



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Espectrometría

Objeto de Estudio N° 4

LECTURA N° 6

ESPECTROMETRÍA VISIBLE Y ULTRAVIOLETA

Bibliografía:

SKOOG, D.A.; Leary J.J., Holler F. James; PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL, 5° ed.; Ed. McGraw-Hill (1998), págs. 353-367.

Facultad de Ciencias Químicas

ESPECTROSCOPIA VISIBLE Y ULTRAVIOLETA

ESPECTROSCOPIA VISIBLE

La espectroscopia visible es una de las técnicas más ampliamente y más frecuentemente empleadas en el análisis químico.

Para que una sustancia sea activa en el visible debe ser colorida: el que una sustancia tenga color, es debido a que absorbe ciertas frecuencias o longitudes de onda del espectro visible y transmite otras más. Por ejemplo: una solución es amarilla debido a que dentro de la región visible absorbe radiación en el rango de 435 a 480 nm. En este rango de longitud de onda se encuentra el color azul del visible, por lo que este compuesto absorbe el color azul y transmite los colores complementarios que dan origen al color amarillo de la solución mencionada.

La absorción y transmisión de las longitudes de onda de la región visible de esta parte del espectro no es la misma en sustancias que den diferentes tonalidades de amarillo, por lo que podemos tener una gama diferente de tonalidades como: amarillo canario, amarillo limón, amarillo pálido, etc.

La tabla I nos da una relación entre rango de longitudes de onda en que absorbe el compuesto, color absorbido y color observado o transmitido.

El Ultravioleta del vacío se considera aquella región comprendida de los 100 a los 190 nm. Se le llama así debido a que el nitrógeno atmosférico absorbe este tipo de radiación, por lo que se debe efectuar el vacío para poder excluir las absorbancias de este gas de las absorbancias del compuesto en estudio.

Las complicaciones técnicas asociadas al vacío necesario, además de la poca utilidad que se tiene en el Ultravioleta del vacío, han hecho que esta técnica prácticamente no tenga uso y de hecho no hay equipos disponibles comercialmente para aplicaciones de este tipo de espectroscopia. El espectro Visible y Ultravioleta, por el contrario, tienen amplia aplicación y son técnicas que se emplean continuamente.

El rango visible se considera de los 380 a los 750 nm. El rango del Ultravioleta cercano o del Cuarzo es de 190 a 380 nm.

La base de la espectroscopia Visible y Ultravioleta consiste en medir la intensidad del color (o de la radiación absorbida en UV) a una longitud de onda específica comparándola con otras soluciones de concentración conocida (soluciones estándar) que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Beer, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.

La coloración de la solución se debe a la especie absorbente y esta coloración puede ser natural o inducida. La coloración natural puede ser la base de la cuantificación de una especie, como por ejemplo: la clorofila en ciertas plantas, los complejos metálicos que se encuentran presentes en solución acuosa, como son los iones de Cobre (II), Manganeseo (VII), Cobalto (III), etc.

Tabla 1: Diferentes regiones del espectro Ultravioleta y visible y sus rangos o zonas comprendidas.

Rango de longitudes de Onda (nm)	Color absorbido	Color Transmitido (Observado)
100-190	Ultravioleta del vacío	Ninguno
190-380	Ultravioleta Cercano	Ninguno
380-435	Violeta	Amarillo-Verde
435-480	Azul	Amarillo
480-500	Verde-Azul	Naranja-Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarillo-Verde	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Verde-Azul
650-780	Rojo	Azul-Verde

Más frecuentemente, se induce a la formación de un complejo colorido que absorba en el visible, y que sea específico para el elemento o compuesto que se desea cuantificar colorimétricamente. Ejemplo: la formación de un complejo colorido cuando el cloro libre reacciona con la ortotoluidina, o la cuantificación de glucosa en la sangre y orina por la acción del molibdato en determinadas condiciones, o la intensificación del color del ion cobre, al formar un complejo amoniacal-cobre, el cual se forma cuando a una solución acuosa que contiene iones cobre se le agrega hidróxido de amonio.

Para esto se requiere de un control de ciertas condiciones, que inhiben o favorecen la formación de compuestos coloridos:

pH: El pH es un factor determinante en la formación de ciertos complejos o compuestos coloridos. Cuando el pH influye en la técnica analítica, se requiere de un control adecuado de este valor para lo cual se agrega alguna solución buffer, o estabilizador de pH.

Temperatura: La temperatura es factor importante, sobre todo en reacciones en las cuales el factor cinético es la base del análisis.

Tiempo: En ciertas reacciones, se requiere de un tiempo determinado para que se tenga una lectura estable de absorbancia de la solución producida.

Es también factible que los complejos o compuestos formados sean lábiles, estos es que después de un cierto tiempo se descompongan a otros productos diferentes, por lo que el tiempo indicado al que debe hacerse la lectura debe establecerse con base a la experiencia y los resultados que se tengan.

Las técnicas analíticas UV-Visible han recibido gran aceptación debido, entre otras a las siguientes razones:

1. *Amplio campo de aplicación:* Como ya se ha mencionado, las técnicas espectroscópicas UV-Vis., son ampliamente empleadas ya que son muchas las especies que son activas en el Visible, y muchas más las que con un tratamiento adecuado son capaces de formar especies coloridas. Lo mismo puede decirse de la espectroscopia UV.
2. *Selectividad adecuada:* Aunque no es muy común si es posible tener interferencias en UV-Visible. Cuando esto ocurre, es posible emplear los métodos para análisis de multicomponentes. Otra alternativa es aislar el analito de la interferencia, o separa la interferencia misma.
3. *Buena Exactitud y 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 un mínimo de incertidumbre 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 instrumentos o espectrofotómetros de los más sencillos en el mercado, a un costo muy accesible.

A continuación se analiza con más detalle los fundamentos teóricos de la espectroscopia Visible y Ultravioleta.

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

El espectro Ultravioleta y Visible de las moléculas está asociado a transiciones electrónicas entre los diferentes niveles energéticos en ciertos grupos o átomos de la molécula y no caracterizan a la molécula como entidad.

En contraste la absorción de energía en la región Infrarroja estimulan la molécula completa y causa cambios vibracionales y rotacionales en esta lo cual caracteriza la entidad estructural de dicha molécula.

Los grupos de átomos que dan origen a la absorción en el UV cercano o UV de cuarzo, se conocen como grupos cromóforos. La mayoría de los grupos insaturados y heteroatómicos que tienen pares de electrones no compartidos, son cromóforos potenciales y estos grupos son la base de la elucidación de grupos estructurales en las moléculas activas en el UV cercano.

TEORIA DE ORBITALES MOLECULARES.- Cuando dos átomos forman un enlace químico, los orbitales atómicos de cada uno de ellos se combinan para formar dos orbitales moleculares, uno de baja energía que es el orbital enlazante y otro de energía mayor, que es el orbital antienlazante (Figura 1). Los enlaces covalentes que se originan entre los orbitales de dos átomos que se enlazan químicamente pueden ser de dos tipos y se conocen como enlaces σ y enlaces π .

