía Raman, 488
- Sistema entrada-salida para computadoras, 95
- Sistemas analíticos automatizados, 929, 930, 947
- Sistemas de análisis micro total, 929, 940
- Sistemas de dispersión de la longitud de onda, en fluorescencia de rayos X, 319
- Sistemas de electrodos de membrana tipos, 677
- Sistemas de electrodos selectivos de iones, 677-683
- Sistemas de entrada de la muestra en espectrometría de masas, 564
- Sistemas de inyección de la muestra en cromatografía de líquidos de alta resolución, 821
- Sistemas de inyección de muestra en cromatografía de gas, 791
- Sistemas de referencia de franjas láser, 440, 441
- Sistemas de tres niveles, 171, 172
- Sistemas dispersores de energía, 318, 319, 325
- Sistemas para organizar la información de laboratorio, 107, 127-130, 692, 930
- Smith-Hieftje, corrección de fondo de, 244
- Snell, ley de, 141-142
- Sobreposición, 136-138, 156, 173, 443 de transiciones de las vibraciones, 369, 373
- Sobretonos, 436, 473-474, 486
- Solución absorbente, 158 resistencia de la, 746, 869
- Solución amortiguadora en electroforesis capilar, 867, 868, 871, 872, 875 en isotacoforesis, 880 pH de la, 666, 685, 689, 690
- Solución interna en electrodo de referencia, 662 en electrodos indicadores, 668, 669, 675, 677-679
- Soluciones de pH de referencia patrón del NIST, 691
- Solventes orgánicos, efecto en absorción atómica, 248
- Sonda de muestra, 523 en NMR, 523
- Sondas para detectar gases, 677-680
- Soplete, plasma de acoplamiento inductivo, 255-257
- Spectronic 20, 357, 358
- Stern-Volmer, ecuación de, 408, 409
- Stokes corrimiento, en espectroscopía Raman, 484 diámetro de, 959, 960 ecuaciones de, 959
- Suavización de los datos, 92, 102, 117, 120, 122, 123, 414
- Suma de los cuadrados de los residuos, 99, 100, 390
- Superficie del cátodo, 146, 194
- Superficie fotoemisora, 191, 193
- Superficie funcionalizada, 721
- Superficies marcianas, 476, 917
- Superposición de ondas, 136
- Suspensiones para espectroscopía IR, 459
- Sustrato biosensor, 733 concentración del, 382
- de la enzima, 382, 425, 681
- de semiconductor, 48, 199 dispositivos de inyección de carga, 198
- transistores selectivos de iones con efecto de campo, 676
- en filtros holográficos, 179
- en microscopio de barrido electrónico, 753
- para columnas microfabricadas, 809
- Tamaño de partícula análisis de distribución del, 953-955 análisis del, 950 determinación del, 950-963 efecto del, en la altura del plato en cromatografía de gases, 775, 802 intervalo del, 954 mediciones del, 950, 958, 961
- Tamaños de muestra en análisis por inyección en flujo, 933 reproducibilidad del, en cromatografía de gases, 791
- Tartar Relation*, 624, 625
- Tasa de despolarización, 486-487 molar, 385-386
- Tasa de flujo de la fase móvil, 771-774, 778, 789, 790, 819, 821 electroosmótico, 870, 875 en análisis por inyección en flujo, 932, 934-936 en llamas, 231, 233 volumétrico, 766, 767, 790, 846
- Tasa de migración en cromatografía, 763 en electroforesis, 868, 869 relación con la constante de distribución, 767 variación de la, para mejorar el rendimiento de la columna, 775 y relación entre la diferencia de concentración y el coeficiente de difusión, 774
- Tasa de Faraday para espectrometría de masas, 285-287
- Técnica directa de inserción de la muestra, 227

- Técnicas de atomización de muestras en espectroscopía atómica, 230, 235
- Técnicas de generación de hidruros en espectroscopía atómica, 226
- Técnicas espectroscópicas de iones, 602-604
- Técnicas espectroscópicas de superficie, 591
- Técnicas superficiales espectroscópicas de iones, 604
- Técnicas voltamétricos clásicas, 716
- Temperatura
 - absoluta, 221, 222, 501, 957
 - compensación de, automática en medidores de iones, 685
 - crítica en cromatografía de fluidos supercríticos, 856
 - de transición vítrea, 904
 - medición de la, con amplificador operacional, 69
 - perfiles de
 - de la llama, 232
 - del horno de grafito, 234
- Tensoactivo en cromatografía electrocinética de micelas, 882
- Teoría de la espectrometría de absorción del IR, 431, 433, 435, 437, 438
- Teoría de la velocidad de la cromatografía, 768-772
- Termograma diferencial, 896, 898-900
- Termograma, 894, 896, 899-901
- Termopar constante, 70, 201
- Termopares, 67, 167, 201
 - como transductor de radiación, 201
 - como transductor en métodos térmicos, 896
 - como transductor IR, 452
- Testigo, 129, 964, 965
- Tetrametilsilano, 512-514
- Tiempo de respuesta, 112, 313
- Tiempo de retención ajustado, 768, 781
- Tiempo de subida, 65, 74, 112
- Tiempo de vuelo, espectrómetro de masas, 283, 290, 560, 569, 576, 828
- Tiempo muerto
 - cromatográfico, 766
 - de contadores, 315, 924
 - del tubo Geiger, 315
- Tiempos de retención, 766, 781, 808, 846
 - y constante de distribución, 767, 803
 - y resolución, 777
- Tiempos de vuelo en espectrometría de masas, 290, 569
- Titulación coulombimétrica para formar complejos, 709
- Titulaciones amperométricas, 59, 62, 63, 65, 114, 734-736
 - cantidades, 6, 7
 - pulsos, 81
 - señales, circuitos para procesar, 52
 - umbral de las, 7
 - señales, 6, 74, 81, 88, 197, 202
 - sistemas de exploración, 608
- Titulaciones coulombimétricas, aplicaciones de las, 709, 711
- Titulaciones por neutralización mediante coulombimetría, 709
- Titulaciones potenciométricas, 691-692
- Titulaciones, 11
 - amperométricas, 734, 735
 - fotométricas, 380
 - espectrofotométricas, 379, 380
- Transductor
 - elemento, en detectores en serie, 196-198, 262, 263, 265, 287
 - señales del, amplificación y mediciones de, 65, 67, 69, 70, 73
- Transductor de entrada, 5, 81, 111 (*véase también* Detector)
- Transductor piezoeléctrico, muestra, 618
- Transductores piroeléctricos, 201-202, 451
- Transductores, 5, 9, 10, 291
 - de fotodiodo de silicio, 194
 - de fotodiodos, 354
 - de fotones, 191, 192, 287
 - de multicanal, 196, 594
 - de semiconductor para rayos X, 313, 316
 - de salida, 6
 - electroquímicos en biosensores, 679
 - en serie, 285-287
 - fotodiodos para IR, 451
 - fotoeléctricos, 158, 191, 192, 204
 - ideales, 191, 201
 - para infrarrojo, 201, 209, 451-452
 - piezoeléctricos, 616
 - rellenos de gas, 313-315, 607
 - voltamétricos, 731
- Transferencia de electrones, cinética de la, lenta, 739, 745
 - proceso de la, 649, 664, 703, 737, 742, 746, 751
 - reacciones de, 632, 641, 723, 739, 741
- Transferencia de masas
 - en celdas electroquímicas, 633, 649
 - en cromatografía, 774, 830
 - tasa de, en celdas electroquímicas, 628, 774
- Transformada de Fourier
 - en espectrómetros Raman, 491
 - en NMR, 521, 529
 - espectrómetros de masas de, 571-573, 584, 604, 800
 - espectrómetros IR, 438, 439, 474, 476, 824
 - espectroscopía de, principios de la, 204-207, 209, 211
 - instrumentos de, en UV-visible, 259, 265, 266
 - mediciones en, 206, 499, 572
- Transición en el vidrio, 899, 901, 904
- Transiciones activas en el infrarrojo, principio de exclusión mutuo, 486
- Transiciones de la vibración, 149, 369, 373, 605
- Transiciones electrónicas
 - en el análisis con rayos X, 303, 305, 307, 309
 - en la espectroscopía atómica, 153, 219, 242, 243
 - en la espectroscopía IR, 431
 - en la espectroscopía UV-visible, 368, 369, 402, 405
 - propiedades de las, 151-153, 155
- Transiciones rotacionales, 432
- Transiciones sin radiación, 219, 404
- Transiciones térmicas en análisis termogravimétricos, 899
- Transiciones vibracionales-rotacionales, 432
- Transistores bipolares de unión, 46-49
- Transistores de efecto del campo, 46-48

- Transistores del emisor, 47, 48
- Transistores *npn*, 46-47
- Transistores, 46, 48
- Transmisión, 140, 177
 - de la radiación electromagnética, 132
- Transmitancia, 157
 - lectura de la, 358
 - medición de la, 158, 205, 336, 441
- Transporte de masas, mecanismos de, 651
- Tratamiento estadístico de errores aleatorios, 971-983
- Trazadores, 299, 909, 924
- Triton X-100, tensoactivo no iónico, 862
- Tubo de rayos catódicos, 51, 52, 608, 610, 612
- Tubos fotomultiplicadores, 194
- Tubos Geiger, 314, 315

- Unidad lógica aritmética, 91, 92
- Unidad para contar décadas, 85-87
- Unión de referencia del termopar, 201, 452
- Unión *pn*, 44-45, 47, 48, 50, 54, 197, 316
- Uniones líquidas, 630-631, 635, 659, 690
 - celdas sin, 631-632
- Uniones térmicas, 201, 452

- Valinomicina, ionóforo, 674, 675
- Valor medio, 967-969
- Van der Waals, interacciones de, 863
- Van't Hoff, ecuación de, 908
- Variación, coeficiente de, 972
- Varianza de la muestra, 972
- Varianza, 967, 972, 981, 982, 985
- Vectores
 - de impedancia, 39
 - del campo eléctrico, 133, 143
 - del momento magnético, 505
 - en NMR, 502
 - giratorios, 33
- Velocidad
 - en la migración electroforética, 870
- Velocidad de barrido, 260, 576, 612, 737, 739, 746, 754
- Velocidad de la fase móvil, 772, 773, 775
- Velocidad de radiación, 134, 141
- Velocidad de respuesta, 65, 76
- Velocidad inicial, 382, 383
- Velocidad lineal
 - de la fase móvil, 766, 771, 772, 774, 850
 - del soluto, 771
 - en cromatografía de fluidos supercríticos, 860
 - en cromatografía de líquidos, 850
- Ventaja de Fellgett, 206
- Vibraciones
 - de flexión, 433, 437, 438, 460, 476, 884
 - de frecuencia baja, efecto en sobre la intensidad de la fluorescencia, 406
 - de las moléculas, 432, 433, 435, 436
 - elásticas, 432
 - modelo mecánico de las, 433
- Vida media, 307, 912, 919-921
- Voltaje
 - de aceleración, 304, 310, 567, 568, 576
 - de carga, 62
 - de las líneas, 49-50
 - de radiofrecuencia, 289, 570
 - de referencia estable, 51, 53 (*véase también* Diodo Zener)
 - de ruptura Zener, 46
 - detención del, 144, 145
 - divisor de, 27, 28, 43, 701
 - en amplificadores, 114
 - en multímetros digitales, 31
 - estándar, 70, 71
 - falla de, 46, 50, 51
 - fuelle de, 30, 31, 62
 - instantáneo, 33, 36, 40
 - reguladores de, 50, 51
 - respuesta de etapa del seguidor de, 65
 - seguidor de, 62, 63, 65, 67, 71, 75
 - señal de, 83
 - sinusoidal ca, 37
 - uso en medidores de pH, 684
- Voltaje diferencial de entrada, 59, 62
- Voltaje máximo, 33, 39, 40
 - en métodos espectroscópicos de superficie, 590
 - en reflectancia atenuada total, 472
- Profundidad de penetración
- Voltimetría, 716-720, 722, 724, 726, 728-730, 732, 734, 736, 738, 740, 742, 744-748, 750-754, 756
 - aplicaciones de la, 746-748
 - cíclica, 737-739, 741, 742, 746, 753
 - de alta velocidad, 745
 - de onda cuadrada, 717, 742-744, 753
 - de pulso diferencial, 742, 743, 753
 - de pulsos, 742-743, 748
 - de redisolución adsorbtiva, 750
 - de transformada de Fourier, 745
 - hidrodinámica, 722-737
 - orgánica, 747
 - señal de excitación, 744
- Voltamogramas, 721, 722, 728-730
 - cíclicos, 738-742, 745, 754
 - con microelectrodo, 753
 - de anillo-disco, 737
 - de onda cuadrada, 743
 - de pulso diferencial, 743
 - de redisolución, 748
 - de transformada de Fourier, 745
 - ecuación para los, 728
 - efecto del pH en los, 747
 - para mezclas, 729
 - para sistemas reversibles, 736
- Voltímetro, 30, 32
 - digital, 30, 31
- Volumen de interacción, en
 - microscopio de barrido electrónico, 611, 612
- Volumen de la muestra, efecto sobre la dispersión en análisis por inyección de flujo, 936
- Volúmenes de detección en separaciones, 871, 872
- Volúmenes de retención, 788, 789

- Walls, acumulación de, 884-887
- Weston, celda de, 56, 78
- Word para computadoras, 91

- Zeeman, efecto, 220
 - corrección de fondo, 244
 - instrumentos, 243
- Zona de electroforesis, 880
- Zona de muestreo en análisis por inyección de flujo, 934, 937, 939
- Zwitterión, 880

PESOS ATÓMICOS INTERNACIONALES*

Nombre	Símbolo	Número atómico	Peso atómico	Nombre	Símbolo	Número atómico	Peso atómico
Actinio	Ac	89	[227]	Manganeso	Mn	25	54.938045(5)
Aluminio	Al	13	26.9815386(8)	Meitnerio	Mt	109	[268]
Americio	Am	95	[243]	Mendelevio	Md	101	[258]
Antimonio	Sb	51	121.760(1)	Mercurio	Hg	80	200.59(2)
Argón	Ar	18	39.948(1)	Molibdeno	Mo	42	95.94(2)
Arsenio	As	33	74.92160(2)	Neodimio	Nd	60	144.242(3)
Astatino	At	85	[210]	Neón	Ne	10	20.1797(6)
Azufre	S	16	32.065(5)	Neptunio	Np	93	[237]
Bario	Ba	56	137.327(7)	Níquel	Ni	28	58.6934(2)
Berquelio	Bk	97	[247]	Niobio	Nb	41	92.90638(2)
Berilio	Be	4	9.012182(3)	Nitrógeno	N	7	14.0067(2)
Bismuto	Bi	83	208.98040(1)	Nobelio	No	102	[259]
Bohrio	Bh	107	[264]	Oro	Au	79	196.966569(4)
Boro	B	5	10.811(7)	Osmio	Os	76	190.23(3)
Bromo	Br	35	79.904(1)	Oxígeno	O	8	15.9994(3)
Cadmio	Cd	48	112.411(8)	Paladio	Pd	46	106.42(1)
Calcio	Ca	20	40.078(4)	Plata	Ag	47	107.8682(2)
Californio	Cf	98	[251]	Platino	Pt	78	195.084(9)
Carbono	C	6	12.0107(8)	Plomo	Pb	82	207.2(1)
Cerio	Ce	58	140.116(1)	Plutonio	Pu	94	[244]
Cesio	Cs	55	132.9054519(2)	Polonio	Po	84	[209]
Circonio	Zr	40	91.224(2)	Potasio	K	19	39.0983(1)
Cloro	Cl	17	35.453(2)	Praseodimio	Pr	59	140.90765(2)
Cromo	Cr	24	51.9961(6)	Promecio	Pm	61	[145]
Cobalto	Co	27	58.933195(5)	Protactinio	Pa	91	231.03588(2)
Cobre	Cu	29	63.546(3)	Radio	Ra	88	[226]
Curio	Cm	96	[247]	Radón	Rn	86	[222]
Darmstadtio	Ds	110	[281]	Renio	Re	75	186.207(1)
Dubnio	Db	105	[262]	Rodio	Rh	45	102.90550(2)
Disprosio	Dy	66	162.500(1)	Roentgenio	Rg	111	[272]
Escandio	Sc	21	44.955912(6)	Rubidio	Rb	37	85.4678(3)
Einsteinio	Es	99	[252]	Rutenio	Ru	44	101.07(2)
Erbio	Er	68	167.259(3)	Rutherfordio	Rf	104	[261]
Estaño	Sn	50	118.710(7)	Samario	Sm	62	150.36(2)
Estroncio	Sr	38	87.62(1)	Seaborgio	Sg	106	[266]
Europio	Eu	63	151.964(1)	Selenio	Se	34	78.96(3)
Fermio	Fm	100	[257]	Silicio	Si	14	28.0855(3)
Fósforo	P	15	30.973762(2)	Sodio	Na	11	22.98976928(2)
Flúor	F	9	18.9984032(5)	Tántalo	Ta	73	180.94788(2)
Francio	Fr	87	[223]	Tecnecio	Tc	43	[98]
Gadolinio	Gd	64	157.25(3)	Teluro	Te	52	127.60(3)
Galio	Ga	31	69.723(1)	Terbio	Tb	65	158.92535(2)
Germanio	Ge	32	72.64(1)	Talio	Tl	81	204.3833(2)
Hafnio	Hf	72	178.49(2)	Torio	Th	90	232.03806(2)
Hassio	Hs	108	[277]	Tulio	Tm	69	168.93421(2)
Helio	He	2	4.002602(2)	Titanio	Ti	22	47.867(1)
Holmio	Ho	67	164.93032(2)	Tungsteno	W	74	183.84(1)
Hidrógeno	H	1	1.00794(7)	Unumbio	Uub	112	[285]
Hierro	Fe	26	55.845(2)	Ununhexio	Uuh	116	[291]
Indio	In	49	114.818(3)	Ununoctio	Uuo	118	[294]
Iterbio	Yb	70	173.04(3)	Ununpentio	Uup	115	[288]
Itrio	Y	39	88.90585(2)	Ununquadio	Uuq	114	[289]
Iridio	Ir	77	192.217(3)	Ununtrio	Uut	113	[284]
Kriptón	Kr	36	83.798(2)	Uranio	U	92	238.02891(3)
Lantano	La	57	138.90547(7)	Vanadio	V	23	50.9415(1)
Laurencio	Lr	103	[262]	Yodo	I	53	126.90447(3)
Litio	Li	3	[6.941(2)]	Xenón	Xe	54	131.293(6)
Lutecio	Lu	71	174.967(1)	Zinc	Zn	30	65.409(4)
Magnesio	Mg	12	24.3050(6)				

*Son valores de 2005 de acuerdo con el sitio de la IUPAC en <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/AtWt/>.

Los números entre paréntesis indican la incertidumbre en el último dígito de los pesos atómicos. Los valores encerrados en corchetes, por ejemplo [209], indican el número de masa del isótopo del elemento con vida más larga. Tres de tales elementos, Th, Pa y U, sí tienen una composición isotópica terrestre característica, y para estos elementos se tabula un peso atómico. Para consultar un análisis detallado de los valores de esta tabla refiérase a *Chem. Int.*, nov/dic de 2005.

CONSTANTES FÍSICAS IMPORTANTES

Constante	Símbolo	Valor
Velocidad de la luz (<i>en el vacío</i>)	c	$2.99792 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$
Constante de Planck	h	$6.62607 \times 10^{-34} \text{ J s}$
Número de Avogadro	N	$6.022141 \times 10^{23} \text{ partículas mol}^{-1}$
Constante de Faraday	F	$96485.34 \text{ C mol}^{-1}$
Constante de los gases	R	$8.31447 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
Constante de Boltzmann	k	$0.0820578 \text{ L atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
Peso del electrón en reposo	m_e	$1.38065 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$
Carga electrónica	e	$9.10938 \times 10^{-31} \text{ kg}$
		$1.602177 \times 10^{-19} \text{ C}$

FACTORES DE CONVERSIÓN DE ENERGÍA

	Joules	Ergs	Calorías	Atmósfera litro	Electrón-volt
1 joule =	1	10^7	2.3901×10^{-1}	9.8692×10^{-3}	6.2415×10^{18}
1 erg =	10^{-7}	1	2.3901×10^{-8}	9.8692×10^{-10}	6.2415×10^{11}
1 caloría =	4.1840	4.1840×10^7	1	4.1293×10^{-2}	2.6114×10^{19}
1 atmósfera litro =	1.0133×10^2	1.0133×10^9	24.217	1	6.3242×10^{20}
1 electrón-volt =	1.6022×10^{-19}	1.6022×10^{-12}	3.8293×10^{-20}	1.5812×10^{-21}	1

FACTORES DE CONVERSIÓN Y RELACIONES ÚTILES

Longitud	Masa
Unidad del SI: (m) 1 kilómetro = 1000 metros = 0.62137 metros 1 metro = 100 centímetros 1 centímetro = 10 milímetros 1 nanómetro = 1×10^{-9} metro 1 picómetro = 1×10^{-12} metro 1 pulgada = 2.54 centímetros (exactamente) 1 angstrom = 1×10^{-10} metro	Unidad del SI: kilogramo (kg) 1 kilogramo = 1000 gramos 1 gramo = 1000 miligramos 1 libra = 453.59237 gramos = 16 onzas 1 tonelada = 2000 libras
Volumen	Presión
Unidad del SI: metro cúbico (m³) 1 litro (L) = 1×10^{-3} m³ = 1000 cm³ = 1.056688 cuarto de galón 1 galón = 4 cuartos de galón	Unidad del SI: pascal (Pa) 1 pascal = 1 N/m² = 1 kg/m · s² 1 atmósfera = 101.325 kilopascals = 760 mmHg = 760 torr = 14.70 lb/pulg²
Energía	Temperatura
Unidad del SI: joule(J) 1 joule = 1 kg m²/s² = 0.23901 calorías = 1 C × 1 V 1 caloría = 4.184 joules	Unidad del SI: kelvin (K) $T(K) = T(^{\circ}\text{C})(1\text{ K}/^{\circ}\text{C}) + 273.15\text{ K}$ $T(^{\circ}\text{C}) = (5^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{F})[T(^{\circ}\text{F}) - 32^{\circ}\text{F}]$ $T(^{\circ}\text{F}) = (9^{\circ}\text{F}/5^{\circ}\text{C})T(^{\circ}\text{C}) + 32^{\circ}\text{F}$

SÍMBOLOS PARA MAGNITUDES FÍSICAS Y QUÍMICAS COMUNES

<i>A</i>	absorbancia, área	<i>S/N</i>	relación señal-ruido
<i>a</i>	absortividad, actividad	<i>T</i>	transmitancia, temperatura
<i>B</i>	fuerza del campo magnético	<i>t</i>	tiempo
<i>C</i>	capacitancia	<i>V</i>	voltaje cd, volumen
<i>D</i>	coeficiente de difusión	<i>v</i>	voltaje ca, velocidad
<i>d</i>	diámetro, separación	<i>X</i>	reactancia
<i>E</i>	potencial eléctrico, energía	$\bar{x}$	media de la muestra
<i>e⁻</i>	electrón	<i>Z</i>	impedancia
<i>F</i>	faraday		
<i>f</i>	frecuencia		
<i>G</i>	conductancia, energía libre		
<i>H</i>	entalpía	η	viscosidad (letra griega eta)
<i>I</i>	corriente directa, cd	γ	coeficiente de actividad (letra griega gamma)
<i>i</i>	corriente alterna, ca	ε	absortividad molar (letra griega épsilon)
<i>K</i>	constante de equilibrio	λ	longitud de onda (letra griega lambda)
<i>L</i>	inductancia	μ	media poblacional (letra griega mu)
<i>n</i>	número de moles, índice de refracción	ν	frecuencia (nu)
n	orden espectral	$\bar{\nu}$	número de onda
<i>P</i>	potencia radiante o eléctrica	ρ	densidad (letra griega rho)
<i>Q</i>	cantidad de carga cd	σ	desviación estándar de la población (letra griega sigma)
<i>q</i>	cantidad de carga ca	τ	periodo, constante de tiempo (letra griega tau)
<i>R</i>	resistencia eléctrica, constante de los gases	ϕ	ángulo de fase (letra griega fi)
<i>s</i>	desviación estándar de la muestra	ω	velocidad angular (letra griega omega)

ESPECTRO VISIBLE

Región de la longitud de onda, nm	Color	Color complementario
400–435	Violeta	Amarillo-verde
435–480	Azul	Amarillo
480–500	Azul-verde	Rojo
500–560	Verde	Púrpura
560–580	Amarillo-verde	Violeta
580–595	Amarillo	Azul
595–650	Anaranjado	Verde-azul
650–750	Rojo	Azul-verde

SÍMBOLOS DE LAS UNIDADES

A	ampere	Hz	hertz
Å	angstrom	J	joule
atm	atmósfera	K	kelvin
C	coulomb	L	litro
°C	grado Celsius	M	mol/litro
°	grado angular	m	metro
eV	electrón-volt	min	minuto
F	farad	s	segundo
G	gauss	T	tesla
g	gramo	V	volt
h	hora	W	watt
		Ω	ohm (letra griega omega)

PREFIJOS

Prefijo	Símbolo	Factor
atto	a	10^{-18}
femto	f	10^{-15}
pico	p	10^{-12}
nano	n	10^{-9}
micro	μ	10^{-6}
mili	m	10^{-3}
centi	c	10^{-2}
deci	d	10^{-1}
kilo	k	10^3
mega	M	10^6
giga	G	10^9
tera	T	10^{12}

PESOS ATÓMICOS INTERNACIONALES*

Nombre	Símbolo	Número atómico	Peso atómico	Nombre	Símbolo	Número atómico	Peso atómico
Actinio	Ac	89	[227]	Manganeso	Mn	25	54.938045(5)
Aluminio	Al	13	26.9815386(8)	Meitnerio	Mt	109	[268]
Americio	Am	95	[243]	Mendelevio	Md	101	[258]
Antimonio	Sb	51	121.760(1)	Mercurio	Hg	80	200.59(2)
Argón	Ar	18	39.948(1)	Molibdeno	Mo	42	95.94(2)
Arsenio	As	33	74.92160(2)	Neodimio	Nd	60	144.242(3)
Astatino	At	85	[210]	Neón	Ne	10	20.1797(6)
Azufre	S	16	32.065(5)	Neptunio	Np	93	[237]
Bario	Ba	56	137.327(7)	Níquel	Ni	28	58.6934(2)
Berquelio	Bk	97	[247]	Niobio	Nb	41	92.90638(2)
Berilio	Be	4	9.012182(3)	Nitrógeno	N	7	14.0067(2)
Bismuto	Bi	83	208.98040(1)	Nobelio	No	102	[259]
Bohrio	Bh	107	[264]	Oro	Au	79	196.966569(4)
Boro	B	5	10.811(7)	Osmio	Os	76	190.23(3)
Bromo	Br	35	79.904(1)	Oxígeno	O	8	15.9994(3)
Cadmio	Cd	48	112.411(8)	Paladio	Pd	46	106.42(1)
Calcio	Ca	20	40.078(4)	Plata	Ag	47	107.8682(2)
Californio	Cf	98	[251]	Platino	Pt	78	195.084(9)
Carbono	C	6	12.0107(8)	Plomo	Pb	82	207.2(1)
Cerio	Ce	58	140.116(1)	Plutonio	Pu	94	[244]
Cesio	Cs	55	132.9054519(2)	Polonio	Po	84	[209]
Circonio	Zr	40	91.224(2)	Potasio	K	19	39.0983(1)
Cloro	Cl	17	35.453(2)	Praseodimio	Pr	59	140.90765(2)
Cromo	Cr	24	51.9961(6)	Promecio	Pm	61	[145]
Cobalto	Co	27	58.933195(5)	Protactinio	Pa	91	231.03588(2)
Cobre	Cu	29	63.546(3)	Radio	Ra	88	[226]
Curio	Cm	96	[247]	Radón	Rn	86	[222]
Darmstadtio	Ds	110	[281]	Renio	Re	75	186.207(1)
Dubnio	Db	105	[262]	Rodio	Rh	45	102.90550(2)
Disprosio	Dy	66	162.500(1)	Roentgenio	Rg	111	[272]
Escandio	Sc	21	44.955912(6)	Rubidio	Rb	37	85.4678(3)
Einsteinio	Es	99	[252]	Rutenio	Ru	44	101.07(2)
Erbio	Er	68	167.259(3)	Rutherfordio	Rf	104	[261]
Estaño	Sn	50	118.710(7)	Samario	Sm	62	150.36(2)
Estroncio	Sr	38	87.62(1)	Seaborgio	Sg	106	[266]
Europio	Eu	63	151.964(1)	Selenio	Se	34	78.96(3)
Fermio	Fm	100	[257]	Silicio	Si	14	28.0855(3)
Fósforo	P	15	30.973762(2)	Sodio	Na	11	22.98976928(2)
Flúor	F	9	18.9984032(5)	Tántalo	Ta	73	180.94788(2)
Francio	Fr	87	[223]	Tecnecio	Tc	43	[98]
Gadolinio	Gd	64	157.25(3)	Teluro	Te	52	127.60(3)
Galio	Ga	31	69.723(1)	Terbio	Tb	65	158.92535(2)
Germanio	Ge	32	72.64(1)	Talio	Tl	81	204.3833(2)
Hafnio	Hf	72	178.49(2)	Torio	Th	90	232.03806(2)
Hassio	Hs	108	[277]	Tulio	Tm	69	168.93421(2)
Helio	He	2	4.002602(2)	Titania	Ti	22	47.867(1)
Holmio	Ho	67	164.93032(2)	Tungsteno	W	74	183.84(1)
Hidrógeno	H	1	1.00794(7)	Unumbio	Uub	112	[285]
Hierro	Fe	26	55.845(2)	Ununhexio	Uuh	116	[291]
Indio	In	49	114.818(3)	Ununoctio	Uuo	118	[294]
Iterbio	Yb	70	173.04(3)	Ununpentio	Uup	115	[288]
Itrio	Y	39	88.90585(2)	Ununquadio	Uuq	114	[289]
Iridio	Ir	77	192.217(3)	Ununtrio	Uut	113	[284]
Kriptón	Kr	36	83.798(2)	Uranio	U	92	238.02891(3)
Lantano	La	57	138.90547(7)	Vanadio	V	23	50.9415(1)
Laurencio	Lr	103	[262]	Yodo	I	53	126.90447(3)
Litio	Li	3	[6.941(2)]	Xenón	Xe	54	131.293(6)
Lutecio	Lu	71	174.967(1)	Zinc	Zn	30	65.409(4)
Magnesio	Mg	12	24.3050(6)				

*Son valores de 2005 de acuerdo con el sitio de la IUPAC en <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/AtWt/>.

