

Posgrado en INGENIERÍA DEL AGUA
Y DEL TERRENO.

CURSO: INSTRUMENTACIÓN Y
MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICO

TEMA: EL ESPECTRO
ELECTROMAGNÉTICO. ABSORCIÓN
VISIBLE-ULTRAVIOLETA

José Luis Serrano Martínez

1. EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.

Definición de espectroscopia

La espectroscopia estudia la interacción entre la radiación y la materia. Se ocupa por tanto del estudio de los "*espectros*": la forma de obtenerlos, la forma de medirlos y su aplicación al análisis químico.

El **espectro** se define como una representación gráfica de la distribución de intensidades de la radiación electromagnética emitida o absorbida por la materia, en función de la longitud de onda de dicha radiación. Los espectros son debidos a transiciones entre estados de energía característicos de la materia.

Los espectros pueden ser de **emisión**, que se obtienen excitando adecuadamente la materia para que emita radiación electromagnética y de **absorción**, obtenidos sometiendo a la materia a una radiación electromagnética continua y representando la proporción de radiación absorbida por la misma en función de la frecuencia o longitud de onda.

2. ORIGEN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN

Puesto que los procesos de absorción tienen su origen en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, a continuación se repasa brevemente la naturaleza de la radiación y la estructura energética de la materia.

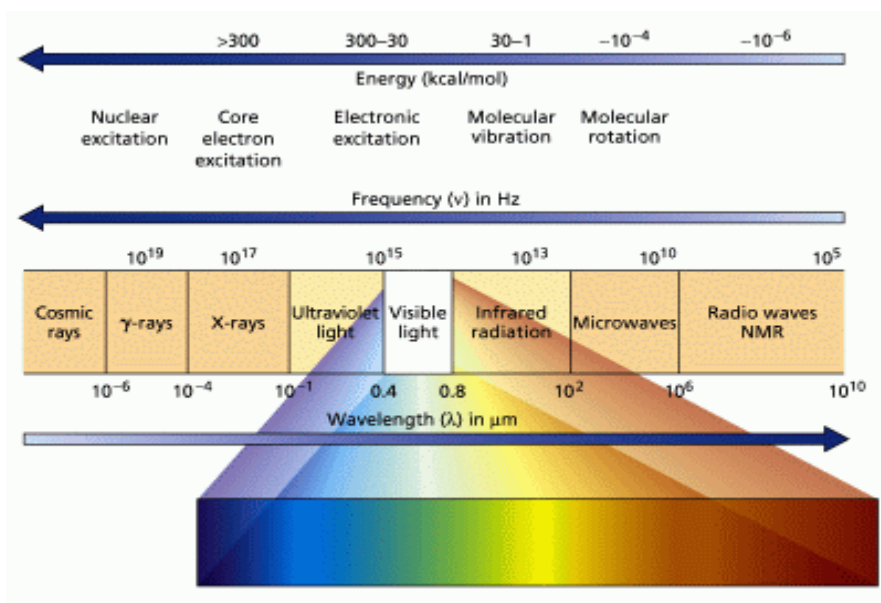
2.1. La radiación electromagnética

Recordemos que la descripción de la radiación electromagnética requiere adjudicarle por una parte una naturaleza ondulatoria para describir su movimiento, y describir estas ondas con parámetros típicos como frecuencia(s^{-1}), longitud de onda(cm), número de ondas (cm^{-1}), amplitud (cm) y velocidad (cm/s).

$$c = \nu\lambda \cong 3 \times 10^{10} \text{ cm/s}$$

No obstante, para explicar los fenómenos asociados con la absorción o emisión es necesario considerar la radiación electromagnética como un flujo de partículas discretas de energía llamadas *fonones*. La energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación según la ecuación $E = h\nu$, donde h es la constante de Planck ($h = 6.63 \times 10^{-34}$ J. s.). Así, las radiaciones de mayor frecuencia del espectro electromagnético (rayos X o rayos γ), son más energéticas que las de baja frecuencia (radiofrecuencia o microondas), y en su

interacción con la materia provocaran alteraciones más importantes en cuanto al cambio energético asociado. El espectro electromagnético cubre un amplio rango de frecuencias, y por tanto de energías. Dentro de él, y en intervalos limitados de frecuencias, operan las diferentes técnicas espectroscópicas, dependiendo de los procesos y cambios energéticos implicados. (Figura 1).



2.2. La materia

Por otra parte, los resultados de la mecánica cuántica nos dicen que sólo ciertos estados o niveles energéticos son posibles en un sistema molecular. Si asumimos que la energía de una molécula se puede expresar como la suma de tres componentes $E = E_{\text{rotacional}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{electrónica}}$, (la diferencia en magnitud de las energías involucradas permite separar la energía de una molécula en contribuciones individuales) se observa que para cada estado de $E_{\text{electrónica}}$ hay varios estados vibratorios posibles y a su vez, para cada uno de estos existen numerosos estados rotatorios. Además, la separación entre los niveles rotacionales es muy pequeña, es mayor entre niveles vibracionales y mucho mayor entre niveles electrónicos (Figura 2). La separación energética entre dos niveles contiguos cualesquiera será la diferencia $\Delta E = E_2 - E_1$, y cada uno de ellos vendrá identificado por unos *números cuánticos* determinados.

A continuación se profundiza algo más en los tipos de energía en un sistema atómico-molecular

- ♦ **Energía electrónica.** Es la energía que poseen las moléculas y los átomos debido a la energía potencial y cinética de sus electrones; la primera se origina en la interacción entre el electrón con el núcleo y otros electrones y la segunda como resultado del movimiento. Dentro de un átomo, los niveles de energía de los electrones se definen por medio de cuatro números cuánticos.

$$n \text{ (principal)} = 1,2,3,\dots$$

$$l \text{ (momento angular)} = 0,1,2,\dots,(n-1)$$

$$m \text{ (magnético)} = (-1)\dots 0 \dots (+1)$$

$$s \text{ (espín)} = \pm (1/2)$$

- ♦ En las moléculas, los niveles de energía electrónicos se corresponden con los orbitales moleculares que se originan a partir de la interacción de los orbitales atómicos de los átomos que forman la molécula. Los orbitales s de dos átomos dan lugar a dos orbitales moleculares, uno de menor energía σ_s y otro de mayor energía σ_s^* , que los orbitales s originales. El número cuántico electrónico se denomina con la letra **n**.

- ♦ **Energía vibracional.** Es la energía cinética y potencial que poseen las moléculas debido al movimiento de vibración. Los átomos, en una molécula, se encuentran unidos entre sí por medio de los enlaces que actúan como muelles; al no ser rígidas las moléculas, la flexibilidad de las mismas da como resultado el movimiento vibratorio. El número cuántico vibracional se denomina con la letra **v**.

- ♦ **Energía de rotación.** Es la energía cinética que poseen las moléculas debido a la rotación de su centro de gravedad alrededor de un eje. El número cuántico rotacional se denomina con la letra **J**.

- ♦ **Energía nuclear de orientación de espín.** Está asociada a la orientación de las partículas nucleares en un campo magnético exterior.

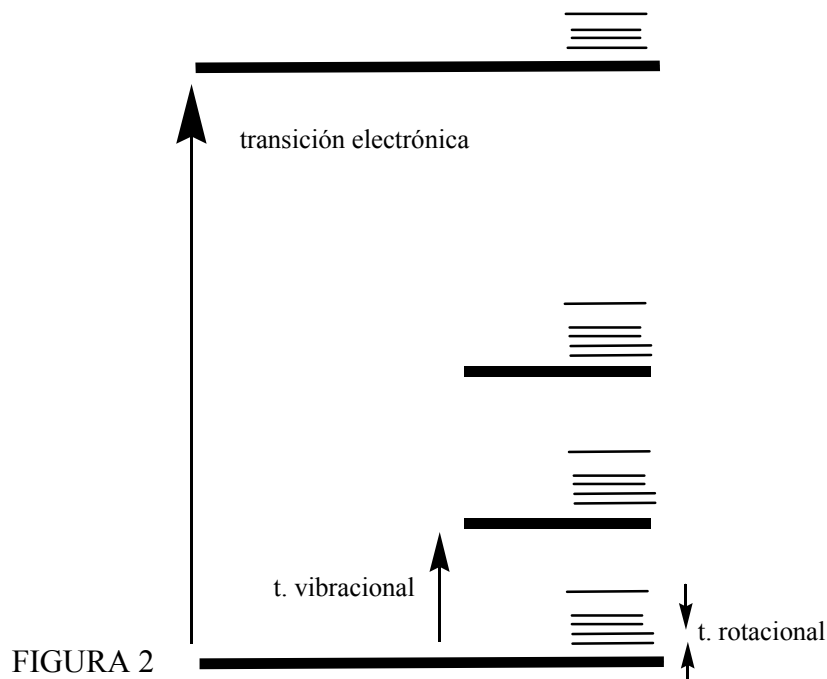
Como se ha comentado, el orden y magnitud de estas energías son muy diferentes, por lo que las radiaciones electromagnéticas absorbidas o emitidas debidas a cambios energéticos, son muy distintas en longitud de onda y frecuencia, pudiéndose obtener espectros

característicos según la zona afectada. Una clasificación de los métodos espectroscópicos, en consonancia con lo anterior, sería:

a) **Métodos espectroscópicos moleculares**, basados en espectros de absorción, obtenidos como resultado de cambios en los niveles energéticos de las moléculas (Espectroscopia Visible-Ultravioleta, Infrarroja).

b) **Métodos espectroscópicos atómicos**, debidos a cambios energéticos en el átomo, que pueden ser de absorción o de emisión tales como Absorción Atómica, Espectroscopia de Emisión, Rayos X.

Desde el punto de vista espectroscópico es importante considerar la distribución de población en los distintos niveles, puesto que sólo los que tengan una población significativa podrán verse implicados en procesos de absorción o emisión. Además, a la hora de obtener un espectro debe haber una diferencia notable entre la población de los niveles involucrados, del mismo modo en que el flujo de un líquido entre dos contenedores conectados sólo tiene lugar cuando hay diferencia de niveles.



2.3. Interacción radiación-materia

Cuando la radiación electromagnética atraviesa una capa transparente de un sólido, líquido o gas, interacciona con ella dando lugar a fenómenos de transmisión, dispersión y **absorción de la radiación**. A causa de este último proceso pueden ser eliminadas selectivamente ciertas frecuencias, de modo que la radiación emergente ya no es continua. En estos casos la energía electromagnética se transfiere a los átomos o moléculas de la muestra y como resultado estas partículas pasan del estado de más baja energía (estado fundamental) a estados de mayor energía o estados excitados. Así, para que se produzca absorción de radiación, la energía del fotón excitante ($E = h\nu$, y según el valor de ν hablaremos de radiación IR, Visible-UV o rayos X) debe igualar 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, un estudio de las frecuencias de radiación absorbidas con un instrumento adecuado, ofrece un medio de caracterizar a los constituyentes de una muestra.

El aspecto general de los espectros de absorción varía dependiendo de la complejidad, el estado físico y el medio en que se encuentre la especie absorbente, aunque es fácil diferenciar los espectros asociados con la absorción atómica y los resultantes de la absorción molecular. Así, al pasar radiación policromática ultravioleta o visible a través de un medio formado por partículas monoatómicas se produce absorción sólo en unas pocas frecuencias bien definidas, que lógicamente generan espectros con pocos picos y muy estrechos. Esto se debe a que el número de posibles estados energéticos es pequeño.

