

Maestría en Criminalística

“ESPECTROFOTOMETRIA”

Presenta:

Lic. Ma. Dolores Muñoz Martínez
Lic. Ma. De Lourdes López Castro
Psic. Dora Martha Rodríguez Valdés
Lic. Fernando Ramírez Flores

Aguascalientes, Ags. México
Junio del 2005

INTRODUCCIÓN

La Espectrofotometría es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de compuestos. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). Se refiere a la medida de cantidades de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda. Cada componente de una solución tiene su patrón de absorción de luz característica.

Los fundamentos físico-químicos de la espectrofotometría son relativamente sencillos.

Las técnicas espectroscópicas se empezaron a utilizar en el siglo XIX y no tardaron en dar sus primeros frutos. Así en 1868 el astrónomo francés P.J.C. Janssen se trasladó a la India con el objeto de observar un eclipse de sol y utilizar el espectroscopio, desarrollado ocho años antes, para hacer un estudio de la cromósfera solar.

Como resultado de sus observaciones anunció que había detectado una nueva línea espectroscópica, de tono amarillo, que no pertenecía a ninguno de los elementos conocidos hasta ese momento. En el mismo año, el químico Frankland y el astrónomo Lockyer dedujeron que la citada línea correspondía a un nuevo elemento al que llamaron Helio (del griego helios que significa Sol) por encontrarse en el espectro solar.

Durante más de veinticinco años se pensó que el helio sólo existía en el Sol, hasta que, en 1895 W. Ramsay lo descubriera en nuestro planeta.

Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Esto permite que se inicien ciclos vitales de muchos organismos, entre ellos el de la fotosíntesis en plantas y bacterias. La Mecánica Cuántica nos dice que la luz está compuesta de fotones cada uno de los cuáles tiene una energía:

$$E_{\text{fotón}} = \eta \dots = \eta \dots c / ,$$

donde c es la velocidad de la luz, η es su frecuencia, λ su longitud de onda y $h = 6.6 \cdot 10^{-34}$ J... s es la constante de Planck. Cuando decimos que una sustancia química absorbe luz de longitud de onda λ , esto significa que las moléculas de esa sustancia absorben *fotones* de esa longitud de onda.

En esta práctica estudiaremos la absorción de luz en el ultravioleta cercano (325-420 nm) y en el visible (420-700 nm). Cuando una molécula absorbe un fotón en este intervalo espectral, se excita pasando un electrón de un orbital del estado fundamental a un orbital excitado de energía superior. De esta manera la molécula almacena la energía del fotón:



$$E(A^*) = E(A) + E_{\text{fotón}}$$

Como la energía se conserva, la diferencia de energía entre el estado fundamental de la molécula (A) y su estado excitado (A*) debe ser exactamente igual a la energía del fotón. Es decir, una molécula sólo puede absorber fotones cuya energía η ... sea igual a la energía de un estado molecular excitado. Cada molécula tiene una serie de estados excitados discretos (o bandas) que dependen de su estructura electrónica y que la distinguen del resto de moléculas. Como consecuencia, el **espectro de absorción**, es decir, la luz absorbida en función de la longitud de onda, constituye una verdadera señal de identidad de cada sustancia o molécula.

ESPECTROFOTOMETRIA

Los modelos explicativos de la estructura de la materia que tienen como fundamento las características ondulatorias de las partículas que la constituyen proporcionan un marco de referencia conveniente para describir las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia. Estas interacciones a su vez son el fundamento de las aplicaciones espectroscópicas.

La energía radiante se encuentra constituida por fotones cada uno de los cuales tiene como característica una longitud de onda. Toda la radiación electromagnética se mueve a la misma velocidad en el vacío y esa velocidad de desplazamiento en el vacío es la máxima observada en el universo. En algún medio material la interacción entre los campos eléctricos y magnéticos que existen en la materia y los correspondientes de la radiación pueden llegar a reducir esa velocidad de propagación; por esta razón es solamente en el vacío en donde se observa esa velocidad máxima.

Si asignamos como ya se dijo una longitud de onda característica a cada tipo de radiación, la propagación de esa onda se hará con una frecuencia tal que al multiplicarla por su longitud debe darnos la velocidad de propagación. Esto es:

$$c = \lambda \nu$$

la letra griega lambda minúscula representa la longitud de onda y la letra griega nu minúscula representa la frecuencia de esa onda. $c = 2,99792458 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ es la velocidad de la luz en el vacío.

La radiación electromagnética que constituyen las ondas de radio de banda AM, digamos de la frecuencia 1000 kHz (kilohercios) tiene, en consecuencia, una longitud de $2,99792458 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} / 1,0 \times 10^6 \text{ s}^{-1} = 299,8 \text{ m}$. Esta onda se convierte en señal que interpretamos, mediante el uso de un circuito apropiado que se encuentra en el aparato receptor de radio.

