

PRÁCTICA 4. ESPECTROFOTOMETRÍA

OBJETIVOS

Obtener el espectro de absorción del anión dicromato y a partir del espectro determinar
a) El coeficiente de absortividad molar k del anión dicromato y b) la concentración de una muestra problema.

INTRODUCCIÓN

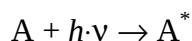
La Espectrofotometría es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). Los fundamentos físico-químicos de la espectrofotometría son relativamente sencillos.

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

$$E_{\text{fotón}} = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda ,$$

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

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

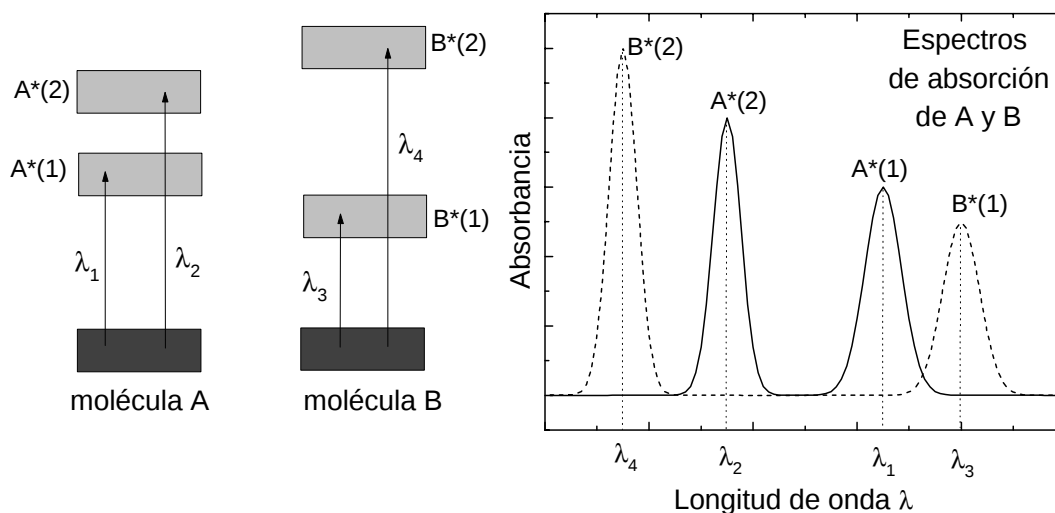


$$E(A^*) = E(A) + E_{\text{fotón}}$$

Como la energía se conserva, la diferencia de energía entre el estado fundamental de la molécula (A) y su estado excitado (A^*) debe ser exactamente igual a la energía del fotón. Es decir, una molécula sólo puede absorber fotones cuya energía $h \cdot \nu$ sea igual a la energía de un estado molecular excitado. Cada molécula tiene una serie de estados

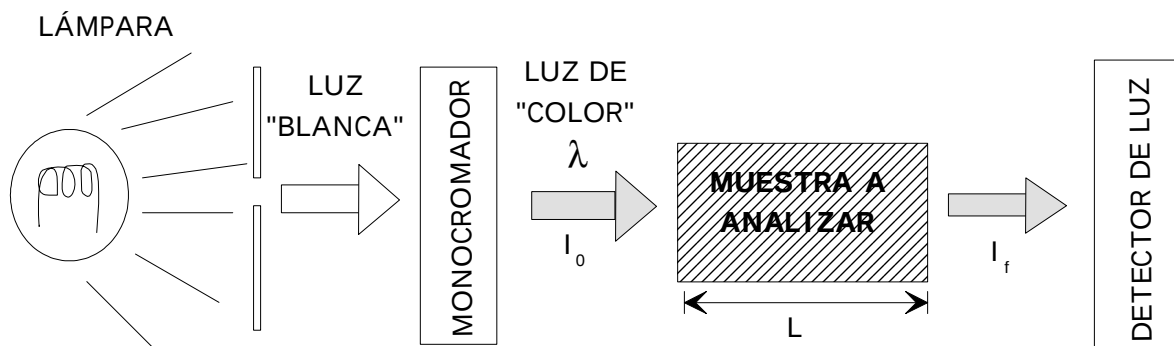
excitados discretos (o bandas) que dependen de su estructura electrónica y que la distinguen del resto de moléculas. Como consecuencia, el **espectro de absorción**, es decir, la luz absorbida en función de la longitud de onda, constituye una verdadera señal de identidad de cada sustancia o molécula.

En esta práctica, intentaremos detectar las dos variedades de la clorofila A y B midiendo su espectro de ultravioleta/visible. Cuando dos o más sustancias aparecen mezcladas en una misma muestra sus espectros de absorción aparecen superpuestos tal como se representa en la siguiente figura:



Los espectros de absorción se miden mediante un instrumento denominado espectrómetro. Los instrumentos que vamos a usar en esta práctica constan de una fuente de luz “blanca” caracterizada por un espectro de emisión continuo en un intervalo amplio de longitudes de onda (en nuestro caso 350 nm-900 nm) y de un monocromador que actúa como filtro óptico transmitiendo un haz de luz de longitud de onda fija λ e intensidad I_0 . Este haz de luz penetra en la cubeta de análisis donde se encuentra la muestra. Un detector sensible a la luz mide la intensidad del haz a la salida I_f .

COMPONENTES DEL ESPECTROFOTÓMETRO



La intensidad del haz de luz se va atenuando a medida que atraviesa la cubeta debido a la absorción de las moléculas de la muestra. El ritmo de absorción depende de la intensidad inicial de luz y de la concentración de moléculas. De esta manera, cuando un haz de luz de intensidad I recorre una distancia dL en una muestra con una concentración de moléculas $[B]$, se produce una atenuación de intensidad dI dada por:

$$dI = -k \cdot [B] \cdot I \cdot dL$$

La constante k se denomina coeficiente de absortividad molar. La expresión anterior se puede integrar de la siguiente forma:

$$\frac{dI}{I} = -k \cdot [B] \cdot dL \Rightarrow \int_0^L \frac{dI}{I} = -k \cdot [B] \cdot \int_0^L dL \Rightarrow \ln \frac{I_f}{I_0} = -k \cdot [B] \cdot L ,$$

lo cual da lugar a la **ley de Beer-Lambert**¹ para la absorción que relaciona la intensidad a la salida de la muestra I_f , con la intensidad inicial I_0 , la concentración de moléculas y la distancia recorrida por la luz en la muestra, L :

$$I_f = I_0 \cdot e^{-k \cdot [B] \cdot L}$$

El espectrofotómetro, en lugar de la intensidad, mide la **absorbancia A** que se define por:

$$A \equiv \ln \frac{I_0}{I_f} = k \cdot [B] \cdot L$$

La utilización de la absorbancia al realizar los espectros tiene la ventaja de ser directamente proporcional a la concentración de moléculas en la muestra.

PARTE EXPERIMENTAL

ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL ANIÓN DICROMATO Y DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES

La práctica que vamos a hacer consiste en la determinación de la concentración de dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) en una muestra problema (que podría tomarse como una muestra de agua de un río que se quiere analizar). Para ello realizaremos los siguientes experimentos:

- Mediremos el espectro de absorción del anión dicromato y localizaremos su máximo de absorción.

¹ En realidad, la ley de Beer-Lambert se define con una potencia de 10, en lugar de una exponencial. Para corregir este hecho basta recordar que $\ln x = (\ln 10) \log x$. El coeficiente de absorción molar sería en rigor $\epsilon = k/\ln 10$.

FUNDAMENTOS DE QUÍMICA-PRÁCTICA 4

- Nos situaremos en dicho máximo y mediremos la absorbancia de 4 disoluciones de concentración conocida de dicromato preparadas por nosotros. Esto nos proporcionará una recta de calibrado.
- Mediremos la absorbancia de la muestra problema y determinaremos su concentración a partir de la recta de calibrado.

Procedimiento

1. Comenzamos preparando las 4 disoluciones de dicromato utilizando siempre pipetas y matraces aforados y la balanza de precisión. Se partirá de una disolución trabajo previamente preparada de concentración 0.25 g/l de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$, $P_m = 294.2$ g/mol). Cada pareja utilizará esta disolución concentrada para preparar las siguientes 4 disoluciones más diluidas que serán las que usaremos en el espectrofotómetro:

Disolución 1: diluir 1 ml de concentrada con agua en un matraz aforado de 25 ml.

Disolución 2: idem, 2 ml de concentrada.

Disolución 3: idem, 3 ml de concentrada.

Disolución 4: idem, 5 ml de concentrada.

2. Calcular la molaridad de todas las disoluciones, incluida la concentrada.

3. Con la disolución 4, mediremos el espectro de absorción del dicromato de 325 a 505 nm, realizando primero un blanco con agua pura (consultar con el profesor). A continuación introducimos una cubeta con la disolución 4 (la más concentrada) y medimos la absorbancia en el intervalo de longitudes de onda fijado tomando valores cada 20 nm. