
Química Analítica Instrumental I
Precisión en espectrofotometría.
Documento de apoyo.
Dr. Alejandro Baeza. Semestre 2007-I

1.0 Fuentes de desviación causal a la ley de Lambert-Beer-Bouger

La linealidad de la ley límite que relaciona el pT o absorbancia con la concentración, $pT = A = \epsilon l [i]$, puede perderse si las causas que garantizan dicha linealidad no se cumplen a presión y temperatura constantes:

- a) falta de monocromaticidad
- b) disoluciones concentradas
- c) variaciones en el índice de refracción.
- d) Aplicar correctamente concentraciones analíticas, C_0 , y concentraciones molares efectivas, $[i]$, de la especie absorbente:

$$pT = A = \epsilon_i l [i]$$
$$pT = A = \epsilon_i l \Phi_i C_0$$

Es muy importante trabajar en condiciones de amortiguamiento simple o múltiple para asegurar que el valor Φ_i es constante y efectuar las diluciones necesarias con dichos amortiguadores y no solo con agua pura, de esta manera también se garantiza que el índice de refracción permanezca controlado.

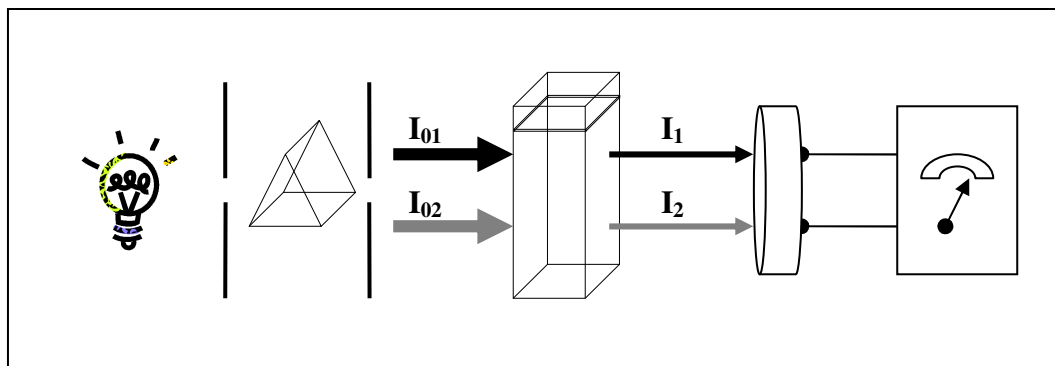
2.0 Fuentes de desviación casual a la ley de Lambert-Beer-Bouger.

La linealidad de la relación $pT = A = \epsilon l [i]$ se pierde por variaciones aleatorias asociadas a la instrumentación y la lectura de absorbancia en los fotocolorímetros y espectrofotómetros usados. A continuación se mencionan las posibles causas de desviación a la ley de Lambert-Beer-Bouger en cada elemento instrumental.

- a) **A nivel de fuente de luz:**
 - lámparas fundidas o gastadas.
 - lámparas inadecuadas.
 - paso óptico bloqueado.
 - variaciones altas de voltaje

b) A nivel del sistema dispersivo:

Para demostrar que la falta de monocromaticidad se consideran dos haces de luz de diferente longitud de onda λ_1 y λ_2 y de intensidades incidentes I_{01} y I_{02} a una celda de longitud de paso óptico l y de concentración molar efectiva de absorbente $[i]$. A la fotocelda llegan sendos haces de luz no absorbidos I_1 y I_2 :



La absorbancia aparente o A' o pT' esta dada por:

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{I_1 + I_2}{I_{01} + I_{02}} \right]$$

Ya que la relación entre T y $[i]$ es:

$$T_i = \frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon l [i]}$$

La función $A = f([i])$ queda entonces:

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{I_{01} 10^{-\epsilon_1 l [i]} + I_{02} 10^{-\epsilon_2 l [i]}}{I_{01} + I_{02}} \right]$$

La función anterior es exponencial. Si se cumple la condición de monocromaticidad, el ancho de banda $\Delta\lambda = 0$ y entonces:

$$\begin{aligned} \lambda_1 &= \lambda_2 \\ \Delta\lambda &= \lambda_2 - \lambda_1 = 0 \\ I_{01} &= I_{02} \\ I_1 &= I_2 \\ \varepsilon_1 &= \varepsilon_2 \end{aligned}$$

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{I_0 10^{-\varepsilon l [i]} + I_0 10^{-\varepsilon l [i]}}{I_0 + I_0} \right] = -\log \left[\frac{2I_0}{2I_0} (10^{-\varepsilon l [i]}) \right]$$

$$pT' = A' = -\log T' = -\log [10^{-\varepsilon l [i]}]$$

$$A = \varepsilon l [i]$$

Por lo tanto se cumple que:

$$\lim_{\Delta\lambda \rightarrow 0} A' = \varepsilon l [i]$$

En la medida en que el ancho de banda se acerque a cero se cumplirá la linealidad de la Ley de Lamber-Beer-Bouger.

c) A nivel de las celdas:

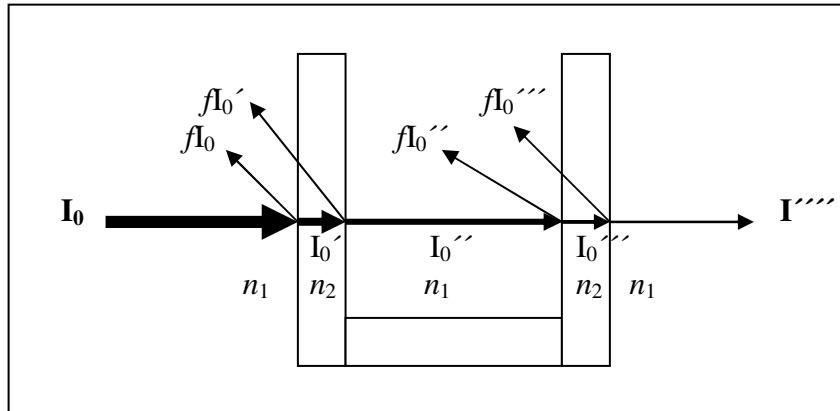
- material óptico inadecuado
- celdas mal colocadas
- celdas sucias
- absorción por reflexión de la luz incidente:

La presencia de una interfase óptica (separación de dos medios de índice de refracción diferente), genera que una fracción de luz incidente se refleje. Para demostrar la absorción aparente por reflexión se considera un haz de luz monocromático que cruza una celda vacía.

La fracción de luz reflejada depende de los índices refracción de los medios que forman la interfase óptica y viene dada por el cociente:

$$f = \frac{I_r}{I_0} = \frac{(n_2 - n_1)^2}{(n_2 + n_1)^2}$$

Las pérdidas de luz incidente por reflexión se dan en paso por cada interfase óptica:



La intensidad de luz detectada por la fotocelda es menor a I_0 :

$$\begin{aligned}
 I'''' &= (1 - f_{1-2}) I'' \\
 I'' &= (1 - f_{2-1}) I' \\
 I' &= (1 - f_{1-2}) I_0 \\
 I_0 &= (1 - f_{2-1}) I_0
 \end{aligned}$$

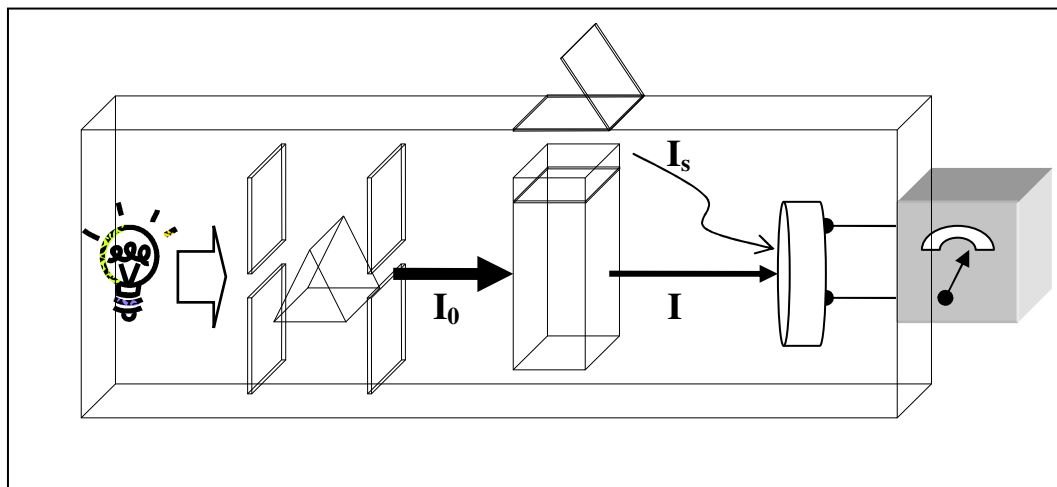
En este caso las fracciones reflejadas en el paso aire-celda (f_{2-1}) y en el paso celda-aire (f_{1-2}) tienen en mismo valor.

La absorbancia aparente, A' , observada al final esta dada por:

$$\begin{aligned}
 T' &= \frac{I''''}{I_0} = \frac{(1 - f)^4 I_0}{I_0} = (1 - f)^4 \\
 -\log T' &= pT' = A' = -4[\log(1 - f)]
 \end{aligned}$$

e) A nivel del fotodetector:

La principal causa de desviación a la linealidad de la Ley de Lambert-Beer-Bouger a nivel del fotodetector es la luz externa que se filtra, I_s , y se suma al haz de luz no absorbida.



La luz externa o “parásita” se reporta como una fracción de la luz incidente:

$$S = \frac{I_s}{I_0}$$

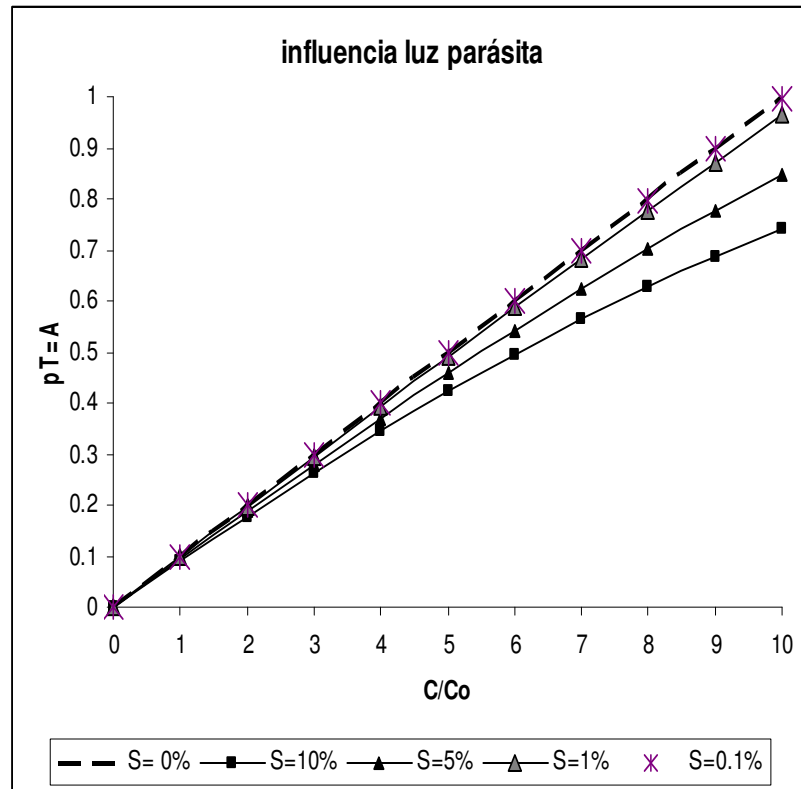
La absorbancia aparente, A' , observada al final esta dada por:

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{I + I_s}{I_0 + I_s} \right]$$

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{\frac{I}{I_0} + \frac{I_s}{I_0}}{\frac{I_0}{I_0} + \frac{I_s}{I_0}} \right]$$