La absorción por moléculas poliatómicas, particularmente en estado condensado, es un proceso más complejo porque como se ha comentado antes, aumenta mucho el número de estados de energía. Idealmente una transición espectroscópica ocurrirá entre un único estado inicial bien definido y el estado de alta energía más cercano con un incremento de una unidad en el número cuántico implicado. Con frecuencia no es este el caso, bien porque exista más de un estado de baja energía suficientemente poblado, o porque sea posible la excitación a más de un estado de alta energía. Así por ejemplo, las transiciones electrónicas que dan lugar a los espectros visible-UV, van acompañadas de transiciones rotacionales y vibracionales, y las vibracionales suelen ir acompañadas de absorciones rotacionales. En este último caso, cuando la muestra es gaseosa y el equipo lo permite, en un pequeño rango

de energía se observan varias absorciones conocidas como estructura fina. En ella se pueden observar tres juegos de picos: uno central correspondiente a la transición vibracional pura (banda Q, prohibida en muchas moléculas pequeñas por la *regla de selección rotacional* que requiere $\Delta J = \pm 1$) y a ámbos lado de éste varios picos en los que hay un cambio en el número cuántico rotacional de +1 (Rama R) o -1 (Rama P)(**Figura 3**)

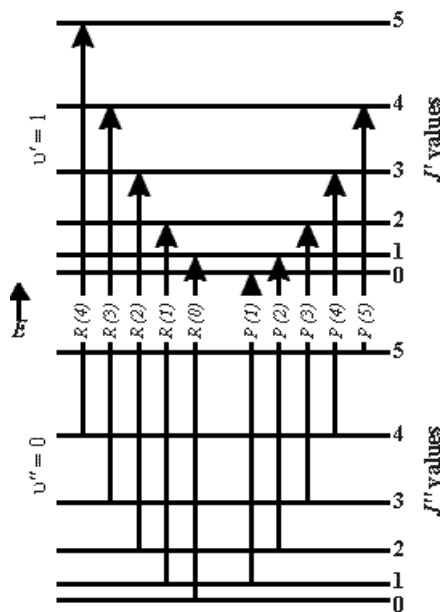


Figura 3a. Transiciones permitidas en un espectro rotacional vibracional

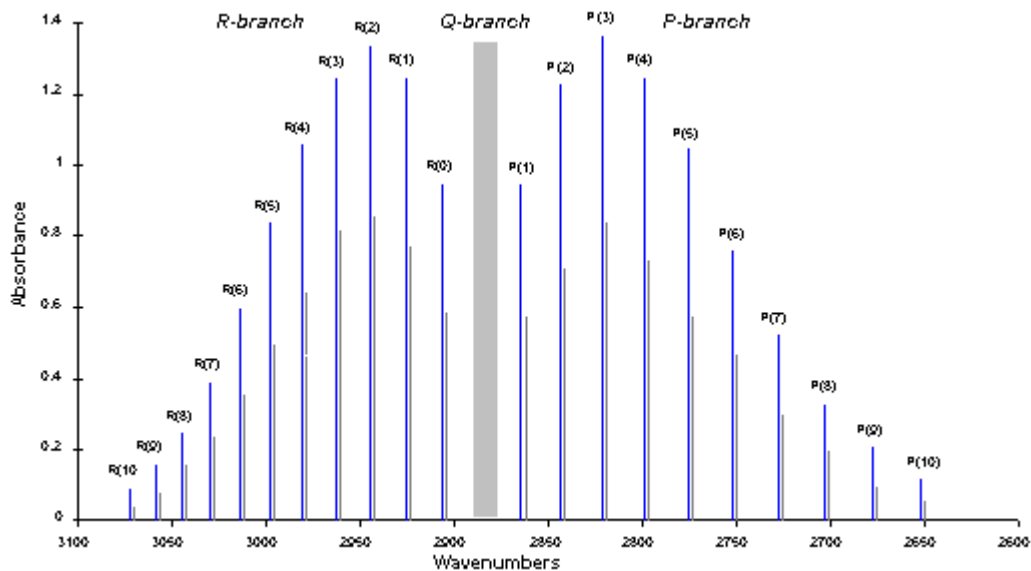


Figura 3b. Estructura fina de un espectro rotacional-vibracional típico

Además de los requerimientos poblacionales comentados, el uso de la mecánica cuántica impone algunas limitaciones para que las transiciones tengan lugar. Las *reglas de selección* indican qué transiciones tienen probabilidad de ocurrir (permitidas) y cuales no (prohibidas), y, aunque varían entre las diferentes técnicas, en general se cumple que las transiciones entre dos estados de energía en los que un único número cuántico cambia en ± 1 (v : número cuántico vibracional, por ejemplo) son transiciones permitidas. La transición entre el estado más bajo y el primer estado excitado ($v = 0 \rightarrow v = 1$) se llama transición fundamental. En ocasiones se observan transiciones prohibidas por las reglas de selección (por ejemplo transiciones $v = 0 \rightarrow v = 2,3$, que se denominan *sobretonos*) aunque con menor intensidad que las permitidas.

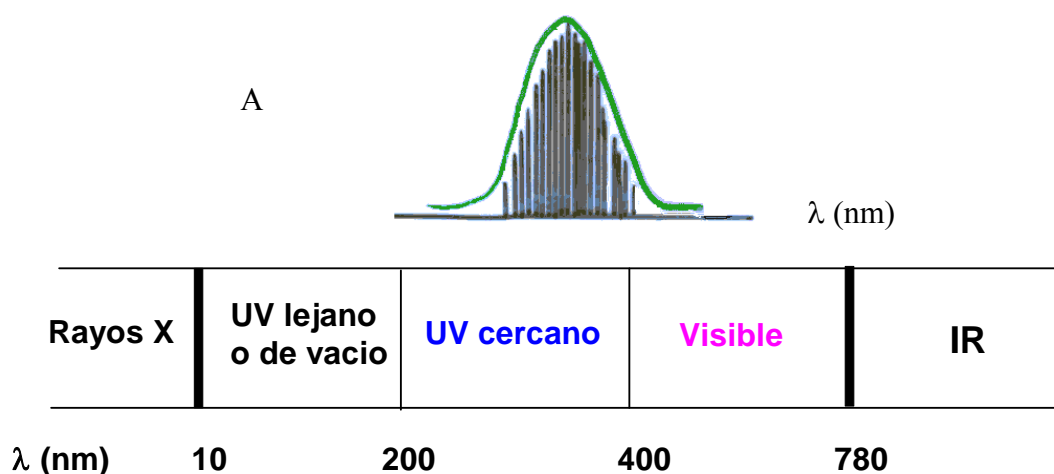
Otro fenómeno importante es la **emisión** de radiación por parte de la materia cuando se la somete a excitación por bombardeo electrónico, por tratamiento térmico o por exposición a una chispa eléctrica y posteriormente vuelve al estado fundamental de energía. Si las partículas están separadas entre sí, como en el estado gaseoso, se obtiene un espectro de pocas líneas espectrales (espectro discontinuo) que sirven para identificar especies.

Por contra, la materia en estado sólido o líquido, tiene los átomos tan próximos que son incapaces de un comportamiento independiente, por lo que al ser excitada se obtiene un espectro continuo en el que todas las longitudes de onda están representadas. Esta propiedad de los sólidos y líquidos permite utilizarlos como fuente de radiación en varias técnicas instrumentales.

Los átomos excitados producen generalmente líneas espectrales, muy valiosas para realizar identificaciones con fines analíticos. Las moléculas excitadas producen bandas espectrales.

3.-ESPECTROSCOPIA VISIBLE-ULTRAVIOLETA

Como se ha comentado, al interaccionar la radiación electromagnética con la materia se produce absorción, siempre que la energía de la radiación coincida con la energía necesaria para que el sistema pase a un nivel energético superior permitido. La apariencia de un espectro visible-ultravioleta típico y el rango de estudio se recogen en la Figura 4:



UV lejano o de vacío $\lambda < 200$ nm

UV cercano λ : 200-400 nm

Visible λ : 400-780 nm

Figura 4

3.1 Aspectos cuantitativos de las medidas de absorción. Terminología.

Las dos leyes fundamentales que rigen el comportamiento de la fracción de radiación absorbida al pasar a través de la materia son la **ley de Lambert** que se refiere al espesor de muestra y al efecto sobre la radiación que se absorbe, y la **ley de Beer** que está relacionada con el efecto de la concentración de la muestra sobre la absorción.

La **Figura 5** permite ver un haz de radiación paralelo antes y después de pasar por una celda de espesor b que contiene una disolución absorbente de concentración c , teniendo

lugar la atenuación de la intensidad de la radiación; ($P_0 > P$) como consecuencia de la interacción entre los fotones y las partículas absorbentes.

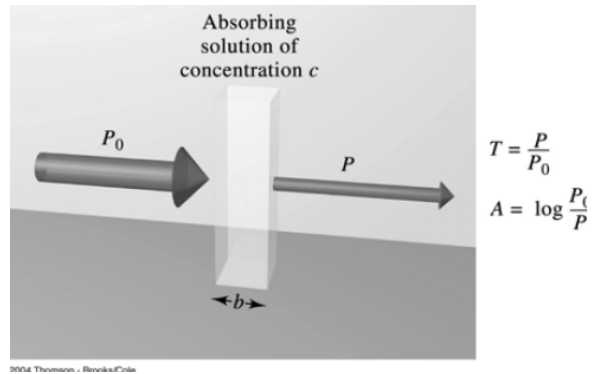


Figura 5.-Atenuación de un haz de radiación por una solución absorbente.

En esta figura se presentan también las magnitudes de uso más frecuente en espectroscopia.

Transmitancia (T) es la fracción de radiación incidente transmitida por la solución, $T = P/P_0$, expresada en tanto por uno.

Absorbancia (A) es $A = -\log_{10} T = -\log_{10} (P/P_0)$

Para minimizar el efecto de otros procesos que atenúan un haz de radiación al pasar por una disolución, y que se recogen en la **Figura 6**, se compara la potencia del haz transmitido por la disolución que nos interesa con la potencia que atraviesa un recipiente idéntico conteniendo sólo el disolvente de la muestra. (aparatos de doble haz)

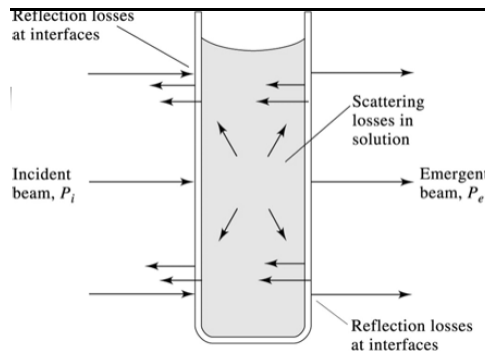


Figura 6

Ley de Lambert-Beer: unificando estas dos leyes se obtiene la ley fundamental *que rige la absorción de todos los tipos de radiación electromagnética, aplicable a disoluciones y también a gases y sólidos*. Nos dice que la absorbancia de radiación electromagnética producida por una especie absorbente es directamente proporcional a la trayectoria de la radiación a través de la disolución y a la concentración en ésta de la sustancia que produce la absorción.

$$A = a b c$$

$$\log(P_0/P) = a b c = -\log(P/P_0) = -\log T$$

$$P/P_0 = 10^{-a b c}$$

a =constante de proporcionalidad, **absortividad**, es una propiedad intensiva de la materia y por tanto relacionada únicamente con la naturaleza de la misma.

b =trayectoria de la radiación a través de la muestra (cm)

c =concentración (g/l), entonces a tiene unidades de $l \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$

La absortividad pasa a denominarse **absortividad molar** y se expresa con el símbolo ϵ , cuando la concentración está en (moles/litro) y b en (cm), siendo sus unidades $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Recta de calibrado: La ley de Lambert-Beer permite la determinación de concentraciones de disoluciones problema, a partir de una recta de calibrado obtenida midiendo las absorbancias de disoluciones patrón de concentraciones conocidas. Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima (**Figura 7**). Si es válida la ley de Beer para esa sustancia a esas concentraciones, la relación debe ser una recta que pase por el origen de los ejes cartesianos (**Figura 7**). A menudo se observan desviaciones debidas a diversos factores.

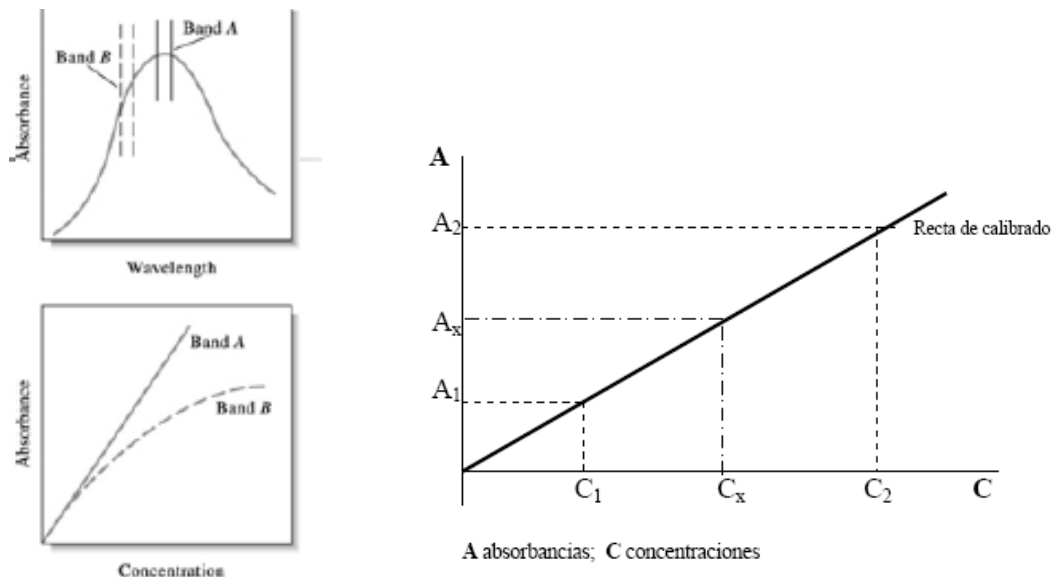


Figura 7-Ley de Lambert-Beer. Recta de calibrado

Mezclas de absorbentes: Asimismo, la ley de Lambert-Beer se puede aplicar a disoluciones que contengan varias especies absorbentes. La absorbancia total, a una determinada longitud de onda, para un sistema de varios compuestos, viene dada por:

$$A_{\lambda l} = A_{1\lambda l} + A_{2\lambda l} + \dots + A_{n\lambda l} = a_{1\lambda l} \cdot b \cdot c_1 + a_{2\lambda l} \cdot b \cdot c_2 + \dots + a_{n\lambda l} \cdot b \cdot c_n$$

Para poder aplicar con éxito la ley de Lambert-Beer a la determinación de concentraciones de mezclas, es necesario que cada compuesto presente un máximo de absorbancia en el espectro ultravioleta-visible a longitudes de onda diferentes. Supongamos que tenemos dos compuestos X e Y que presentan máximos de absorbancia a λ_1 y λ_2 respectivamente. En una mezcla de ambos compuestos, mediríamos la absorbancia a las dos longitudes de onda,

$$A_{\lambda_1} = A_{X\lambda_1} + A_{Y\lambda_1} = a_{X\lambda_1} \cdot b \cdot c_X + a_{Y\lambda_1} \cdot b \cdot c_Y$$

$$A_{\lambda_2} = A_{X\lambda_2} + A_{Y\lambda_2} = a_{X\lambda_2} \cdot b \cdot c_X + a_{Y\lambda_2} \cdot b \cdot c_Y$$

Las absorptividades de cada compuesto a cada longitud de onda se conocen midiendo las absorbancias de disoluciones de concentraciones conocidas de cada compuesto aislado. Una vez conocidas las absorptividades, tenemos un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas: las concentraciones de cada compuesto en la mezcla.

Limitaciones de la ley de Lambert-Beer: No se conocen excepciones a la generalización que la absorbancia está relacionada linealmente a la longitud del camino óptico. En cambio, las desviaciones de la proporcionalidad directa entre la absorbancia medida y la concentración, para b constante, son más frecuentes. Algunas de estas desviaciones son tan fundamentales que representan limitaciones reales de la ley, otras ocurren como una consecuencia de la manera en que se hacen las mediciones de absorbancia (desviaciones instrumentales), o como un resultado de cambios químicos asociados con cambios en la concentración (desviaciones químicas). A continuación se describen los principales factores que limitan la aplicabilidad de la ley de Beer.

- ◆ La **concentración**. Sólo es aplicable a disoluciones diluidas ($<10^{-2}$ M); en disoluciones concentradas la distancia entre partículas absorbentes es tan pequeña que se produce una modificación en la distribución de cargas de las mismas, lo que se traduce en una alteración en la capacidad de absorción a una longitud de onda determinada. Este efecto se puede eliminar mediante dilución.
- ◆ **Desviaciones instrumentales por el uso de radiación no monocromática**, puesto que la ley está definida para radiaciones con una sola longitud de onda. Sin embargo, si la calidad del equipo no es buena, se obtienen bandas de radiaciones con un estrecho intervalo de longitudes de onda. También provoca desviaciones la presencia de radiación dispersa.
- ◆ **Falta de uniformidad de la muestra o especie absorbente**, o presencia de impurezas.
- ◆ **Desviaciones químicas**, debidas a reacciones del absorbente con el disolvente, como en el caso del dicromato en disoluciones no amortiguadas. Para cualquier longitud de onda la absorptividad molar del ion dicromato y del cromato son muy diferentes, de modo que la absorbancia total depende de la razón de concentraciones entre las formas diméricas y monoméricas. Esta razón cambia notablemente con la dilución y provoca una desviación de la linealidad entre la absorbancia y la concentración total de cromo(VI).

