

CONOCIMIENTO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS
PARTE I: FUNDAMENTOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

Grupo: _____ **Equipo:** _____ **Fecha:** _____

Nombre(s): _____

I. OBJETIVO GENERAL

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

II. OBJETIVOS PARTICULARES

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

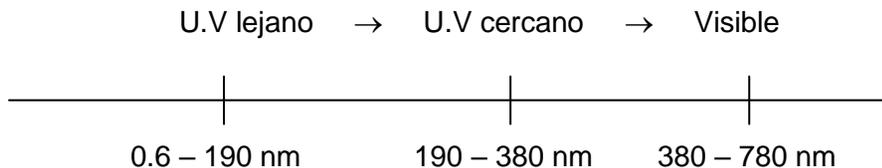
III. PROBLEMA

A partir del espectro de absorción de una solución acuosa de yoduro (I_3^-) seleccionar la longitud de onda apropiada para, determinar el coeficiente de absortividad molar de soluciones acuosas de yoduro a partir de una curva patrón.

INTRODUCCIÓN.

La espectroscopia UV-Visible estudia el fenómeno de adsorción de la radiación UV-Visible de moléculas orgánicas e inorgánicas.

La región visible, a la que es sensible el ojo humano, se localiza entre los 380 y 780 nm.



La absorción de la radiación ultravioleta o visible por moléculas orgánicas e inorgánicas, generalmente se produce por la excitación de los electrones de enlace, por lo tanto, la longitud

de onda de los máximos de absorción se puede relacionar con los enlaces de las especies absorbentes.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Instrumentación:

Todo espectrofotómetro cuenta con los siguientes elementos:

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

- **Fuente de luz:** un filamento de tungsteno que funciona mediante una fuente de alimentación estabilizada proporcionando una radiación de intensidad constante el tiempo suficiente para

asegurar una buena reproducibilidad de las lecturas de absorbancia.

- **Selector de longitud de onda:** Se trata de una sencilla red de difracción, que permite separar la longitud de onda. Tras seleccionar la longitud de onda la radiación pasa a través de un controlador de luz, que consiste en una abertura en forma de V que se introduce o saca del haz para controlar la intensidad de luz que incide en la fotocelda.
- **Celda:** Que contiene a la solución, generalmente es de un material transparente que no absorbe la luz. Su longitud y capacidad varía según el equipo y diseño. Las hay de paredes cilíndricas o planas.
- **Detector:** A éste llega la radiación tras pasar por un filtro y por la muestra. Se trata de un tubo de medida. Se basa en el efecto fotoeléctrico de los metales que al irradiarlos generan electrones.
- **Escala de medida:** La señal eléctrica del detector una vez amplificada se registra bien en una escala analógica o en una pantalla digital que proporcionan los valores de Transmitancia y/o Absorbancia.

A.1. CUESTIONARIO PREVIO

- 1.- ¿Cómo se determina el espectro de una solución colorida?
- 2.- ¿Cómo se selecciona la longitud de onda apropiada en un espectro para la aplicación en la determinación de concentraciones por espectrofotometría?
- 3.- ¿Qué establece la ley de Lambert-Beer?
- 4.- ¿Qué es, para qué sirve y cómo se construye una curva patrón?
5. ¿Explica porque se requiere adicionar KI a la mezcla I_2 / agua?
- 6.- Identifica cada uno de los componentes del espectrofotómetro que vas a usar.

A.2. PROPUESTA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Llevar a cabo una discusión grupal, identificar las variables involucradas y plantear la hipótesis para proponer el diseño del experimento que pueda conducir a la resolución del problema planteado (considerar que en el laboratorio se dispone del material indicado en el punto **A3**). Anotar la propuesta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Variables, hipótesis y propuesta del diseño de experimento.

<p>1.- Espectro de absorción</p> <p>Variables:</p> <p>Hipótesis:</p> <p>Diseño de experimento:</p>
<p>2.- Curva patrón</p> <p>Variables:</p> <p>Hipótesis:</p> <p>Diseño de experimento:</p>

A.3. REACTIVOS Y MATERIALES

<p>I₂ -KI (0.002M - 0.2M) (solución de origen)</p> <p>H₂O destilada</p>	<p><u>1 Espectrofotómetro</u></p> <p>2 celdas espectrofotométricas</p> <p>4 vasos de precipitados de 50 ml</p> <p>6 tubos de ensayo (15 mL)</p> <p>1 pipeta graduada de 1 mL</p> <p>1 pro-pipeta</p>
---	--

Nota: Se recomienda usar siempre las mismas celdas y el mismo espectrofotómetro

A.4. METODOLOGÍA EMPLEADA.

Describir detalladamente en el cuadro 2 la metodología empleada después de haber realizado el experimento.

Cuadro 2. Metodología empleada.

Calibración del espectrofotómetro y barrido del espectro de absorción

Se recomienda revisar el manual de procedimientos para el espectrofotómetro en uso.

Recomendaciones generales.

1. Encender el espectrofotómetro.
2. Esperar 15 minutos.
3. Seleccionar la longitud de onda más baja (se sugiere 320 nm).
4. Introducir la celda con el blanco (disolvente con un volumen hasta la marca indicada; nunca llena) en la porta-celda, oprime la tecla de calibración en Absorbancia (0A/100%T) y esperar a que se ponga en ceros la absorbancia, a continuación sacar la celda.
5. Introducir la celda con la solución de yodo (2×10^{-4} M), registrar el valor de absorbancia a una longitud de onda seleccionada (λ nm).
6. Repetir el procedimiento desde el punto 3 dando incrementos regulares a la longitud de onda (se recomienda cada 10 nm). Registrar los datos de absorbancia en la tabla 1.

Curva patrón

1. Preparar soluciones de distinta concentración (Serie tipo), a partir de la solución de referencia I_2 -KI (0.002M - 0.2M). (ver Tabla 2)
2. Con el valor de la longitud de onda seleccionada a partir del espectro de absorción (se sugiere de 460nm), realizar la calibración con el blanco, posteriormente determinar la absorbancia para cada solución de la serie tipo. Registrar las lecturas de absorbancia en la tabla 2

A.5. DATOS, CÁLCULOS Y RESULTADOS

Número del Espectrofotómetro. _____ Modelo: _____

Tipo de celda: _____

Temperatura experimental: _____

1. Registrar los datos experimentales del espectro de absorción de la solución de yodo (2×10^{-4} M) en la tabla 1

Tabla 1. Absorbancia de la solución de yodo a diferentes longitudes de onda (Se recomienda emplear el intervalo de 320 a 500nm).

Evento	λ (nm)	Absorbancia	Evento	λ (nm)	Absorbancia
1	320		10		
2			11		
3			12		
4			13		
5			14		
6			15		
7			16		
8			17		
9			18		

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

3. Algoritmo de cálculo.

Explicar cómo se calcula la concentración de yodo en las mezclas de la tabla 2.

4.- Calcular y registrar las concentraciones de yodo en las mezclas de la tabla 2.

TABLA. 2. Absorbancia a diferentes concentraciones molares de yodo.

Mezcla	(I_3^-) (0.0002 M) (ml)	H ₂ O (ml)	(I_3^-) mol/L	Abs
1	10	0		
2	8	2		
3	6	4		
4	4	6		
5	2	8		

A.6. ELABORACIÓN DE GRÁFICOS

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

A.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

- 1.- ¿A que longitud de onda se localiza el máximo de absorbancia de la solución de yodo 2×10^{-4} M?

2. Justifica la aplicación de la longitud de onda de 460 nm para la determinación de la absorbancia de las soluciones de la serie tipo.

- 3.- ¿Qué relación presenta la absorbancia con la concentración en la curva patrón?

4. ¿Qué representa la pendiente de la gráfica de la curva patrón?

A.8. CONCLUSIONES.

--

A.9. MANEJO DE RESIDUOS.

Residuo	Cantidad	Riesgo	Forma de disposición

A.10. BIBLIOGRAFÍA

Castellan, G. , *Fisicoquímica*. 2ª Edición, Addison-Wesley Iberoamericana, USA. (1987).
Hewitt, P. *Conceptos de física*. Limusa, (1997)
Levine, I. N. *Fisicoquímica*, Mc. Graw Hill, 4ª edición, (1996).
Laidler , K., *Fisicoquímica*, , 1a. Edición CECSA, , 1997.