$$pT' = A' = -\log T' = -\log \left[\frac{T + S}{1 + S} \right]$$

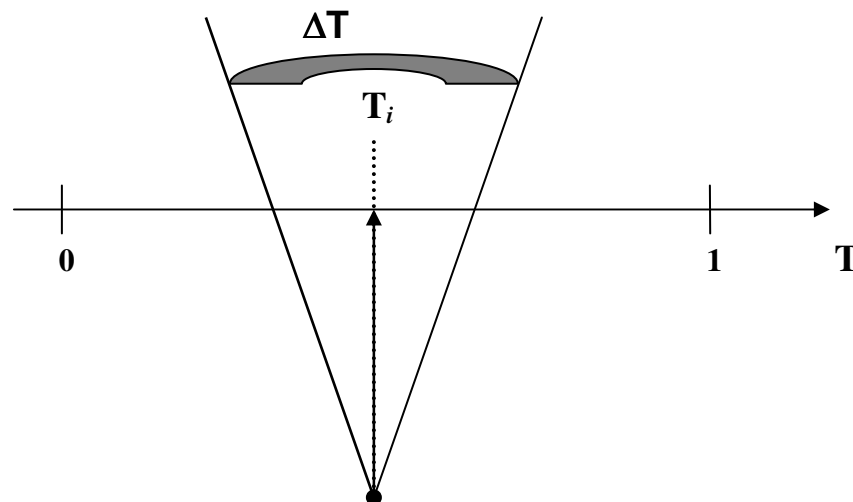
La figura siguiente muestra la influencia de diferentes porcentajes de luz parásita sobre una sustancia de absortividad molar igual a $\epsilon = 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ y de concentración $C_0 = [i] = 10^{-5} \text{ mol/L}$.



A medida que la concentración aumenta la luz no absorbida detectada es menor y se confunde con la intensidad de la luz parásita.

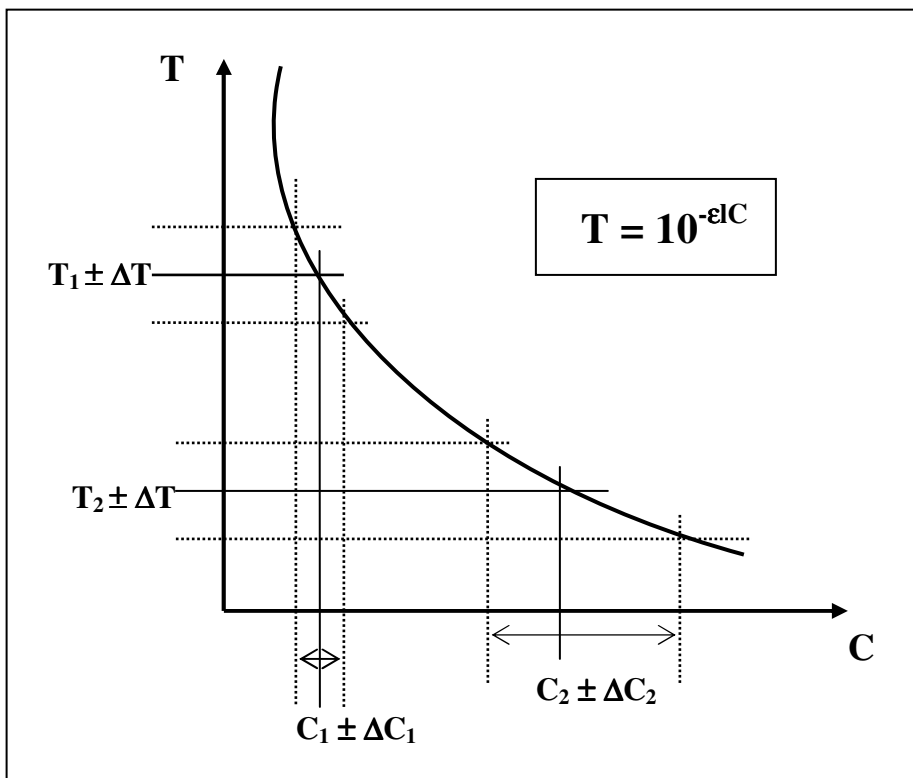
f) A nivel del sistema de medida.

Los sistemas de medida tienen asociada una incertidumbre. Una lectura de transmitancia de una *i*-ésima muestra:



Cada lectura de T_i tiene asociada una incertidumbre: $T_i \pm \Delta T$, que se refleja en una incertidumbre sobre la concentración asociada a dicha lectura de transmitancia:

$C_i \pm \Delta C$ El valor de ΔT esta determinado de origen en cada instrumento, sin embargo el valor de ΔC no es constante dada la relación exponencial entre T y C:



Para cada determinación de T y C es necesario evaluar el error relativo sobre la concentración ($\Delta C/C$). Para ello se resuelve la siguiente derivada:

$$\frac{dT}{dC} = \frac{d}{dC} [10^{-\epsilon l C}]$$

De la literatura se sabe que la resolución general para estas funciones es:

$$\frac{d(a^u)}{dx} = a^u \ln a \frac{du}{dx}$$

Para:

$$\begin{aligned} a &= 10 \\ u &= -\epsilon l C \\ x &= C \end{aligned}$$

La resolución y rearreglo de la derivada para obtener $(\Delta C/C) = f(T)$:

$$\frac{dT}{dC} = (10^{-\epsilon l c}) (\ln 10) (-\epsilon l C) = 2.3T(-\epsilon l)$$

$$\frac{dC}{dT} = \frac{0.43}{(T)(-\epsilon l)}$$

$$dC = \frac{0.43dT}{(T)(-\epsilon l)}$$

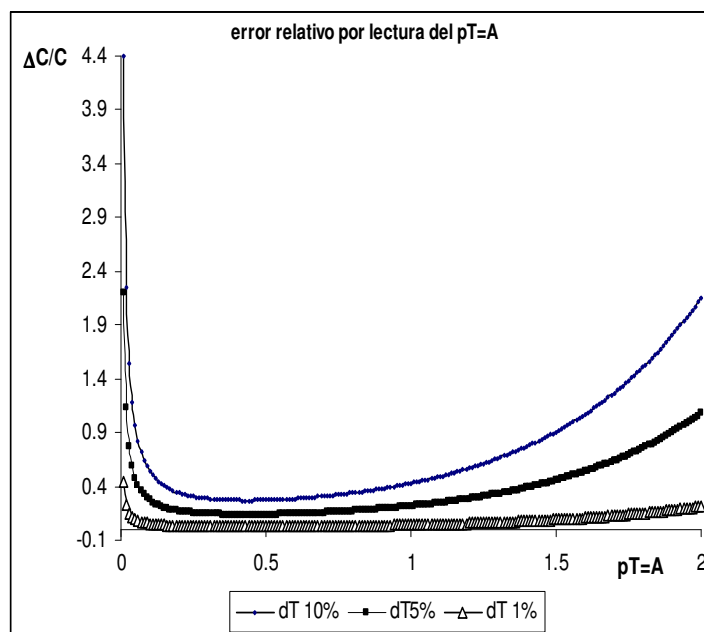
$$\frac{dC}{C} = \frac{0.43dT}{(T)(-\epsilon l C)}$$

$$\frac{dC}{C} = \frac{0.43dT}{T \log T}$$

Experimentalmente el error relativo esta dado en función de incrementos:

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{0.43\Delta T}{T \log T}$$

La siguiente figura muestra la variación porcentual del error relativo sobre la concentración en función del pT o absorbancia, A, determinada para diferentes valores de $\Delta T\%$.



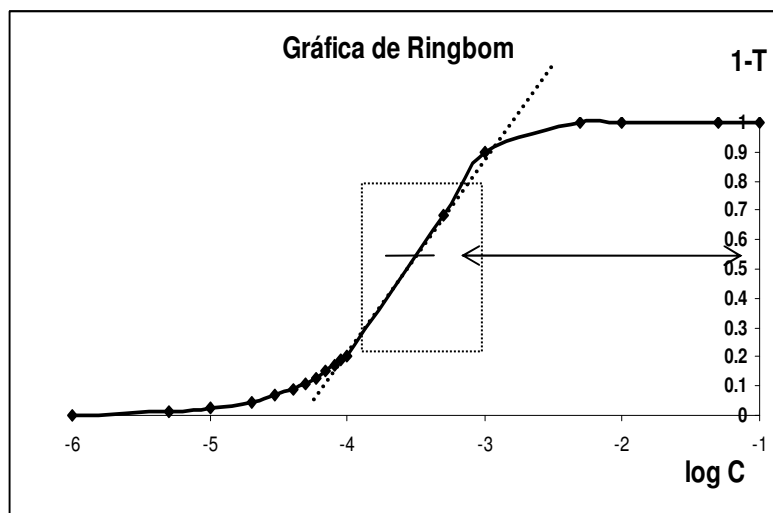
Se observa que el mayor error se encuentra para valores de absorbancias extremas, es decir para soluciones muy diluídas o muy concentradas y por supuesto para valores altos de $\Delta T\%$. Se observa que la función presenta un intervalo de valores de $pT=A$, y por tanto de concentraciones, con un error mínimo por lectura. Se puede demostrar que la función presenta un mínimo:

$$\lim_{A \rightarrow 0.4343} \left[\frac{\left(\frac{dC}{C} \right)}{dT} \right] = 0$$

Las muestras y estándares deben prepararse en un intervalo de concentraciones que caiga dentro del intervalo de mínimo error por lectura.