3.2 Aplicaciones de las medidas de absorción de radiación ultravioleta y visible.

La absorción de radiación UV-visible se puede producir como consecuencia de la excitación de los electrones de enlace, siendo en este caso una herramienta útil para correlacionar la longitud de onda de los picos de absorción con los tipos de enlace existentes en la especie que se estudia (análisis cualitativo). También proporciona un

método bastante selectivo para el análisis cuantitativo de compuestos que produzcan absorción en esta región del espectro electromagnético. Resulta interesante considerar tres tipos de transición electrónica en este rango y clasificar las especies químicas que pueden dar lugar a cada una de ellas. Así se habla de 1) transiciones que involucran electrones, π , σ y n ; 2) transiciones relacionadas con electrones d y f ; 3) transferencia de carga.

Especies absorbentes que contienen electrones, π , σ y n . Comprenden principalmente moléculas e iones orgánicos y varios aniones inorgánicos relevantes en el análisis de aguas, como son nitrato (313 nm) y nitrito (360 y 280 nm) que presentan picos de absorción en el ultravioleta como consecuencia de transiciones $n \rightarrow \pi^*$. En principio todos los compuestos orgánicos contienen electrones que pueden ser excitados a niveles de energía más altos. Las energías de excitación asociadas a electrones que forman enlaces sencillos ($\sigma \rightarrow \sigma^*$) suelen ser altas y caen en la región ultravioleta en el vacío ($\lambda < 185$ nm), cuyo estudio presenta grandes dificultades experimentales. Es por esto que la región más estudiada es la de $\lambda > 185$ nm, en la que absorben un número limitado de grupos funcionales con electrones más fácilmente excitables. En la Figura 8 se representan los distintos niveles de energía en los que puede encontrarse un electrón y las transiciones comúnmente encontradas.

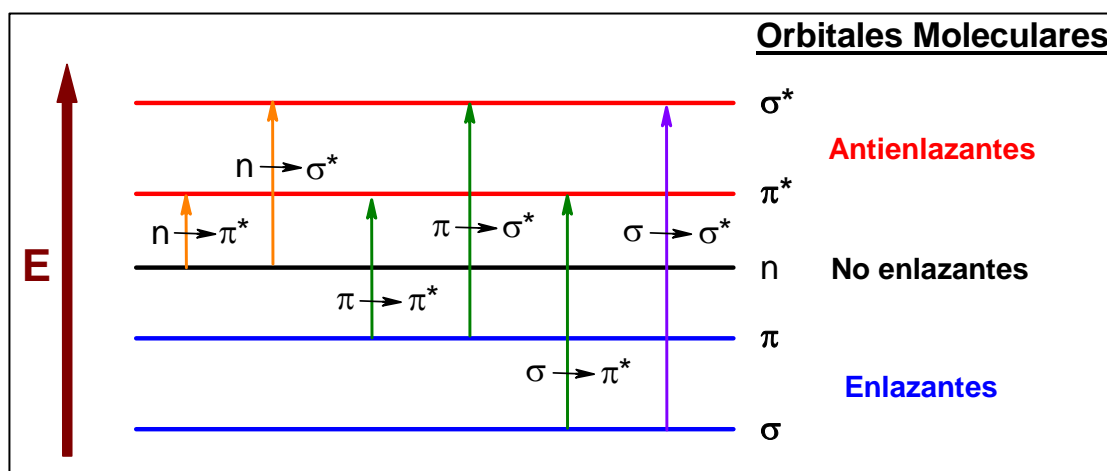


Figura 8. Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles entre éstos.

Los compuestos saturados con átomos que poseen pares solitarios de electrones pueden presentar **transiciones $n \rightarrow \sigma^*$** por absorción de radiación entre 150 y 250 nm. Las absorptividades molares asociadas con este tipo de absorción son intermedias en magnitud ($100\text{-}3000 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Sin embargo, la mayoría de las aplicaciones de la espectroscopia

de absorción a compuestos orgánicos se basan en transiciones de electrones n o π al estado excitado π^* , porque las energías requeridas en estos procesos producen picos en una región espectral conveniente (200-700 nm). En ambos casos es necesaria la presencia de un grupo funcional insaturado que proporcione orbitales π , que recibe el nombre de *cromóforo*. Las diferencias principales entre estos dos tipos de absorciones radican en que las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ presentan absortividades molares bajas ($10\text{-}100 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) y sus picos de absorción son desplazados a longitudes de onda más cortas al aumentar la polaridad del disolvente (*cambio hipsocrómico o azul*), mientras que para las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ los valores de ϵ están entre 1000 y 10000 $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ y el aumento de polaridad del disolvente produce un desplazamiento inverso (*batócrómico o al rojo*) de los máximos de absorción. En la siguiente tabla se muestran algunos cromóforos orgánicos comunes y la localización aproximada de sus máximos de absorción.

Cromóforo	Transición	λ_{max}	$\log(\epsilon)$
Alcano	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	---
Alquino	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3.0
Alqueno	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3.0
Alcohol	$\eta \rightarrow \sigma^*$	180	2.5
Eter	$\eta \rightarrow \sigma^*$	180	3.5
Cetona	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3.0
	$\eta \rightarrow \pi^*$	280	1.5
Aldehido	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	2.0
	$\eta \rightarrow \pi^*$	290	1.0
Amina	$\eta \rightarrow \sigma^*$	190	3.5
Acido	$\eta \rightarrow \pi^*$	205	1.5
Ester	$\eta \rightarrow \pi^*$	205	1.5
Amida	$\eta \rightarrow \pi^*$	210	1.5
Tiol	$\eta \rightarrow \sigma^*$	210	3.0
Nitro	$\eta \rightarrow \pi^*$	271	<1.0
Azo	$\eta \rightarrow \pi^*$	340	<1.0

Como se ha comentado, la posición de los máximos se ve afectada tanto por el disolvente como por los detalles estructurales, y los picos suelen ser anchos debido a los efectos vibratorios. Además, la conjugación de cromóforos produce un importante efecto en los máximos de absorción, desplazándolos a longitudes de onda más largas.

