**María del Rosario Aguilar Cruz**

**Juan Antonio Solís Carrera**

**Práctica 4.- Espectrofotómetro**

**Datos del Espectrofotómetro**

**Marca: Spectronic 20**

**No. de serie: 0028568**

El espectrofotómetro es un instrumento basado en la técnica de espectroscopía de absorción molecular, basado en la ley de Lambert-Beer. En esta práctica se realizó la exploración de cada una de las partes que componen al instrumento comenzando con conocer la función que tiene cada una de las perillas, continuando por ubicar las partes internas y el funcionamiento de cada una de ellas como se ha visto en la teoría. Posteriormente se obtuvo el espectro de absorbancia y transmitancia al aplicar un filtro de didimio (material de referencia certificado).

Se retiro la carcasa del equipo, para esto fueron retiradas las perillas y el contenedor del espectrofotómetro, en la Tabla 1 se muestran las partes del espectrofotómetro tanto internas como externas.

Tabla 1.- Partes del espectrofotómetro

|  |  |
| --- | --- |
| Externas | |
| Galvanómetro | Indica el porcentaje de la transmitancia y absorbancia |
| Compartimiento para celda | Se coloca la celda, ya sea con el blanco o con la muestra a analizar, cuando se realiza la calibración del 0% se bloquea el paso de la luz con el obturador y cuando se realiza la calibración del 100% éste deja de obstruirla. |
| Perilla para seleccionar λ | Selecciona una longitud de onda desde un rango de 350 a 960 nm, con esta perilla se dirige el haz de luz a la ranura de salida. |
| Perilla para ajustar el 100% de Transmitancia | Se encarga de ajustar la intensidad de la luz que pasa por la muestra, moviendo en el interior una cuña. |
| Perilla para ajustar el 0% | La perilla sirve para encender o apagar el equipo, y para realizar el ajuste del cero |
| Internas | |
| Fuente de luz | Tiene una lámpara de Tugsteno, por lo tanto, trabaja en un rango visible. |
| Lentes que dirigen la luz | Se encargan de dirigir la luz de la lámpara hacia el monocromador |
| Monocromador | El monocromador se encarga de separar la luz en las diferentes longitudes de onda |
| Colimador | Dirige el haz con las longitudes separadas a la rendija de salida |
| Cuña | Es controlada por la perilla para el ajuste del 100% de transmitancia, mueve la cuña para controlar la intensidad del haz que pasara a través de la muestra |
| Muestra | Se coloca la muestra desconocida, o la solución blanco. Se utilizan celdas de vidrio circulares, con medidas de 100 mm de largo y 11.7 mm [1]. |
| Detector | Se utiliza un fototubo que trabaja en el rango visible, el número de electrones que son emitidos es directamente proporcional a la potencial radiante. |

En la Figura 1 se muestra el diagrama del instrumento, observando las partes externas que se muestran en la Tabla 1

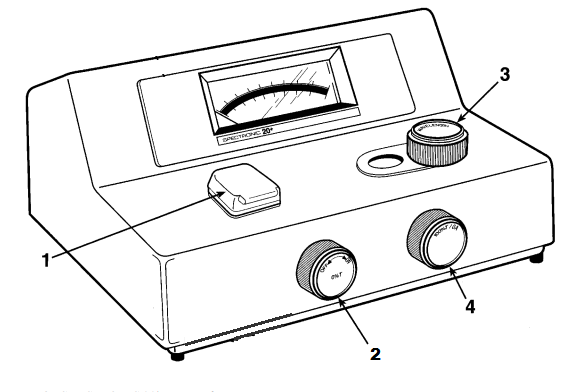


Figura 1.- Partes del espectrofotómetro. Adaptada de [1]

1. Contenedor de la muestra
2. On/Off y ajuste de 0%
3. Ajuste de longitud de onda
4. Ajuste de 100%

En la Figura 2 se muestra algunas de las partes internas (lámpara, detector)

Imagen que contiene texto

Descripción generada automáticamenteImagen que contiene interior, electrónica, pared

Descripción generada automáticamente

Figura 2.- Partes internas. Adaptada de [1]

1. Fotodiodo
2. Cable de conexión
3. Lámpara de Tugsteno
4. Monocromador
5. Cuña
6. Muestra

En la Figura 3 se muestra el diagrama óptico (recorrido que realiza el haz desde la lámpara hasta el detector)

Imagen que contiene texto, mapa

Descripción generada automáticamente

Figura 3.- Diagrama óptico del espectrofotómetro. Adaptado de [1]

Proceso de calibración:

1. Ajuste de 0% Transmitancia

No se colocó nada en el contenedor de la muestra, y se tiene bloqueado el haz a la altura de la muestra (Ver figura 3) con el obturador, esto permite que en el detector solo se mida la corriente oscura, con la perilla 2 de la figura 1 se ajusta a cero de transmitancia.

1. Ajuste de 100% Transmitancia

Se colocó una celda con agua destilada, esto provoca que se retire el obturador y el haz pueda atravesar la celda, por lo tanto, el detector mide la cantidad de luz que atraviesa la muestra.

Se obtuvo el espectro de transmitancia con un material de referencia certificado (filtro de óxido de didimio) que trabaja en un rango de longitud de onda 440 a 880 nm [2], como se muestra en la figura 5, la transmitancia cambia dependiendo de la longitud de onda, por lo tanto, se realizó el proceso de calibración mencionado anteriormente en cada paso de longitud de onda, después de calibrar se introduce el filtro de didimio.

Se tomaron 110 mediciones de transmitancia, desde una longitud de onda de 335 a 880 nm con un paso de 5 nm, midiendo el valor del porcentaje de transmitancia y el voltaje de salida, en la figura 4 se muestra el puerto de salida del voltaje.

Imagen que contiene texto, mapa

Descripción generada automáticamente

Figura 4.- Puerto de salida del voltaje

Imagen que contiene captura de pantalla

Descripción generada automáticamente

Figura 5.- Espectro de absorbancia de filtro didimio [3]

Figura 6.- Espectro de absorbancia y transmitancia obtenido

El espectrofotómetro nos indicaba el valor de Transmitancia (%) en cada longitud de onda, por lo tanto, se dividió entre 100, para obtener la Absorbancia se utilizo la siguiente relación, de acuerdo con la ley de Lambert-Beer

Como se puede observar en el espectro de absorbancia de la Figura 5 comparado con el obtenido de forma experimental de la Figura 6 son bastante similares, aunque existen algunas variaciones en las longitudes mayores a los 750 nm, se pierde un poco el patrón que debería de tener, esto se puede deber a que no estuviera correctamente calibrado el espectrofotómetro o que no alcance a tener una buena respuesta a longitudes de onda altas debido a que trabaja en el rango visible (380-780nm).