3.0 Gráficas de Ringbom.

Para determinar el intervalo de concentraciones adecuado para una curva de calibración $pT=A=f(C)$ con el menor error por lectura, se ha reportado el uso de las curvas de Ringbom (A. Ringbom, *Z. Anal.Chem.* **115**(1939)333), que consisten en la representación gráfica de la **absortancia, 1-T**, en función del **log C**.



La zona lineal corresponde al intervalo de concentraciones de mínimo error, $\Delta C/C$, por lectura y el punto de inflexión corresponde al valor de:

$$1-T=0.63; T = 0.37; pT = A = 0.43$$

que corresponde al valor de mínimo error.

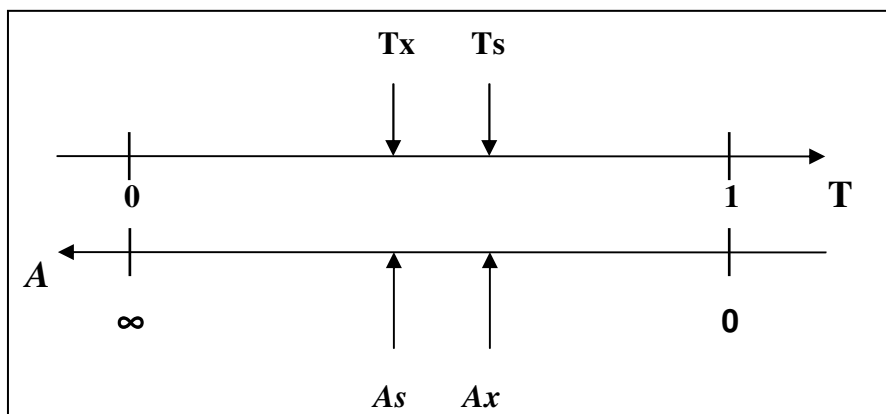
4.0 Ajustes ordinarios y diferenciales.

Ajustes ordinarios.

La determinación del pT o de la absorbancia A de un analito en solución requiere de dos ajustes ordinarios:

- 1) Ajuste a $T = 0$, $A = \infty$ (con bloqueo del paso óptico) para compensar luz parásita, I_s .
- 2) Ajuste a $T = 1$, $A = 0$, (con el medio de reacción o “blanco”) para compensar absorción del medio y pérdidas por reflexión.

Una vez ajustados ambos límites de la escala de T y de A , se determinan los valores de los estándares, T_s , y de la muestra, T_x , de concentración a medir, cuantificar o valorar, C_x .

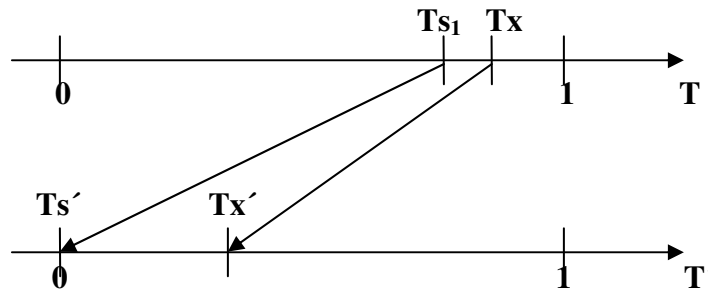


Ajustes diferenciales.