Por su parte los sistemas aromáticos se caracterizan por tres bandas originadas en transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ que son afectadas de manera importante por los sustituyentes en el anillo. Se habla de grupos *auxocromos* para referirse a grupos funcionales que no absorben en la región ultravioleta pero producen el efecto de desplazar los picos de los cromóforos a longitudes de onda más largas y aumentar sus intensidades. Por ejemplo los grupos $-\text{OH}$ y $-\text{NH}_2$ tienen efecto auxocrómico respecto al benceno.

Absorciones relacionadas con electrones d y f. La mayoría de los iones de los metales de transición absorben en la región ultravioleta o visible del espectro electromagnético. En el caso de iones lantánidos y actínidos, y en contraste con la mayoría de especies absorbentes, sus espectros presentan picos de absorción estrechos y bien definidos que además se afectan poco por el tipo de ligando unido al ión metálico. En las transiciones asociadas a estas absorciones participan los electrones que ocupan orbitales internos 4f y 5f.

Por su parte, los iones y complejos de los 18 elementos de las dos primeras series de transición son coloreados en al menos uno de sus estados de oxidación, aunque sus bandas de absorción son anchas y están muy influenciadas por el entorno. Por ejemplo, el ion cobre(II) en su forma acuosa es azul pálido pero cuando forma complejo con el amoníaco es de color azul oscuro. Las transiciones electrónicas asociadas a estas absorciones están relacionadas con los distintos niveles energéticos de los cinco orbitales *d*.

Absorción por transferencia de carga: Este es el tipo de absorción más importante con fines analíticos de las especies inorgánicas, puesto que las absorptividades molares de los picos son muy grandes ($\epsilon > 10000$). Muchos complejos inorgánicos, como el hierro(III)-tiocianato, exhiben este tipo de absorción y se denominan complejos de transferencia de carga. En estos complejos es necesario que un componente tenga carácter dador de electrones y el otro de aceptor, por lo que la absorción implica la transición de un electrón del dador a un orbital asociado con el aceptor. El estado excitado es por tanto el producto de un proceso interno de oxidoreducción.

También los compuestos orgánicos forman complejos de transferencia de carga interesantes como la quinhidrona (complejo 1:1 de quinona-hidroquinona).

Aplicaciones al análisis cualitativo. Las aplicaciones cualitativas de la espectroscopia UV-visible son limitadas debido al número relativamente escaso de máximos y mínimos y la anchura de las bandas, que en conjunto suelen hacer imposible la identificación inequívoca de una sustancia. No obstante, sí se puede poner de manifiesto por esta técnica la presencia de ciertos grupos funcionales que actúan como cromóforos. Así, una débil banda entre 280-290 nm que se desplaza a longitudes de onda más cortas con el aumento de la polaridad del disolvente es una indicación de que un grupo carbonilo puede estar presente, o una débil banda en torno a 260 nm con atisbos de estructura fina vibratoria indica la presencia de un anillo aromático. Por otra parte, al escoger un disolvente hay que tener en cuenta su transparencia y sus posibles efectos en el sistema absorbente. Por ejemplo en disolventes polares como agua y alcoholes no suele observarse la estructura fina producida por los efectos vibratorios. Puesto que las posiciones de los máximos se ven influidas por la naturaleza del disolvente, es importante utilizar disolventes idénticos para fines identificativos. En la siguiente Tabla aparecen algunos disolventes comunes y la longitud de onda aproximada por debajo de la cual no pueden utilizarse.

Solvents for the Ultraviolet and Visible Regions			
Solvent	Lower Wavelength Limit, nm	Solvent	Lower Wavelength Limit, nm
Water	180	Carbon tetrachloride	260
Ethanol	220	Diethyl ether	210
Hexane	200	Acetone	330
Cyclohexane	200	Dioxane	320
		Cellosolve	320

En cuanto a la representación gráfica, para los estudios de tipo cualitativo se suelen preferir gráficas de $\log A$ ó $\log \epsilon$ frente a la longitud de onda por ser más convenientes en la comparación de espectros.

Aplicaciones al análisis cuantitativo: La espectroscopia de absorción es uno de los instrumentos más útiles de que dispone un químico para realizar análisis cuantitativo A continuación se enumeran las características más importantes de los métodos espectrofotométricos:

1. *Amplio campo de aplicación:* Como ya se ha mencionado, son muchas las especies que son activas en la región del ultravioleta y visible, y por ello susceptibles de cuantificación.

Son muchas más las que con un tratamiento adecuado son capaces de formar especies coloreadas.

2. *Alta sensibilidad*: Las absorptividades molares de 10000-40000 son habituales, especialmente para los complejos de transferencia de carga. En consecuencia, es posible el análisis para concentraciones dentro del intervalo de 10^{-4} - 10^{-5} M o incluso más bajas.

3. *Selectividad moderada-alta*: Aunque no es muy común (se suele encontrar una longitud de onda en la que el único componente absorbente de una muestra sea la sustancia que se determina) sí es posible tener interferencias en UV-Visible. Cuando esto ocurre, es posible emplear los métodos para análisis de multicomponentes, omitiendo así en muchos casos la separación de los interferentes.

3. *Buena precisión*: En estas técnicas espectroscópicas es normal tener errores relativos del 1 al 3 %, por lo cual se puede considerar que se tendrán resultados analíticos con una incertidumbre mínima si se procede en la forma correcta.

4. *Facilidad y Conveniencia*: Aunque existen instrumentos altamente sofisticados acoplados a computadoras y con sistemas ópticos y electrónicos de alta precisión, es posible obtener resultados muy aceptables para análisis de rutina, con espectrofotómetros más sencillos a un costo muy accesible.