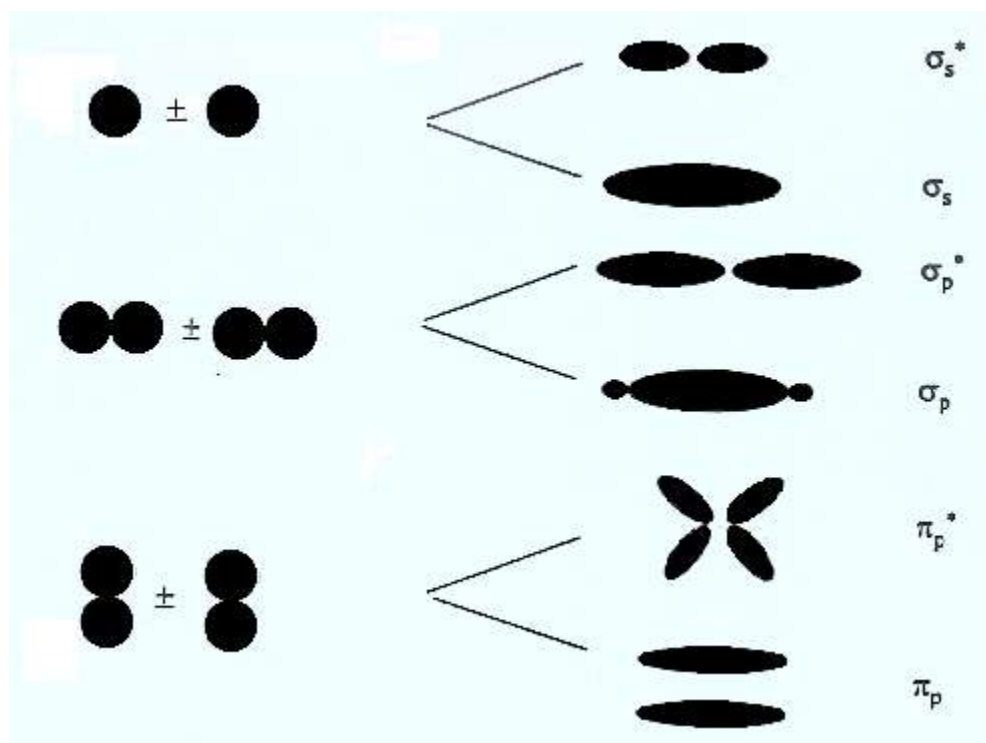


Figura 1: Formación de los orbitales σ y σ^* por traslapamiento frontal de dos orbitales atómicos s y p, así como enlaces π y π^* por traslapamiento lateral de los orbitales p.

Al efectuarse dicho enlace covalente se forman simultáneamente orbitales antienlazantes: σ^* en el caso de un orbital molecular enlazante σ y π^* en el caso de un orbital molecular enlazante π .

Los electrones que no participan en la formación de enlaces covalentes en la molécula, se denominan electrones *n* o no enlazantes. En las moléculas orgánicas los electrones *n* están localizados principalmente en los orbitales atómicos de átomos como: Nitrógeno, Oxígeno, Azufre y del grupo de los halógenos.

El diagrama de energía para los orbitales moleculares enlazante, antienlazante y no enlazante así como las transiciones electrónicas posibles es el mostrado en la Figura 2.

La absorción de energía radiante en el Ultravioleta o Visible por los electrones *n*, σ ó π resulta en la excitación de éstos, los cuales pasan a ocupar alguno de los orbitales

antienlazantes. La absorción de radiación Ultravioleta o Visible es capaz de efectuar dichas transiciones.

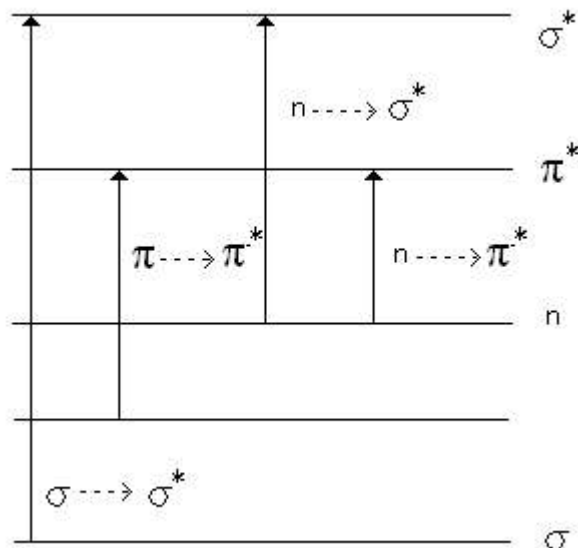


Figura 2: Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles en éstos.

En la Figura 2 se representan las transiciones posibles en una molécula. De acuerdo a este diagrama el orden energético en estas transiciones el de mayor energía es $\sigma \rightarrow \sigma^*$ y el de menor energía $n \rightarrow \pi^*$.

Mientras mayor sea la energía requerida para una determinada transición, menor es la longitud de onda de la radiación que debe suministrarse para conseguir tal fin; por ejemplo: la transición $\sigma \rightarrow \sigma^*$ para el propano requiere de radiación de 135 nm, la cual se encuentra en la región del Ultravioleta lejano por lo que es necesario un equipo de alto vacío si se desea estudiar dicha región del espectro. La transición $n \rightarrow \pi^*$ es la que requiere de menor energía y mayor longitud de onda. Las cetonas y aldehídos saturados efectúan esta transición a una longitud de onda de aproximadamente 285 nm.

Es necesario hacer notar que asociado a estas transiciones electrónicas existen cambios rotacionales y vibracionales en la molécula lo cual origina que el espectro obtenido se aun espectro de bandas y no un espectro de una o más líneas agudas, como sí ocurre en un átomo.