Para una transmitancia de 0% se obtuvo un valor de voltaje de -0.003 V, mientras que para el 100% de transmitancia se obtuvo 0.93 V. Todos los datos obtenidos se muestran en la tabla 2.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Longitud de onda | Voltaje (V) | Transmitancia (T%) | Transmitancia (T) | Absorbancia (A) |
| 335 | 0.186 | 20 | 0.2 | 0.631 |
| 340 | 0.143 | 16 | 0.16 | 0.692 |
| 345 | 0.14 | 16 | 0.16 | 0.692 |
| 350 | 0.165 | 18 | 0.18 | 0.661 |
| 355 | 0.2 | 22 | 0.22 | 0.603 |
| 360 | 0.279 | 31 | 0.31 | 0.490 |
| 365 | 0.368 | 41 | 0.41 | 0.389 |
| 370 | 0.467 | 52 | 0.52 | 0.302 |
| 375 | 0.525 | 58 | 0.58 | 0.263 |
| 380 | 0.582 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 385 | 0.725 | 80 | 0.8 | 0.158 |
| 390 | 0.649 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 395 | 0.674 | 75 | 0.75 | 0.178 |
| 400 | 0.687 | 76 | 0.76 | 0.174 |
| 405 | 0.696 | 78 | 0.78 | 0.166 |
| 410 | 0.701 | 78 | 0.78 | 0.166 |
| 415 | 0.689 | 77 | 0.77 | 0.170 |
| 420 | 0.662 | 73 | 0.73 | 0.186 |
| 425 | 0.618 | 68 | 0.68 | 0.209 |
| 430 | 0.54 | 60 | 0.6 | 0.251 |
| 435 | 0.486 | 54 | 0.54 | 0.288 |
| 440 | 0.467 | 51 | 0.51 | 0.309 |
| 445 | 0.45 | 50 | 0.5 | 0.316 |
| 450 | 0.459 | 51 | 0.51 | 0.309 |
| 455 | 0.466 | 52 | 0.52 | 0.302 |
| 460 | 0.465 | 52 | 0.52 | 0.302 |
| 465 | 0.447 | 50 | 0.5 | 0.316 |
| 470 | 0.44 | 49 | 0.49 | 0.324 |
| 475 | 0.448 | 50 | 0.5 | 0.316 |
| 480 | 0.48 | 53 | 0.53 | 0.295 |
| 485 | 0.528 | 59 | 0.59 | 0.257 |
| 490 | 0.575 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 495 | 0.579 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 500 | 0.555 | 62 | 0.62 | 0.240 |
| 505 | 0.508 | 56 | 0.56 | 0.275 |
| 510 | 0.454 | 51 | 0.51 | 0.309 |
| 515 | 0.411 | 46 | 0.46 | 0.347 |
| 520 | 0.36 | 40 | 0.4 | 0.398 |
| 525 | 0.343 | 38 | 0.38 | 0.417 |
| 530 | 0.365 | 41 | 0.41 | 0.389 |
| 535 | 0.432 | 48 | 0.48 | 0.331 |
| 540 | 0.496 | 55 | 0.55 | 0.282 |
| 545 | 0.592 | 66 | 0.66 | 0.219 |
| 550 | 0.639 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 555 | 0.63 | 70 | 0.7 | 0.200 |
| 560 | 0.574 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 565 | 0.454 | 50 | 0.5 | 0.316 |
| 570 | 0.33 | 32 | 0.32 | 0.479 |
| 575 | 0.184 | 21 | 0.21 | 0.617 |
| 580 | 0.109 | 12 | 0.12 | 0.759 |
| 585 | 0.066 | 9 | 0.09 | 0.813 |
| 590 | 0.077 | 9 | 0.09 | 0.813 |
| 595 | 0.12 | 13 | 0.13 | 0.741 |
| 600 | 0.197 | 22 | 0.22 | 0.603 |
| 605 | 0.289 | 32 | 0.32 | 0.479 |
| 610 | 0.381 | 42 | 0.42 | 0.380 |
| 615 | 0.487 | 54 | 0.54 | 0.288 |
| 620 | 0.57 | 63 | 0.63 | 0.234 |
| 625 | 0.624 | 69 | 0.69 | 0.204 |
| 630 | 0.642 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 635 | 0.648 | 72 | 0.72 | 0.191 |
| 640 | 0.644 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 645 | 0.638 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 650 | 0.626 | 70 | 0.7 | 0.200 |
| 655 | 0.639 | 67 | 0.67 | 0.214 |
| 660 | 0.582 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 665 | 0.551 | 62 | 0.62 | 0.240 |
| 670 | 0.522 | 58 | 0.58 | 0.263 |
| 675 | 0.48 | 54 | 0.54 | 0.288 |
| 680 | 0.442 | 49 | 0.49 | 0.324 |
| 685 | 0.398 | 44 | 0.44 | 0.363 |
| 690 | 0.378 | 43 | 0.43 | 0.372 |
| 695 | 0.355 | 40 | 0.4 | 0.398 |
| 700 | 0.341 | 38 | 0.38 | 0.417 |
| 705 | 0.313 | 35 | 0.35 | 0.447 |
| 710 | 0.309 | 35 | 0.35 | 0.447 |
| 715 | 0.303 | 34 | 0.34 | 0.457 |
| 720 | 0.317 | 35 | 0.35 | 0.447 |
| 725 | 0.346 | 39 | 0.39 | 0.407 |
| 730 | 0.369 | 41 | 0.41 | 0.389 |
| 735 | 0.408 | 46 | 0.46 | 0.347 |
| 740 | 0.438 | 49 | 0.49 | 0.324 |
| 745 | 0.46 | 51 | 0.51 | 0.309 |
| 750 | 0.484 | 54 | 0.54 | 0.288 |
| 755 | 0.517 | 58 | 0.58 | 0.263 |
| 760 | 0.538 | 60 | 0.6 | 0.251 |
| 765 | 0.556 | 62 | 0.62 | 0.240 |
| 770 | 0.571 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 775 | 0.597 | 67 | 0.67 | 0.214 |
| 780 | 0.603 | 67 | 0.67 | 0.214 |
| 785 | 0.613 | 69 | 0.69 | 0.204 |
| 790 | 0.62 | 69 | 0.69 | 0.204 |
| 795 | 0.632 | 70 | 0.7 | 0.200 |
| 800 | 0.639 | 71 | 0.71 | 0.195 |
| 805 | 0.65 | 72 | 0.72 | 0.191 |
| 810 | 0.658 | 73 | 0.73 | 0.186 |
| 815 | 0.664 | 74 | 0.74 | 0.182 |
| 820 | 0.67 | 74 | 0.74 | 0.182 |
| 825 | 0.672 | 75 | 0.75 | 0.178 |
| 830 | 0.67 | 75 | 0.75 | 0.178 |
| 835 | 0.669 | 75 | 0.75 | 0.178 |
| 840 | 0.663 | 74 | 0.74 | 0.182 |
| 845 | 0.644 | 72 | 0.72 | 0.191 |
| 850 | 0.619 | 69 | 0.69 | 0.204 |
| 855 | 0.571 | 64 | 0.64 | 0.229 |
| 860 | 0.525 | 59 | 0.59 | 0.257 |
| 865 | 0.487 | 54 | 0.54 | 0.288 |
| 870 | 0.453 | 50 | 0.5 | 0.316 |
| 875 | 0.429 | 48 | 0.48 | 0.331 |
| 880 | 0.413 | 46 | 0.46 | 0.347 |

Bibliografía:

1. *SPECTRONIC 20+ SERIES Spectropotometers, 200.* Consultado el 25/10/19 de <<http://photos.labwrench.com/equipmentManuals/1726-1828.pdf>>
2. CENAM, *Guía Técnica de Trazabilidad e Incertidumbre en los Servicios de Calibración de Espectrofotómetros UV-Vis,* México, abril 2014. Consultado el 25/10/19 de <<https://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/pdf/pdf_calibracion/CALIBRACION_Espectrofotometros_UV.pdf>>
3. Teknokroma, *Vidrio de Óxido de Didimio.* Consultado el 25/10/19 de <<http://www.teknokroma.es/es/Productos/espectroscopia/10/ultravioleta-visible-uv-vis/104/2065/vidrio-de-oxido-de-didimio.aspx>>