

# Determinación de la concentración de RhB y ZnTPP en una solución a partir de su espectro de absorción\*

Juan Sebastián Parada  
*Universidad de Los Andes*

Daniel Forero  
*Universidad de Los Andes*  
(Dated: 26 de noviembre de 2017)

La obtención de la concentración de una muestra con una cantidad de soluto desconocida es posible gracias a un análisis del espectro de absorción. En este texto se presenta un trabajo experimental encaminado a encontrar una relación entre los valores máximos del espectro de absorción y la concentración de muestras de Zinc tetrafenilporfirina (ZnTPP) diluida en tolueno y rodamina B (RhB) diluida en metanol. El resultado es una relación lineal que permite conocer la concentración de una muestra de estas sustancias conociendo únicamente los valores máximos de absorbancia en sus espectros.

## I. INTRODUCCIÓN

Una medición precisa de la concentración es vital en cualquier proceso relacionado con reacciones químicas. Sin embargo, en numerosas ocasiones es necesario determinar la concentración de soluciones arbitrarias de sustancias sin conocer la cantidad de soluto. Por lo tanto, la medición de la concentración se debe llevar a cabo mediante procesos indirectos. Por ejemplo, se ha determinado la concentración en muestras a partir de fluorescencia [1], fosforescencia [2], interferometría [3], difracción [4] y espectros de radiación [5].

Lo anterior es una motivación para este trabajo, cuyo principal objetivo es determinar una relación entre el espectro de absorción y la concentración en muestras de Zinc tetrafenilporfirina (ZnTPP) diluida en tolueno y rodamina B (RhB) diluida en metanol. Para ello, se obtienen espectros de absorción correspondientes a múltiples concentraciones de estas muestras con un espectrofotómetro. Para cada concentración se obtiene un espectro distinto y, por lo tanto, valores máximos de absorbancia únicos. Al comparar espectros de absorción obtenidos con concentraciones distintas, se encuentra una relación entre los valores máximos de absorbancia y las concentraciones correspondientes. Establecida esta relación, es posible calcular la concentración de una muestra arbitraria conociendo los valores máximos de absorbancia en su espectro, es decir, será posible encontrar la concentración conociendo únicamente el espectro de absorción.

El método de medición de la concentración a partir del espectro de absorción es ampliamente utilizado actualmente. Estudios de óptica cuántica [6], química [7], medicina [8, 9], bioquímica [10, 11] y fotoquímica [12] implementan esta metodología para estudiar la variación de la concentración y de la absorbancia en múltiples sustancias.

Para exponer el trabajo realizado, en la sección II de este texto se presentan los conceptos teóricos en los cuales se basa el experimento realizado. Posteriormente, en la sección III se expone el montaje experimental implementado, describiendo los procesos llevados a cabo y los instrumentos utilizados. Después, en la sección IV se presentan los resultados obtenidos y, finalmente, en la sección V se exponen las distintas conclusiones que se pueden extraer a partir de el trabajo realizado. Al final del documento se incluye la sección A para describir algunos problemas que se presentaron durante la obtención de los espectros de absorción.

## II. MARCO TEÓRICO

Para realizar un análisis detallado de la concentración y de los espectros de absorbancia, en esta sección se presentan algunas definiciones teóricas que facilitan la comprensión de los fenómenos a trabajar experimentalmente.

### A. Concentración molar

La concentración molar de una sustancia en una solución es el número de moles de la sustancia que existe en el volumen total de la solución. La concentración molar  $c$  también se denomina molaridad y se puede expresar como

$$c = \frac{n}{V}, \quad (1)$$

donde  $n$  es el número de moles de soluto y  $V$  es el volumen total de la solución medido en litros.

Las unidades de la molaridad son las moles por litro ( $\text{mol L}^{-1}$ ), que se denota como  $M$  (denominada molar), es decir,

$$M = \frac{\text{mol}}{L}. \quad (2)$$

---

\* [https://github.com/dforero0896/Laboratorio\\_Intermedio/tree/master/Proyecto](https://github.com/dforero0896/Laboratorio_Intermedio/tree/master/Proyecto)

Como la cantidad de moles de una sustancia se relacionan con la masa mediante la masa molar, es posible utilizar la ecuación 1 para determinar la masa de soluto necesaria para obtener una solución [13].

### B. Absorbancia

La absorbancia es el logaritmo de la proporción entre la intensidad de radiación incidente y transmitida a través de una muestra. Matemáticamente, esta relación se escribe

$$A = \log \left( \frac{I_0}{I} \right), \quad (3)$$

donde  $A$  es la absorbancia,  $I$  es la intensidad de la radiación incidente y  $I_0$  corresponde a la intensidad de la radiación transmitida a través de la muestra.

La transmitancia  $T$  se define como la proporción entre la radiación transmitida y la radiación incidente [14], es decir,

$$T = \frac{I}{I_0}. \quad (4)$$

Por lo tanto, la absorbancia se relaciona con la transmitancia  $T$  mediante la relación

$$A = -\log T. \quad (5)$$

La absorbancia es una cantidad adimensional y es una medida de la cantidad de luz que es absorbida al pasar a través de una muestra [15].

### C. Ley de Beer-Lambert

En 1729, Pierre Bouguer descubrió una relación entre la atenuación de la luz y el material a través del cual la luz viaja, conocida como la ley de Beer-Lambert [16]. Posteriormente, Johann Lambert citó el trabajo de Bouguer y estableció la ley de Lambert, según la cual la absorbancia de un material se incrementa con su grosor [17]. Posteriormente, August Beer descubre en 1852 que la absorbancia es proporcional a la concentración en una muestra de material, lo que se conoce como la ley de Beer [18]. A partir de las leyes de Lambert y Beer se establece una ley más general: la ley de Beer-Lambert. Esta ley combina las dos deducciones, es decir, establece una relación directamente proporcional entre la absorbancia y la concentración y grosor de una muestra de material. Esta ley permite la medición de la concentración de distintas sustancias a partir de espectros de absorción y es una práctica muy común en la ciencia.

Matemáticamente, la ley de Beer-Lambert se expresa a partir de la intensidad  $I$  que atraviesa una muestra

y la intensidad  $I_0$  de referencia. Como la ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una muestra varía linealmente con la concentración de la sustancia en ésta, el camino recorrido (ancho de la muestra) y la naturaleza de la sustancia en solución, se puede escribir la relación de proporcionalidad como

$$A = \epsilon cl, \quad (6)$$

donde  $\epsilon$  corresponde a absorptividad molar de la sustancia en solución,  $c$  es la concentración y  $l$  la longitud del camino recorrido.

### D. Espectrofotómetro

Un espectrofotómetro es un instrumento que mide la cantidad de fotones absorbidos al pasar a través de una muestra de solución. Este instrumento es ampliamente utilizado en análisis cuantitativos físicos, biológicos, químicos, clínicos e industriales [18]. Un espectrofotómetro está compuesto por un espectrómetro y un fotómetro. El espectrómetro se encarga de producir un rango deseado de longitud de onda de la luz. Para ello, un colimador transmite un haz de fotones que pasa a través de un monocromador (un prisma) para dividir el haz en distintas longitudes de onda. Después, un selector de longitud de onda transmite solo la longitud deseada. Por su parte, el fotómetro detecta la cantidad de fotones absorbidos por una muestra con la solución de interés. Esta señal se transmite a un galvanómetro, donde se puede observar la medición digital [18].

Para llevar a cabo este trabajo, se obtuvieron espectros de absorbancia mediante el espectrofotómetro *SPECORD 50 PLUS*. Este espectrofotómetro es un espectrofotómetro de doble rayo, caracterizado por dos compartimientos, a partir de los que se determina simultáneamente la energía absorbida por una matriz y la energía absorbida por una combinación entre la matriz y una sustancia de interés [19]. Esta característica le otorga una mayor estabilidad, ya que se pueden medir simultáneamente el haz que no atraviesa una muestra, junto con el haz que si la atraviesa. Lo anterior se logra gracias a la tecnología *Split-Beam* que divide el rayo antes de que entre en contacto con la muestra. Este espectrofotómetro se caracteriza por una buena proporción señal-ruido y contiene un filtro interno de óxido de holmio para la calibración automática de la longitud de onda.

## III. MONTAJE EXPERIMENTAL

En esta sección se revisarán los aspectos principales del experimento, es decir, el manejo del espectrofotómetro así como la preparación de las muestras necesarias.

### A. Manejo del Instrumento

Para este proyecto se utilizó el espectrofotómetro del Laboratorio de Nanomateriales *SPECORD 50 PLUS* de la Universidad de Los Andes, así como los compuestos Rhodamina B (RhB) y Tetrafenilporfina de zinc (ZnTPP) y sus respectivos solventes (metanol y tolueno) del laboratorio de óptica cuántica de la misma universidad.

El manejo del espectrofotómetro fue uno de los aspectos principales del proyecto, por lo tanto, se describirá, con un poco de detalle, su utilización.

En primer lugar, es necesario prender el instrumento con cierta antelación, de 10 a 20 minutos antes de abrir el software; lo anterior, con el fin de que las lámparas del espectrofotómetro estén a la temperatura adecuada y sea posible disminuir errores experimentales relacionados a la incertidumbre en la longitud de onda de la luz incidente. Posteriormente, se abre el software *WinAspect Plus* para realizar las mediciones. Es necesario revisar el archivo de parámetros, ya que en éste se definen, entre otros valores, el número de mediciones a realizar, las correcciones que se aplicarán, medida de referencia, en nuestro caso; y el intervalo, en longitud de onda, que se analizará. Este último es de gran importancia, ya que depende de la sustancia analizada, debido a que cada una tiene máximos de absorbancia a distintas longitudes de onda. Más adelante se darán detalles al respecto.

En tercer lugar se debe tomar la medida de referencia, que consiste en una medición del espectro del solvente únicamente, de forma que se pueda corregir el espectro de la sustancia en solución. Para esto se llena la cuña de cuarzo con 3 *mL* de solvente, se ubica dentro del espectrofotómetro y, en el software, se indica **Reference**.

Luego, se toma la medida de la solución en sí, que debe depositarse en la cuña de cuarzo previamente limpiada. Una vez puesta la muestra en su lugar, dentro del instrumento, se debe seleccionar **Start Measurement** en el software. Tras la medición, se muestra una ventana con los resultados en forma de gráfica, los cuales pueden ser guardados en un archivo *.dat* legible por el mismo software, o en nuestro caso, ser exportados a un archivo *.csv* para su posterior análisis en un programa escrito para este fin.

### B. Preparación de Muestras

Las muestras que se utilizaron en unas primeras mediciones fueron las existentes en el laboratorio de de óptica cuántica. No obstante, debido a que se presentaba saturación en la medición de absorbancia, fue necesaria la preparación de las muestras propias.

Para lo anterior se tomó una cierta cantidad de soluto y se disolvió. Posteriormente se fue agregando solvente tras cada medición, de forma que se tuvieran varias curvas de absorbancia. Para el caso de RhB se tomaron 1,1 *mg* de sustancia en 20 *mL* de solvente; para ZnTPP se toma-

ron 0,9 *mL* en la misma cantidad de solvente. Nuestro método experimental asegura que para una cierta curva, conocemos la concentración de la solución, de manera que podemos obtener una relación  $A(c)$  para cada sustancia.

## IV. RESULTADOS

En primer lugar se realizaron mediciones de algunas de las soluciones que se encontraron, previamente, en el laboratorio de óptica. En este caso, se obtienen las gráficas mostradas en las figuras 1 y 2.

Es de notar que en estas figuras la absorbancia se sa-

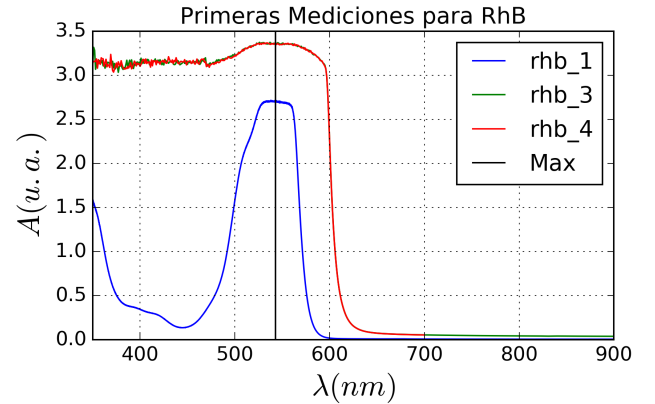


Figura 1. Primeras mediciones realizadas para RhB. Note que la medición se satura cerca de  $A = 3$ . Se muestra también la ubicación del máximo reportada en la literatura.

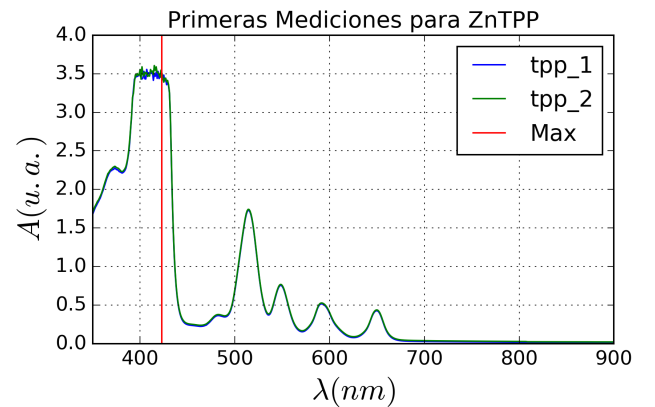


Figura 2. Primeras mediciones realizadas para ZnTPP. Note que la medición se satura cerca de  $A = 3$ . Se muestra también la ubicación del máximo reportada en la literatura.

tura al acercarse a un valor de 3 o 3.5. Por esta razón se decidió preparar muestras propias, de menor concentración, con el fin de calibrar la curva  $A(c)$  para cada sustancia. Se comenzó por preparar muestras de ZnTPP, utilizando 0,9 *mg* en 20 *mL* de tolueno. Posteriormente,

en la cuña de cuarzo, se extrajo la mitad del volumen de ésta (1,5 mL) con la pipeta. Este volumen se reemplaza por más tolueno, lo cual disminuye la concentración a la mitad. Los resultados de esta serie de mediciones se muestran en la figura 3.

Según la ley de Beer-Lambert, se espera que exista una

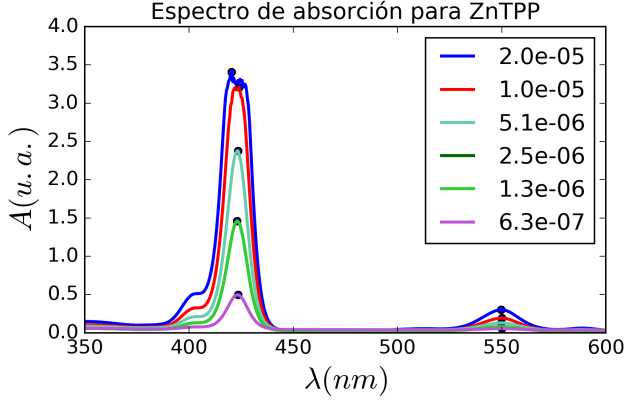


Figura 3. Espectros de absorbancia del ZnTPP para las distintas concentraciones molares mostradas. Note que los primeros dos espectros parecen estar saturados, como se vio anteriormente.

relación lineal entre los picos de absorción y la concentración de la solución, por lo tanto, se extrajeron los valores de dichos picos. Las curvas se numeran de menor a mayor según su concentración. Se denomina pico 1 el máximo absoluto y pico 2 el restante de los mostrados en la figura 3. Debido a la saturación en la medición de los primeros dos espectros de dicha figura, sus máximos fueron ignorados en el cálculo de la relación  $A(c)$  para esta sustancia. En la figura 4 se observa dicha relación. Las áreas rojas de las distintas figuras corresponden a la incertidumbre en el cálculo de la pendiente entregada por el programa, mientras que las barras de error son el error asociado a las mediciones de la masa de soluto y volumen de solvente.