Los números entre paréntesis indican la incertidumbre en el último dígito de los pesos atómicos. Los valores encerrados en corchetes, por ejemplo [209], indican el número de masa del isótopo del elemento con vida más larga. Tres de tales elementos, Th, Pa y U, sí tienen una composición isotópica terrestre característica, y para estos elementos se tabula un peso atómico. Para consultar un análisis detallado de los valores de esta tabla refiérase a *Chem. Int.*, nov/dic de 2005.

CONSTANTES FÍSICAS IMPORTANTES

Constante	Símbolo	Valor
Velocidad de la luz (<i>en el vacío</i>)	c	$2.99792 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$
Constante de Planck	h	$6.62607 \times 10^{-34} \text{ J s}$
Número de Avogadro	N	$6.022141 \times 10^{23} \text{ partículas mol}^{-1}$
Constante de Faraday	F	$96485.34 \text{ C mol}^{-1}$
Constante de los gases	R	$8.31447 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
Constante de Boltzmann	k	$0.0820578 \text{ L atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
Peso del electrón en reposo	m_e	$1.38065 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$
Carga electrónica	e	$9.10938 \times 10^{-31} \text{ kg}$
		$1.602177 \times 10^{-19} \text{ C}$

FACTORES DE CONVERSIÓN DE ENERGÍA

	Joules	Ergs	Calorías	Atmósfera litro	Electrón-volt
1 joule =	1	10^7	2.3901×10^{-1}	9.8692×10^{-3}	6.2415×10^{18}
1 erg =	10^{-7}	1	2.3901×10^{-8}	9.8692×10^{-10}	6.2415×10^{11}
1 caloría =	4.1840	4.1840×10^7	1	4.1293×10^{-2}	2.6114×10^{19}
1 atmósfera litro =	1.0133×10^2	1.0133×10^9	24.217	1	6.3242×10^{20}
1 electrón-volt =	1.6022×10^{-19}	1.6022×10^{-12}	3.8293×10^{-20}	1.5812×10^{-21}	1

FACTORES DE CONVERSIÓN Y RELACIONES ÚTILES

Longitud	Masa
Unidad del SI (m) 1 kilómetro = 1000 metros = 0.62137 metros 1 metro = 100 centímetros 1 centímetro = 10 milímetros 1 nanómetro = 1×10^{-9} metro 1 picómetro = 1×10^{-12} metro 1 pulgada = 2.54 centímetros (exactamente) 1 angstrom = 1×10^{-10} metro	Unidad del SI: kilogramo (kg) 1 kilogramo = 1000 gramos 1 gramo = 1000 miligramos 1 libra = 453.59237 gramos = 16 onzas 1 tonelada = 2000 libras
Volumen	Presión
Unidad del SI: metro cúbico (m³) 1 litro (L) = 1×10^{-3} m³ = 1000 cm³ = 1.056688 cuarto de galón 1 galón = 4 cuartos de galón	Unidad del SI: pascal (Pa) 1 pascal = 1 N/m² = 1 kg/m · s² 1 atmósfera = 101.325 kilopascales = 760 mmHg = 760 torr = 14.70 lb/pulg²
Energía	Temperatura
Unidad del SI: joule(J) 1 joule = 1 kg m²/s² = 0.23901 calorías = 1 C × 1 V 1 caloría = 4.184 joules	Unidad del SI: kelvin (K) $T(K) = T(^{\circ}\text{C})(1\text{ K}/^{\circ}\text{C}) + 273.15\text{ K}$ $T(^{\circ}\text{C}) = (5^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{F})[T(^{\circ}\text{F}) - 32^{\circ}\text{F}]$ $T(^{\circ}\text{F}) = (9^{\circ}\text{F}/5^{\circ}\text{C})T(^{\circ}\text{C}) + 32^{\circ}\text{F}$

SÍMBOLOS PARA MAGNITUDES FÍSICAS Y QUÍMICAS COMUNES

<i>A</i>	absorbancia, área	<i>S/N</i>	relación señal-ruido
<i>a</i>	absortividad, actividad	<i>T</i>	transmitancia, temperatura
<i>B</i>	fuerza del campo magnético	<i>t</i>	tiempo
<i>C</i>	capacitancia	<i>V</i>	voltaje cd, volumen
<i>D</i>	coeficiente de difusión	<i>v</i>	voltaje ca, velocidad
<i>d</i>	diámetro, separación	<i>X</i>	reactancia
<i>E</i>	potencial eléctrico, energía	$\bar{x}$	media de la muestra
<i>e⁻</i>	electrón	<i>Z</i>	impedancia
<i>F</i>	faraday		
<i>f</i>	frecuencia		
<i>G</i>	conductancia, energía libre		
<i>H</i>	entalpía	η	viscosidad (letra griega eta)
<i>I</i>	corriente directa, cd	γ	coeficiente de actividad (letra griega gamma)
<i>i</i>	corriente alterna, ca	ε	absortividad molar (letra griega épsilon)
<i>K</i>	constante de equilibrio	λ	longitud de onda (letra griega lambda)
<i>L</i>	inductancia	μ	media poblacional (letra griega mu)
<i>n</i>	número de moles, índice de refracción	ν	frecuencia (nu)
n	orden espectral	$\bar{\nu}$	número de onda
<i>P</i>	potencia radiante o eléctrica	ρ	densidad (letra griega rho)
<i>Q</i>	cantidad de carga cd	σ	desviación estándar de la población (letra griega sigma)
<i>q</i>	cantidad de carga ca	τ	periodo, constante de tiempo (letra griega tau)
<i>R</i>	resistencia eléctrica, constante de los gases	ϕ	ángulo de fase (letra griega fi)
<i>s</i>	desviación estándar de la muestra	ω	velocidad angular (letra griega omega)

ESPECTRO VISIBLE

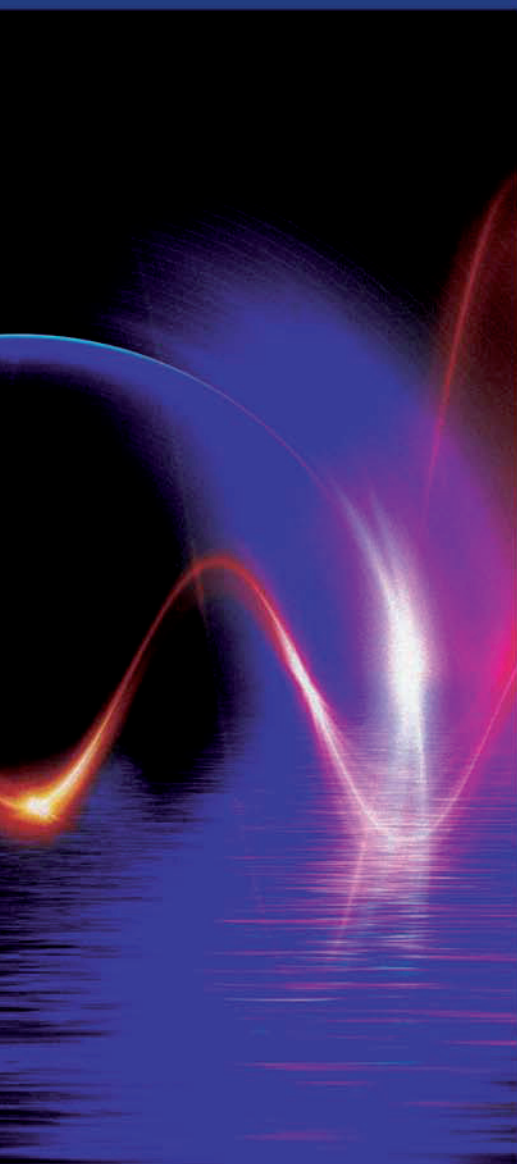
Región de la longitud de onda, nm	Color	Color complementario
400–435	Violeta	Amarillo-verde
435–480	Azul	Amarillo
480–500	Azul-verde	Rojo
500–560	Verde	Púrpura
560–580	Amarillo-verde	Violeta
580–595	Amarillo	Azul
595–650	Anaranjado	Verde-azul
650–750	Rojo	Azul-verde

SÍMBOLOS DE LAS UNIDADES

A	ampere	Hz	hertz
Å	angstrom	J	joule
atm	atmósfera	K	kelvin
C	coulomb	L	litro
°C	grado Celsius	M	mol/litro
°	grado angular	m	metro
eV	electrón-volt	min	minuto
F	farad	s	segundo
G	gauss	T	tesla
g	gramo	V	volt
h	hora	W	watt
		Ω	ohm (letra griega omega)

PREFIJOS

Prefijo	Símbolo	Factor
atto	a	10^{-18}
femto	f	10^{-15}
pico	p	10^{-12}
nano	n	10^{-9}
micro	μ	10^{-6}
mili	m	10^{-3}
centi	c	10^{-2}
deci	d	10^{-1}
kilo	k	10^3
mega	M	10^6
giga	G	10^9
tera	T	10^{12}



El libro que tiene usted en sus manos es la nueva edición de la ya conocida obra de Skoog/Holler/Crouch, escrita con un estilo claro que ayuda al estudiante a entender la impresionante variedad de poderosas y elegantes herramientas para reunir información cualitativa y cuantitativa sobre la composición y estructura de la materia y cómo puede ser usada para resolver problemas analíticos en química.

Características

- A lo largo del texto se encuentran artículos que muestran la relevancia del Análisis Instrumental en el mundo real.
- Al final de cada capítulo se acompaña de preguntas y problemas que ayudan al estudiante a entender y aplicar los principales métodos de análisis instrumental.
- Contiene problemas basados en hojas de cálculo, para promover el uso de las modernas herramientas de software para análisis estadístico, procesamiento de datos y presentaciones gráficas.
- Se apoya en un sitio web que contiene archivos de análisis de datos en Excel y simulaciones de técnicas analíticas, para ayudar a la visualización de los conceptos.

Estas son sólo algunas de las características que lo han distinguido en sus ediciones previas y nuevamente lo hacen en esta sexta edición, por lo que no dudamos que será su texto de cabecera.