Ondas más cortas que la referida antes son las interpretamos en nuestros ojos, sin ayuda de ningún traductor construido artificialmente. La radiación electromagnética que se percibe como color rojo tiene una longitud del orden de los 700 nm, por lo tanto su frecuencia debe ser $2,99792458 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} / 7,0 \times 10^{-7} \text{ m} = 4,28 \times 10^{14} \text{ s}^{-1}$. Es decir 428 THz (terahercios).

La energía asociada con cada una de esas ondas, se obtiene mediante la ecuación de Planck:

$$E = h\nu$$

Para las dos ondas descritas antes las energías respectivas serán: $E_{RF} = 6,6260755 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \times 1,0 \times 10^6 \text{ s}^{-1} = 6,626 \times 10^{-28} \text{ J}$ [0,0006626 yJ (yoctoJulios)]; y $E_{roja} = 6,6260755 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \times 4,28 \times 10^{14} \text{ s}^{-1} = 2,836 \times 10^{-19} \text{ J}$ [0,2836 aJ (attoJulios)]



Absorción y Emisión de Radiación por Parte de la Materia

Una descripción simplificada de la estructura de la materia permite explicar los enlaces entre los átomos para formar moléculas en términos de la localización de ciertas partículas subatómicas, los electrones, entre esos átomos. Esas "partículas" evidencian sus características ondulatorias ya que interactúan con la radiación electromagnética. La molécula en su forma estable bajo las condiciones ambientales corrientes se encuentra en un determinado nivel energético. Si se logra hacer incidir sobre esa molécula un fotón de radiación electromagnética con la energía apropiada, la molécula incrementa su contenido energético absorbiendo ese fotón. Se dice entonces que la molécula paso a un estado excitado.

La molécula energizada se encuentra en un estado que no es estable en las condiciones ambientales corrientes; por lo tanto tiende a regresar a la condición estable y para lograrlo emite un fotón con la energía que logró excitarla antes.

La ferrocina es un compuesto policíclico que forma un complejo de color púrpura con el ión ferroso el color de ese compuesto se debe a la absorción de radiación en la región visible del espectro electromagnético con un máximo a la longitud de onda de 562 nm. ¿En cuanto se incrementa la energía del compuesto por absorción de un mol de esos fotones? Cada uno de los fotones con esa longitud de onda tiene una energía de $6,6260755 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} (2,99792458 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} / 562 \times 10^{-9} \text{ m}) = 3,535 \times 10^{-19} \text{ J}$ y en consecuencia un mol de esos fotones tendrán una energía de $6,0221367 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1} \times 3,535 \times 10^{-19} \text{ J} = 212858 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$; 212,858 kJ·mol⁻¹

La materia absorbe radiación de diversas regiones del espectro electromagnético originadas, esas absorciones, en diferentes tipos de interacciones entre la materia y la radiación electromagnética. Dependiendo del tipo de interacción se pueden analizar las transiciones electrónicas que se pueden causar con la radiación ultravioleta o visible. La radiación infrarroja interactúa con los estados rotacionales y vibracionales de las moléculas. Si el fotón que llega a afectar a una molécula tiene un alto contenido de energía, por ejemplo de la región de rayos X o de los rayos gamma, no se produce absorción que se pueda emitir luego, sino que se modifica la estructura de la sustancia.

ESPECTROFOTOMETRIA

Se refiere a la medida de cantidades relativas de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda.

Cada componente de la solución tiene su patrón de absorción de luz característico. Comparando la longitud de onda y la intensidad del máximo de absorción de luz de una muestra versus soluciones standard, es posible determinar la identidad y la concentración de componentes disueltos en la muestra (solución incógnita).

Las ventajas de la espectrofotometría sobre otros métodos analíticos de laboratorio son varias: es rápida, precisa, versátil, fácil de usar y eficiente en costo. Los espectrofotómetros se han mejorado en precisión y versatilidad en los últimos años con los avances de tecnología, y hoy se consideran indispensables en un laboratorio de química analítica.

La espectrofotometría se usa para diversas aplicaciones, como :

análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones desconocidas en un laboratorio de investigación,

estandarización de colores de diversos materiales, como plásticos y pinturas,

detección de niveles de contaminación en aire y agua,

y determinación de trazas de impurezas en alimentos y en reactivos.

Un espectrómetro típico posee cuatro componentes básicos: una fuente de radiación que tiene intensidad constante en el rango de longitud de onda que cubre (usualmente es lámpara de tungsteno para luz visible, y deuterio para ultravioleta), un compartimiento para la muestra, un monocromador que separa la banda de longitud de onda deseada del resto del espectro y la dispersa al compartimiento de la muestra, y un fotodetector, que mide cuantitativamente la radiación que pasa por la muestra.

En general, los espectrómetros miden en % de transmitancia (T) y absorbancia (A). El porcentaje de transmitancia se refiere a la cantidad de radiación que pasa a través de la muestra y alcanza el detector. Una solución límpida, no absorbente, mostrara una lectura de 100% de transmitancia en un espectrofotometro calibrado. Las unidades de absorbancia van de 0 a 2. La absorbancia se relaciona con la transmitancia como

$A = -\log 1/T$, (logaritmo decimal).

Esta es una traducción del catalogo de Cole-Parmer.

infrarrojo

El espectro infrarrojo de un compuesto proporciona gran información sobre sus propiedades internas (composición química, impurezas, interacción entre sustituyentes, análisis de grupos funcionales, etc.), por lo que es de gran importancia en análisis cualitativo.

La técnica también es útil para análisis cuantitativo, dado que por su gran selectividad se puede cuantificar una sustancia en una mezcla compleja sin la realización de mucho trabajo previo de preparación.

Las aplicaciones son múltiples: análisis de polímeros, aditivos, estudios forenses, identificación de contaminantes ambientales, medicina, diversas áreas de la química (organometálica, orgánica, inorgánica, agrícola, industrial), etc.

de onda, constituye una verdadera señal de identidad de cada sustancia o molécula.

LA LUZ



La luz emitida por [el Sol](#) proviene de la fotosfera. Esta es la capa visible del Sol. Debido a sus altas temperaturas aquí se generan ondas de luz.

¿Cuál es la naturaleza de la luz?

Algunas veces la luz se manifiesta como [onda](#). Otras veces se manifiesta como

partícula. Todo depende de las circunstancias.

LA LUZ COMO ONDA

Sabemos que la luz se comporta como onda cuando se producen los efectos de interferencia y difracción. Esto ocurre por ejemplo cuando dos ondas se encuentran en el mismo lugar y como resultado se anulan en unas partes y se refuerzan en otras, formando así un patrón característico de interferencia.

¿Cómo medimos una onda?

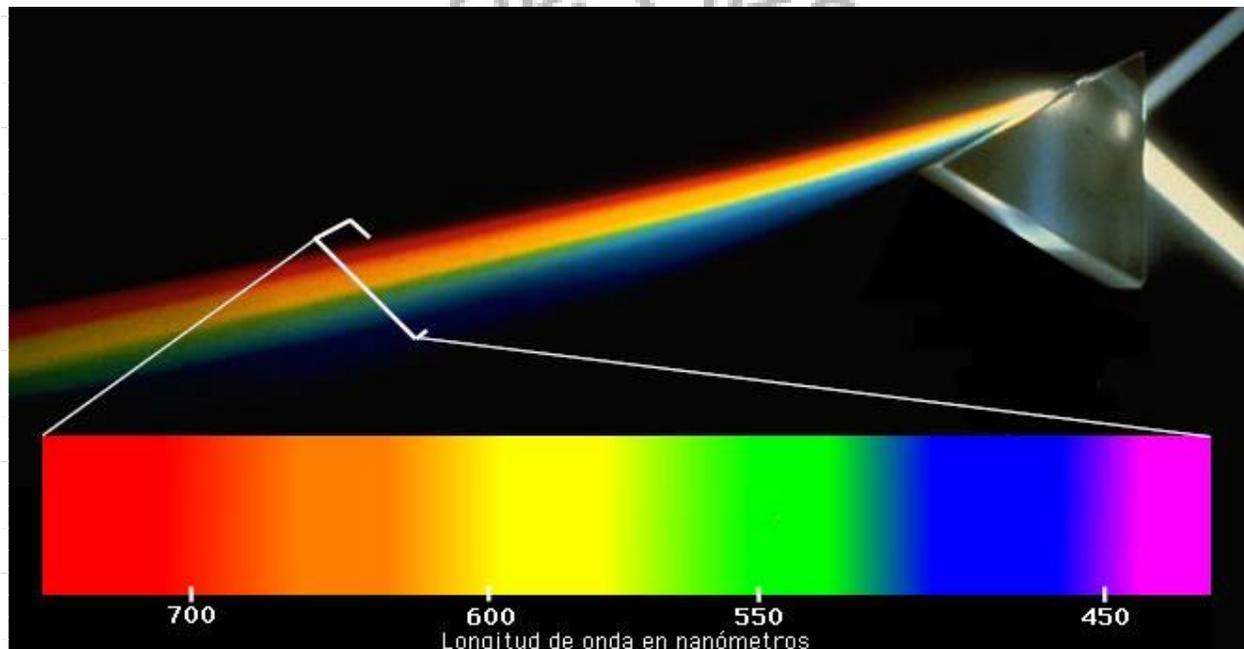
En una onda electromagnética, por ejemplo, el campo eléctrico cambia en intensidad de manera cíclica así:



- Cada ciclo de la onda se repite en intervalos separados por una **longitud de onda**
- La **frecuencia** mide el número de estos ciclos que ocurren cada segundo.
- En la luz, la longitud de onda determina el **color** de la luz (por ejemplo la longitud de onda correspondiente al color verde es de 550 nanómetros)

EL ESPECTRO ÓPTICO

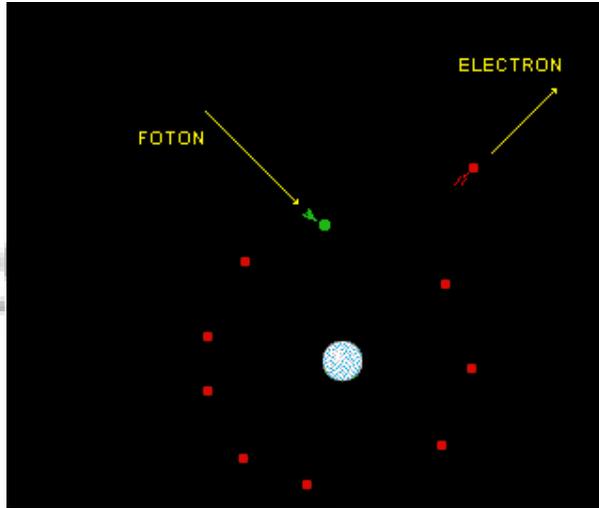
La luz blanca está compuesta de ondas de diversas frecuencias. Cuando un rayo de luz blanca pasa por un prisma se separa en sus componentes de acuerdo a la longitud de onda así:



EL FOTÓN: LA LUZ COMO PARTÍCULA

A muy altas energías, por ejemplo cuando la luz puede interactuar con un átomo se observan comportamientos muy diferentes. La luz se comporta como una partícula golpeando electrones fuera del átomo. A esta partícula elemental se le llama fotón.

El fotón se puede entender como un paquete de energía electromagnética, o luz. Éste fue propuesto por Albert Einstein para explicar el efecto fotoeléctrico (cuando la luz golpea con un electrón de un átomo y lo saca fuera del átomo).



Tipos de ondas

Ya sabemos que cuando hacemos pasar la luz a través de un prisma óptico se produce el efecto llamado dispersión que consiste en la separación de las distintas longitudes de onda que forman el rayo incidente.

La luz blanca produce al descomponerla lo que llamamos un espectro continuo, que contiene el conjunto de colores que corresponde a la gama de longitudes de onda que la integran.



Sin embargo, los elementos químicos en estado gaseoso y sometidos a temperaturas elevadas producen espectros discontinuos en los que se aprecia un conjunto de líneas que corresponden a emisiones de sólo algunas longitudes de onda. El siguiente gráfico muestra el espectro de emisión del Na (sodio):



El conjunto de líneas espectrales que se obtiene para un elemento concreto es siempre el mismo, incluso si el elemento forma parte de un compuesto complejo y cada elemento produce su propio espectro diferente al de cualquier otro elemento. Esto significa que cada elemento tiene su propia firma espectral.

Si hacemos pasar la luz blanca por una sustancia antes de atravesar el prisma sólo pasarán aquellas longitudes de onda que no hayan sido absorbidas por dicha sustancia y obtendremos el espectro de absorción de dicha sustancia. El gráfico siguiente muestra el espectro de absorción del sodio:



Observá que el sodio absorbe las mismas longitudes de onda que es capaz de emitir.

La regularidad encontrada en los espectros discontinuos supone un apoyo muy importante para comprender la estructura de los átomos.

En el siguiente gráfico podés ver los espectros de emisión de algunos elementos:

Como habrás deducido las ondas producidas por la piedra en el estanque son ondas transversales.

El sonido es un ejemplo de onda longitudinal. Cuando hacemos vibrar un objeto, éste transmite la vibración a las moléculas de los gases que componen el aire que se encuentran próximas a él. A su vez las moléculas que han sufrido la perturbación se la transmiten a sus moléculas vecinas, de forma que la onda se va alejando del foco sonoro.

Observa las siguientes imágenes, en las que representamos las zonas de compresión y de dilatación típicas de una onda sonora:



CONCLUSIONES