Procedimiento general: Los primeros pasos en un análisis espectrofotométrico consisten en establecer las condiciones de trabajo y preparar una curva de calibración que relacione concentración y absorbancia.

La elección de la longitud de onda es crucial y debe corresponder a un pico de absorción, porque el cambio de la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto y se obtiene la sensibilidad máxima, además de esperarse una buena adhesión a la ley de Beer.

Es también importante conocer los efectos de variables como el pH, temperatura, naturaleza del disolvente y escoger un conjunto de condiciones analíticas adecuadas para que su influencia sea minimizada. Una vez elegidas estas condiciones hay que preparar una curva de calibración a partir de disoluciones patrón. Estos patrones de deben aproximar a la composición de las muestras reales y abarcar una escala razonable de concentración de las especies a determinar. Por último, la limpieza y manejo adecuado de las celdas es fundamental en cualquier análisis cuantitativo.

A continuación se recoge un resumen de los métodos instrumentales aplicados al análisis de aguas, en el que se aprecia la importancia de las determinaciones por medidas de absorción. En un documento anexo se presenta el método para la determinación de fósforo total por espectrofotometría.

Métodos instrumentales empleados en análisis de aguas

ELECTRODOS SELECTIVOS H^+ , NH_4^+ , Cd^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , K^+ , Ag^+ , Na^+ , iones totales monovalentes, iones totales divalentes, Br^- , Cl^- , CN^- , F^- , I^- , NO_3^- , ClO_4^- , S^{2-}

ESPECTROFOTOMETRIA Aniones, sílice, nitrógeno Kjeldahl, ácido sulfhídrico, fósforo, flúor, hierro, manganeso, cobre, cinc, aluminio, cromo, amonio, cloro residual, fenoles, tensioactivos, DQO

FOTOMETRIA DE LLAMA Sodio, potasio, litio, estroncio

ABSORCION ATOMICA Metales

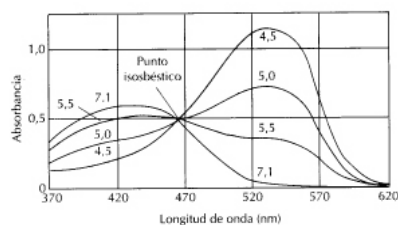
ICP Metales

CROMATOGRAFIA IONICA Br^- , Cl^- , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}

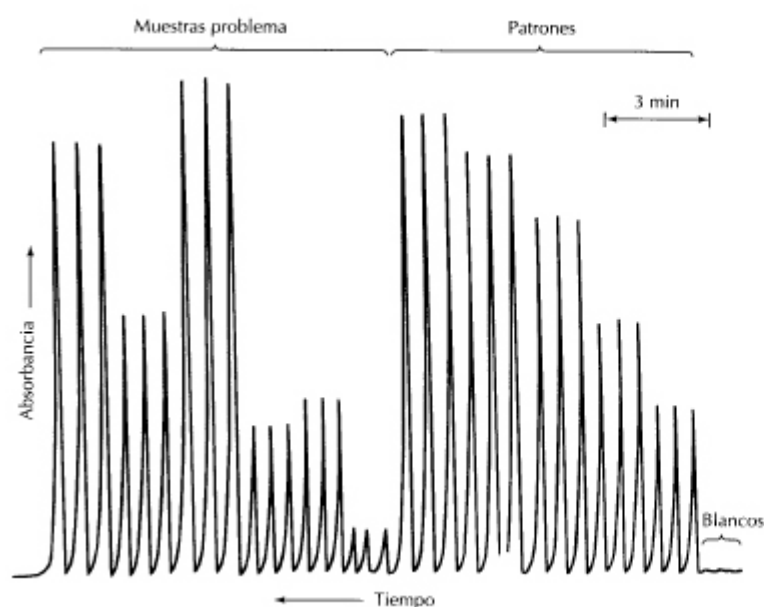
CROMATOGRAFIA DE GASES CG, CG-EM o HPLC Plaguicidas, hidrocarburos aromáticos

Otras aplicaciones:

Además del análisis de mezclas ya mencionado, la espectroscopia de absorción presenta algunas aplicaciones interesantes, como son la determinación de la constante de equilibrio o el estudio de puntos isobésticos. Con frecuencia una especie absorbente, X, se convierte en otra especie absorbente, Y, durante el curso de una reacción química. Esta transformación implica un comportamiento característico, muy obvio, que se muestra en la figura siguiente. Si los espectros de los componentes puros X e Y se cruzan a una longitud de onda, cualquier espectro registrado durante esta reacción pasará por ese mismo punto, que se llama **punto isobéstico**. *La observación de éste durante una reacción química es una buena prueba de que sólo existen dos especies principales*



También son de gran aplicación las valoraciones espectrofotométricas y el análisis por inyección en flujo. Éste se basa en inyectar una muestra a una corriente de líquido en movimiento que contiene los reactivos, y se caracteriza por ser un análisis rápido y fácilmente repetitivo. Después de un tiempo la muestra que ya ha reaccionado llega al detector, que suele ser una celda espectrofotométrica. Este método se usa mucho en análisis de aguas, análisis médicos y farmacéuticos, así como en control de procesos industriales. La siguiente figura muestra patrones y muestras analizadas por triplicado para medir el contenido de etanol en bebidas, utilizándose una reacción enzimática que genera un producto coloreado.



Bibliografía

- Hollas, M. J. *"Modern Spectroscopy"* Ed. J. Wiley, New York (1987).
- Harris, D. C. . *"Análisis Químico Cuantitativo"* Ed. Reverté, Barcelona (2001).
- Olsen, E. D. *"Métodos Ópticos de Análisis"* Ed. Reverté, Barcelona (1986).
- Skoog, D. A. y West, D. M. *"Análisis Instrumental"* Ed. Interamericana, México (1989).