Cuando la concentración del analito es muy baja o muy alta su determinación por espectrofotometría conlleva un error relativo $\Delta C/C$ muy alto. Para evitar operaciones analíticas previas de concentración o de dilución, es posible modificar la lectura de T_x con reajustes de $T = 0$ y $T = 1$ efectuados con disoluciones estándar para ajustar la lectura de transmitancia de la muestra en un valor dentro del intervalo de mínimo error.

a) Ajuste diferencial para valores bajos de $pT = A$: *Método de bajas absorbancias.*

Si $C_x \downarrow$, $pT = Ax \downarrow$, $T_x \uparrow$, se ajusta $T = 1$ de manera ordinaria y $T = 0$ se reajusta con un estándar de C_{s1} un poco mayor que C_x . Una vez hecho este reajuste se vuelve a medir T_x en la escala *expandida*:



De esta manera se *expande* la escala en f . El factor de expansión es:

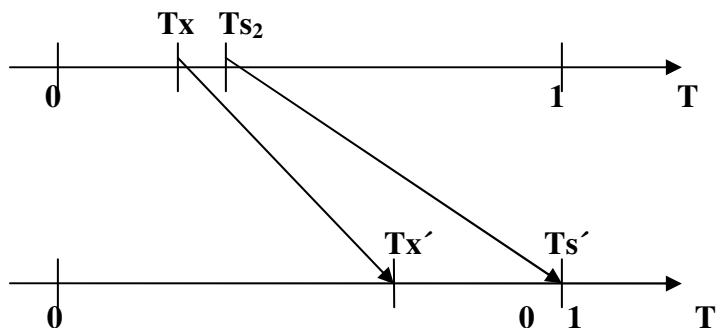
$$f = \frac{1}{1 - T_{s1}}$$

El valor de T_x' queda en la nueva escala:

$$T_x' = \frac{T_x - T_{s1}}{1 - T_{s1}}$$

b) Ajuste diferencial para valores altos de $pT = A$: *Método de altas absorbancias.*

Si $C_x \uparrow$, $pT = Ax \uparrow$, $T_x \downarrow$, se ajusta $T = 0$ de manera ordinaria y se reajusta $T = 1$ con un estándar de C_{s2} un poco mayor que C_x :



De esta manera se *expande* la escala en f . El factor de expansión es:

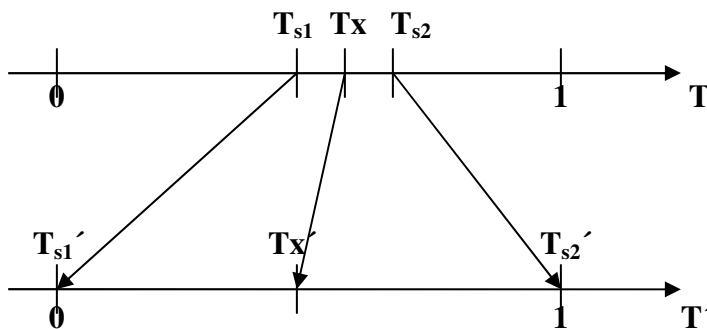
$$f = \frac{1}{T_{s2}}$$

El valor de $T_{x'}$ queda en la nueva escala:

$$T_{x'} = \frac{T_x}{T_{s2}}$$

c) Método de *máxima precisión*.

En este método se realizan ambos reajustes $T = 0$ con T_{s1} y $T = 1$ con T_{s2} :



De esta manera se *expande* la escala en f . El factor de expansión es:

$$f = \frac{1}{T_{s2} - T_{s1}}$$

El valor de $T_{x'}$ queda en la nueva escala:

$$T_{x'} = \frac{T_x - T_{s1}}{T_{s2} - T_{s1}}$$

d) Error relativo ($\Delta C/C$) para $T_{x'}$ (la lectura de T_x en la escala expandida).

En general el error relativo depende del valor del factor de expansión y éste a su vez de los valores de T_{s1} y T_{s2} .

$$\left(\frac{\Delta C}{C} \right) = \left[\frac{0.43 \Delta T}{T_x \log T_{x'}} \right] \left[\frac{1}{f} \right]$$

La formula anterior incluye al ajuste ordinario:

$$\begin{aligned}T_{s1} &= 0 \\T_{s2} &= 1 \\f &= \frac{T_{s2} - Tx}{T_{s1} - T_{s2}} = \frac{1 - Tx}{0 - 1} = Tx \\Tx' &= Tx \\ \left(\frac{\Delta C}{C} \right) &= \left[\frac{0.43\Delta T}{Tx' \log Tx'} \right] \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix} = \left[\frac{0.43\Delta T}{Tx \log Tx} \right]\end{aligned}$$

Una demostración mas completa requiere resolver la siguiente derivada:

$$\frac{dC}{dT} = \left(\frac{dT}{dT'} \right) \left(\frac{dC}{dT} \right)$$