ESPECTRO ELECTRÓNICO.- Algunos términos utilizados muy frecuentemente en espectroscopia UV y Visible son: cromóforo, auxocromo, efecto batocrómico y efecto hipsocrómico.

La mayoría de las aplicaciones de la espectroscopía de absorción a compuestos orgánicos se basa en transiciones de electrones n ó π al estado excitado π^* , ya que las energías que se requieren para estos procesos conducen a picos en una región espectral conveniente experimentalmente (200-700 nm), ambas transiciones requieren la presencia de un grupo funcional que suministre los orbitales π .Hablando estrictamente, es a estos centros absorbentes insaturados a los que se les aplica el término **CROMÓFORO**.

AUXOCROMO.- Es un grupo funcional que no absorbe por si solo en la región del ultravioleta pero tiene en efecto de desplazar los picos de los cromóforos hacia longitudes de onda largas, además de aumentar su intensidad.

Los picos asociados a transiciones $n \rightarrow \pi^*$ se desplazan , generalmente, hacia longitudes de onda mas cortas (un desplazamiento hacia el azul) a medida que aumenta la polaridad del disolvente. Este efecto se conoce como **efecto hipsocrómico**

En los sistemas en que son posibles transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, el estado excitado es más polar que el estado basal; como resultado de esto, la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ ocurrirá a mayores longitudes de onda en solventes polares que en solventes no polares. Este desplazamiento hacia el rojo del espectro visible se conoce como **efecto batocrómico**.

DISOLVENTES.- Las consideraciones que se tienen que hacer al elegir un disolvente no solo con respecto a su transparencia, sino también respecto a sus posibles efectos sobre el sistema absorbente. Normalmente, los disolventes polares tales como el agua, alcoholes, ésteres y cetonas tienden a eliminar la estructura **fin** del espectro como resultado de los efectos vibracionales. Se observan más fácilmente en disolventes no polares como los hidrocarburos. Además, las posiciones de los máximos de absorbancia están afectados por la naturaleza del disolvente.

Entre los disolventes comunes para espectroscopia UV se incluyen el agua, el etanol del 95%, el ciclohexano y el 1,4 dioxano.

El disolvente no debe absorber radiación en las bandas de estudio , de ahí la importancia de conocer las transiciones electrónicas de un disolvente.

INTERPRETACIÓN Y USOS DE LA ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.- El espectro Ultravioleta de una molécula se obtiene generalmente en forma adicional al espectro infrarrojo de la misma especie. Este espectro IR frecuentemente sirve como dato confirmativo de la ausencia o presencia de ciertos grupos funcionales.

En algunos casos la espectroscopia UV puede ser fundamental para el estudio de ciertos problemas específicos. Por ejemplo en la industria de los cosméticos, tintes, colorantes y pinturas. El estudio de los grupos auxocromos y de su influencia en el desplazamiento de ciertos compuestos químicos hacia la región visible hacen de esta técnica una de las de mayor interés en ésta área.

Desde el punto de vista del estudio estereoquímico y de grupos funcionales en una molécula orgánica, la espectroscopia UV no rivaliza con otras técnicas que tienen el mismo propósito, especialmente con la espectroscopia IR por las razones mencionadas anteriormente, sin embargo su aplicación en la cuantificación de sustancias que absorben radiación UV la hacen una técnica insustituible.

Existe un gran número de técnicas para determinar sustancias que no tienen un número suficiente de grupos cromóforos para que la banda de absorción esté dentro del espectro Visible; por ejemplo ácidos orgánicos, alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, etc. Muchos de este tipo de compuestos muestran al menos una banda de absorción en el UV cercano y tomando como dato su longitud de onda de máxima absorbancia se pueden cuantificar en la misma forma en que se determina compuestos en espectroscopia Visible.

Es posible determinar un gran número de sustancias como son: ácido ascórbico, fructuosa, glicerol, ácido 1-glutámico, lactosa, galactosa, maltosa, glucosa, rafinosa, d-sorbitol, etanol, ácido acético, etc. Estas técnicas analíticas son de múltiples aplicaciones en bioquímica general y bioquímica de alimentos, y esta es la razón de su importancia. En Química Clínica también son muy utilizados los métodos de espectroscopia UV.