Ya que tenemos a disposición otro máximo local en el espectro, el cual no presentó saturación en ningún caso, se lo utiliza para calcular otra relación y tener así más mediciones disponibles para la calibración. Estos resultados se muestran en la figura 5.

Note, además, que el valor del intercepto en la ecuación obtenida para el segundo máximo es mucho más cercano a cero que en el primer caso. Esto indica un resultado más satisfactorio, ya que la ley de Beer-Lambert indica un intercepto nulo. Se obtienen entonces las siguientes relaciones entre absorbancia y concentración en el caso del ZnTPP:

$$A(c) = (359863,22 \pm 109476,73)c + (0,59 \pm 0,31), \quad (7)$$

$$A(c) = (12249,87 \pm 627,98)c + (0,06 \pm 0,006). \quad (8)$$

Se recomienda la utilización de la ecuación 8.

Posteriormente se realizaron las mediciones del espectro

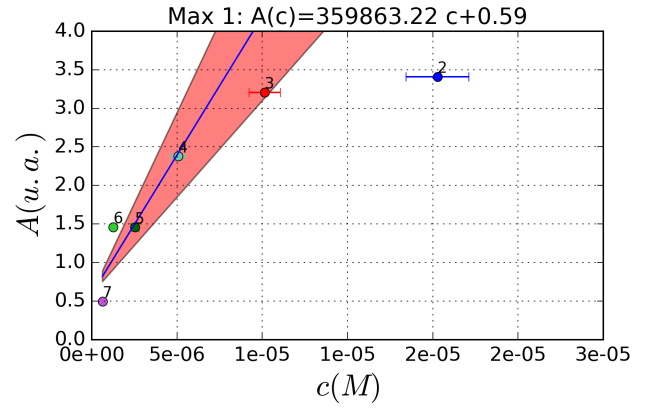


Figura 4. Relación entre el primer máximo de absorbancia y la concentración para el máximo absoluto del espectro correspondiente al ZnTPP. La numeración corresponde al orden en que se realizaron las medidas, así como orden decreciente de concentración.

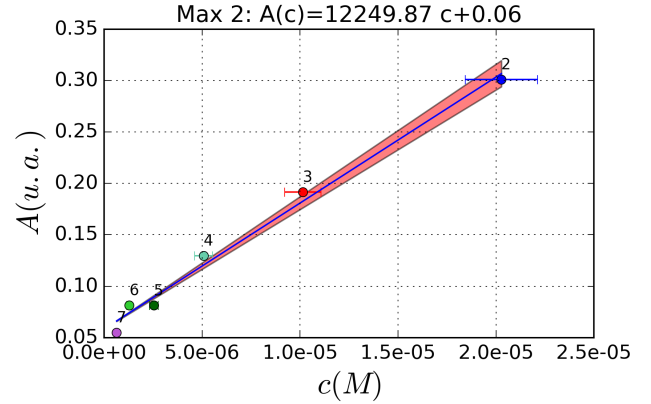


Figura 5. Relación entre el segundo máximo de absorbancia del espectro de ZnTPP y la concentración de la solución. En este caso no se ignoraron las dos primeras mediciones, ya que este pico no muestra saturación en estas.

de RhB, y se realizó un análisis similar. Los espectros se muestran en la figura 6.

En este caso, ya que se tienen tres distintos picos, se calcularon tres relaciones distintas entre absorbancia y concentración. En las figuras 7, 8 y 9 se evidencia que la relación es lineal enteramente.

Es de resaltar que los interceptos de las curvas de las figuras 7, 8 y 9 están muy cercanos a cero, como se predice por la ley de Beer-Lambert.

Para este caso se obtuvieron las siguientes relaciones:

$$A(c) = (57582,89 \pm 760,55)c - (0,03 \pm 0,004), \quad (9)$$

$$A(c) = (16441,29 \pm 254,34)c - (0,01 \pm 0,002), \quad (10)$$

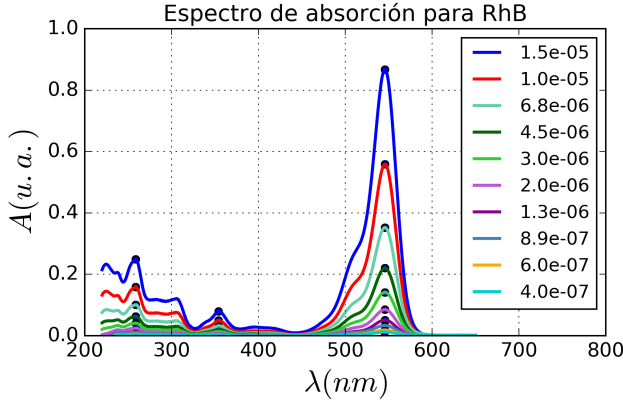


Figura 6. Espectros de absorción de RhB para las distintas concentraciones molares mostradas. Se resaltan tres picos. Se denomina 1, al máximo absoluto, 2 al que le sigue en intensidad y 3 al restante.

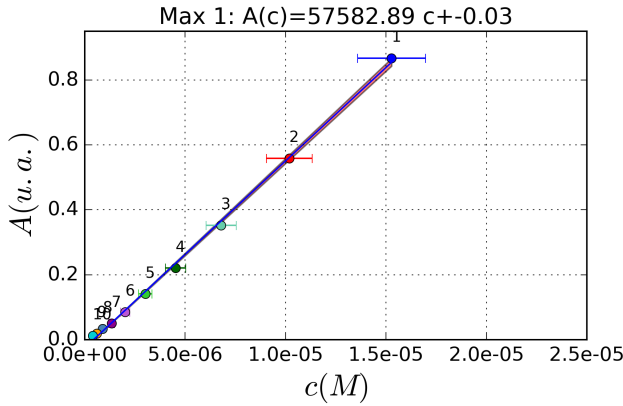


Figura 7. Relación entre el primer máximo de absorción del espectro de RhB y la concentración de la solución.

$$A(c) = (5206,96 \pm 130,45)c. \quad (11)$$

Para estudios posteriores, se recomienda la medición de los tres picos y el uso de las tres relaciones recién mostradas para mejorar la exactitud de los resultados. En el presente texto se dan las incertidumbres asociadas a los distintos parámetros por separado, ya que de esta manera se resalta que, en la mayoría de los casos (salvo por el caso del máximo absoluto del espectro de ZnTPP) la incertidumbre en el intercepto es prácticamente despreciable. Además, se deduce que la incertidumbre en la absorbancia depende de la concentración, por lo que se recomienda diluir las muestras antes de realizar las mediciones y multiplicar el resultado por el factor pertinente para obtener la concentración de la solución original. Con base en los resultados mostrados, se desarrolló un pequeño programa en Python que, dado un espectro, retorna la concentración de la muestra y su incertidumbre. En los cuadros II y I se muestran las pruebas hechas al

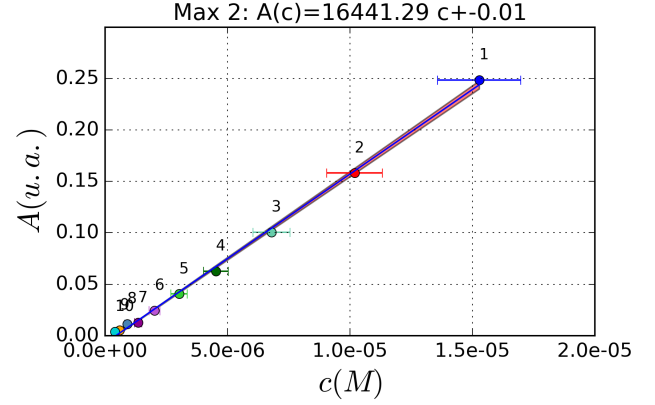


Figura 8. Relación entre el segundo máximo de absorción del espectro de RhB y la concentración de la solución.

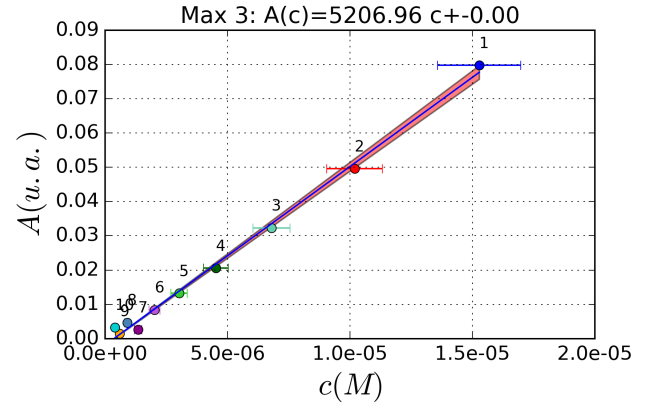


Figura 9. Relación entre el tercer máximo de absorción del espectro de RhB y la concentración de la solución.

programa con los datos disponibles.

En general, el programa parece funcionar mejor en concentraciones que no sean extremadamente bajas, del orden de  $10^{-7}$ .

## V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con base en los resultados antes presentados, se puede afirmar que se confirma la relación lineal entre la concentración y la absorbancia de una sustancia, para el rango trabajado. Se puede ver, además, que este

$c(M)$ Medida	$c(M)$ Calculada	%error
$6,00 \times 10^7$	$6,07 \times 10^7 \pm 1,07 \times 10^7$	0.01
$4,00 \times 10^7$	$6,61 \times 10^7 \pm 1,17 \times 10^7$	0.65
$3,00 \times 10^7$	$2,97 \times 10^6 \pm 2,50 \times 10^7$	8.90

Cuadro I. Comparación entre los resultados del programa y las mediciones de concentración para RhB.

$c(M)$ Medida	$c(M)$ Calculada	%error
$5,10 \times 10^6$	$4,76 \times 10^6 \pm 2,27 \times 10^6$	0.07
$2,50 \times 10^6$	$2,22 \times 10^6 \pm 1,75 \times 10^6$	0.11
$6,30 \times 10^7$	$4,45 \times 10^7 \pm 1,47 \times 10^6$	0.29

Cuadro II. Comparación entre los resultados del programa y las mediciones de concentración para ZnTPP.

método presenta limitaciones, ya que concentraciones muy altas no pueden ser medidas directamente debido a la saturación de la absorbancia alrededor de 3 y la pérdida de precisión del programa desarrollado para valores muy bajos de concentración. No obstante, estas limitaciones pueden eliminarse mediante la manipulación controlada de la muestra, es decir, llevar la concentración al rango permitido y revertir el proceso al hacer cálculos con la concentración resultante, es decir, por ejemplo, diluir una solución muy concentrada a la mitad de su concentración inicial adicionando solvente, realizar las mediciones y cálculos y multiplicar el resultado final por dos.

Las incertidumbres asociadas a los valores obtenidos de absorbancia son del orden de  $10^{-2}$  en el intercepto lo que indica que los valores que se obtienen a partir de la relación lineal deducida de este trabajo se asemejan al comportamiento descrito por la ley de Beer-Lambert. Adicionalmente, se espera que la implementación de más de un valor máximo del espectro de absorción aumente la precisión con la que se determina la concentración. Para el ZnTPP se presentan dos relaciones correspondientes a dos valores máximos de absorbancia y para la RhB se presentan tres relaciones correspondientes a los tres valores máximos característicos de su espectro de absorción.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Diana Lozano por su instrucción en el manejo del espectrofotómetro y la interpretación de los datos.

Además, agradecemos también a la profesora Mayerlin Núñez por asesorarnos, así como a la profesora Yenny Hernández, por permitirnos trabajar en su laboratorio.

- 
- [1] D. Walker, Journal of Physics E: Scientific Instruments **20**, 217 (1987).
  - [2] J. M. Vanderkooi, G. Maniara, T. J. Green, and D. F. Wilson, Journal of Biological Chemistry **262**, 5476 (1987).
  - [3] K. Onuma, K. Tsukamoto, and S. Nakadate, Journal of Crystal growth **129**, 706 (1993).
  - [4] D. Brown and P. Felton, Chemical engineering research & design **63**, 125 (1985).
  - [5] D. L. Purdy, P. Palumbo, and M. DiFrancesco, "Method for non-invasive measurement of concentration of analytes in blood using continuous spectrum radiation," (1995), uS Patent 5,460,177.
  - [6] J. Villabona-Monsalve, O. Calderón-Losada, M. N. Portela, A. Valencia, *et al.*, arXiv preprint arXiv:1611.05089 (2016).
  - [7] J. H. Law and R. A. Slepecky, Journal of bacteriology **82**, 33 (1961).
  - [8] M. J. Fletcher, Clinica Chimica Acta **22**, 393 (1968).
  - [9] G. Naik, K. Priyadarsini, J. Satav, M. Banavalikar, D. Sohoni, M. Biyani, and H. Mohan, Phytochemistry **63**, 97 (2003).
  - [10] C. A. Gregory, W. G. Gunn, A. Peister, and D. J. Prockop, Analytical biochemistry **329**, 77 (2004).
  - [11] M. A. Rizzo, G. H. Springer, B. Granada, and D. W. Piston, Nature biotechnology **22**, 445 (2004).
  - [12] S. Mondal and S. Ghosh, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology **115**, 9 (2012).
  - [13] P. Atkins and L. Jones, *Chemical principles: The quest for insight* (Macmillan, 2007).
  - [14] A. Beer, Ann. Physik **162**, 78 (1852).
  - [15] A. Owen, (1996).
  - [16] P. Bouguer, *Essai d'optique sur la gradation de la lumière* (chez Claude Jombert, rue S. Jacques, au coin de la rue des Mathurins, à l'Image Notre-Dame, 1729).
  - [17] J. H. Lambert, *Photometria sive de mensura et gradibus luminis, colorum et umbrae* (Klett, 1760).
  - [18] "Spectrophotometry," [https://chem.libretexts.org/Core/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry/Kinetics/Reaction\\_Rates/Experimental\\_Determination\\_of\\_Kinetics/Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Core/Physical_and_Theoretical_Chemistry/Kinetics/Reaction_Rates/Experimental_Determination_of_Kinetics/Spectrophotometry), accessed: 2017-09-06.
  - [19] "SPECORD PLUS," <https://www.analytik-jena.de/en/analytical-instrumentation/products/uvvis-spectrophotometers/double-beam/specordr-plus.html>, accessed: 2017-09-06.

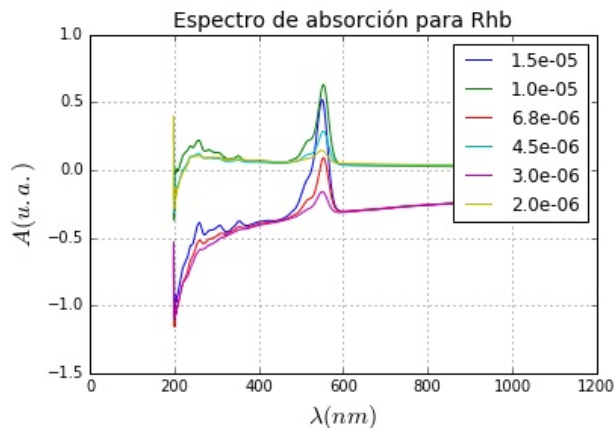


Figura 10. Medición de los espectros de absorción de la RhB para distintos valores de concentración. Las mediciones negativas indican que la localización de la cuña de cuarzo fue incorrecta durante la referencia y durante mediciones posteriores.

### Apéndice A: Material suplementario

Antes de obtener los espectros de absorción presentados en el informe para la RhB, se realizaron múltiples mediciones. En la figura 10 se presenta una gráfica de los espectros de absorción obtenidos para distintas concentraciones. Como se observa, la mitad de los espectros de absorbancia se encuentran por debajo de la absorbancia cero. Sin embargo, los valores de absorbancia negativos no se explican por los cambios en concentración. Más bien, estos espectros con valores negativos de absorbancia son el resultado de una ubicación incorrecta del prisma de cuarzo al interior del espectrofotómetro.

Para realizar las mediciones de espectros de absorbancia, el espectrofotómetro *SPECORD 50 PLUS* debe obtener previamente una curva de referencia. Esta referencia permite eliminar los errores asociados a imperfecciones en la cuña de cuarzo y es a partir de la referencia que se establecen valores positivos o negativos de absorbancia en las mediciones posteriores. Para realizar la referencia es necesario verter 3 mL de solvente en la cuña de cuarzo,

es decir, 3mL de únicamente metanol si se desean obtener espectros posteriores de RhB.

Después de tomar la referencia, se debe limpiar la cuña de cuarzo y adicionar la solución de RhB de interés. Dos lados de la cuña de cuarzo son opacos y, por lo tanto, estos extremos no deben interferir en el camino de los fotones. El error en las mediciones presentadas en la figura 10 se atribuye a que durante la referencia y durante mediciones posteriores de los espectros se ubicaron los extremos opacos de la cuña de cuarzo de forma que intervenían en el camino de los fotones. Por lo tanto, algunos valores de absorbancia son menores que los valores obtenidos previamente con la referencia. Como consecuencia de este resultado, las mediciones presentadas en el informe fueron realizadas con un posicionamiento correcto de la cuña de cuarzo, evitando así generar errores de este tipo.

### Apéndice B: Código

Se muestra como anexo el código desarrollado para calcular la concentración de una solución a partir de su espectro de absorción exportado desde el medido por *SPECORD 50*. Este puede ser también encontrado en el repositorio del proyecto en GitHub.

El código se basa en las regresiones lineales realizadas para la relación entre concentración y absorbancia, éstas se hicieron en un programa distinto (aquel que exporta los gráficos) y por ende son definidas desde un principio. Se pretendió desarrollar una herramienta útil en la medición de las concentraciones de las dos soluciones trabajadas, por lo tanto, el programa detecta los máximos de absorbancia utilizados automáticamente, calcula la concentración con éstos y retorna un promedio y desviación estándar (como incertidumbre) de los cálculos. Además, se tienen en cuenta los errores asociados al cálculo de las pendientes e interceptos de las relaciones lineales, que corresponden a las regiones de sombreado rojo en las figuras 4, 5 y 7 a 9.

Se recuerda al posible usuario que el programa pierde bastante precisión para concentraciones del orden de  $10^{-7}$ . Además debe evitarse el ingreso de espectros saturados, debido a que se requiere una medida precisa del primer máximo (mayor amplitud) de la absorbancia.

## I. ANEXO: CÓDIGO

```
#!/usr/bin/env python
"""concentration_from_spectrum.py: This script takes an absorption spectrum (tuned to
    ↪ those exported from SPECORD 50) and returns the concentration of the sample of
    ↪ either RhB in Methanol or ZnTPP in toluene."""

__author__ = "Daniel Forero and Juan Sebastian Parada"
import numpy as np

zntpp_slope_1 = 2.34481581e-06
zntpp_slope_unc_1 = 7.13334313474e-07
zntpp_intercept_1 = -1.01998899e-06
zntpp_intercept_unc_1 = 1.13702188394e-06


zntpp_slope_2 = 6.04353620e-05
zntpp_slope_unc_2 = 1.23647744083e-05
zntpp_intercept_2 = -2.86658404e-06
zntpp_intercept_unc_2 = 1.12340251676e-06


rhob_slope_1 = 1.86993237e-05
rhob_slope_unc_1 = 3.38038188574e-07
rhob_intercept_1 = 3.11751602e-07
rhob_intercept_unc_1 = 5.39838249624e-08


rhob_slope_2 = 6.56464123e-05
rhob_slope_unc_2 = 1.62953214353e-06
```

---

\* [https://github.com/dforero0896/Laboratorio\\_Intermedio/tree/master/Proyecto](https://github.com/dforero0896/Laboratorio_Intermedio/tree/master/Proyecto)



```

rhob_intercept_2 = 3.00696048e-07
rhob_intercept_unc_2 = 7.42920359869e-08


rhob_slope_3 = 2.08950781e-04
rhob_slope_unc_3 = 2.18451827247e-05
rhob_intercept_3 = 2.02322034e-07
rhob_intercept_unc_3 = 2.20594627954e-07
substance = raw_input("Please_type:_ZnTPP_or_RhB?_")
filename = raw_input("Please_type_the_filename_(with_extension)_")


spectrum = np.loadtxt(filename, dtype=float, delimiter=';', skiprows =2)


if(substance=='RhB'):
    cut_min_2 = min(np.where(spectrum[:,0]>220)[0])
    cut_max_2 = max(np.where(spectrum[:,0]<300)[0])


    cut_min_3 = min(np.where(spectrum[:,0]>320)[0])
    cut_max_3 = max(np.where(spectrum[:,0]<400)[0])


    cut_min_1 = min(np.where(spectrum[:,0]>450)[0])
    cut_max_1 = max(np.where(spectrum[:,0]<600)[0])


    A_1 = max(spectrum[cut_min_1:cut_max_1,1])
    A_2 = max(spectrum[cut_min_2:cut_max_2,1])
    A_3 = max(spectrum[cut_min_3:cut_max_3,1])
    def cfromA_1(A):
        slope_arr = np.array([rhob_slope_1, rhob_slope_1+rhob_slope_unc_1, rhob_slope_1-
            ↪ rhob_slope_unc_1])
        intercept_arr = np.array([rhob_intercept_1,rhob_intercept_1+rhob_intercept_unc_1,
            ↪ rhob_intercept_1-rhob_intercept_unc_1])

```

```

    conc_arr = slope_arr*A+intercept_arr
    return np.array([np.mean(conc_arr), np.std(conc_arr)])
def cfromA_2(A):
    slope_arr = np.array([rhob_slope_2, rhob_slope_2+rhob_slope_unc_2, rhob_slope_2-
        ↪ rhob_slope_unc_2])
    intercept_arr = np.array([rhob_intercept_2, rhob_intercept_2+rhob_intercept_unc_2,
        ↪ rhob_intercept_2-rhob_intercept_unc_2])
    conc_arr = slope_arr*A+intercept_arr
    return np.array([np.mean(conc_arr), np.std(conc_arr)])
def cfromA_3(A):
    slope_arr = np.array([rhob_slope_3, rhob_slope_3+rhob_slope_unc_3, rhob_slope_3-
        ↪ rhob_slope_unc_3])
    intercept_arr = np.array([rhob_intercept_3, rhob_intercept_3+rhob_intercept_unc_3,
        ↪ rhob_intercept_3-rhob_intercept_unc_3])
    conc_arr = slope_arr*A+intercept_arr
    return np.array([np.mean(conc_arr), np.std(conc_arr)])

def give_result(res1, res2, res3):
    return np.mean([res1[0], res2[0], res3[0]], np.mean([res1[1], res2[1], res3[1]])
print "The_concentration_of_the_sample_is:(concentration, uncertainty)\n",
    ↪ give_result(cfromA_1(A_1), cfromA_2(A_2), cfromA_3(A_3))

elif(substance=='ZnTPP'):
    cut_min_2 = min(np.where(spectrum[:,0]>500)[0])
    cut_max_2 = max(np.where(spectrum[:,0]<600)[0])

    cut_min_1 = min(np.where(spectrum[:,0]>400)[0])
    cut_max_1 = max(np.where(spectrum[:,0]<450)[0])

    A_1 = max(spectrum[cut_min_1:cut_max_1,1])
    A_2 = max(spectrum[cut_min_2:cut_max_2,1])

```

```

def cfromA_1(A):
    slope_arr = np.array([zntpp_slope_1, zntpp_slope_1+zntpp_slope_unc_1,
        ↪ zntpp_slope_1-zntpp_slope_unc_1])
    intercept_arr = np.array([zntpp_intercept_1,zntpp_intercept_1+
        ↪ zntpp_intercept_unc_1,zntpp_intercept_1-zntpp_intercept_unc_1])
    conc_arr = slope_arr*A+intercept_arr
    return np.array([np.mean(conc_arr), np.std(conc_arr)])

def cfromA_2(A):
    slope_arr = np.array([zntpp_slope_2, zntpp_slope_2+zntpp_slope_unc_2,
        ↪ zntpp_slope_2-zntpp_slope_unc_2])
    intercept_arr = np.array([zntpp_intercept_2,zntpp_intercept_2+
        ↪ zntpp_intercept_unc_2,zntpp_intercept_2-zntpp_intercept_unc_2])
    conc_arr = slope_arr*A+intercept_arr
    return np.array([np.mean(conc_arr), np.std(conc_arr)])

def give_result(res1, res2):
    return np.mean([res1[0], res2[0]]), np.mean([res1[1], res2[1]])
# print "The concentration of the sample is: (concentration, uncertainty)\n",give_result
    ↪ (cfromA_1(A_1), cfromA_2(A_2))
    print "The_concentration_of_the_sample_is:(concentration,uncertainty)\n",
        ↪ cfromA_2(A_2)
else:
    print "Please_rerun_and_choose_a_substance.\n"

```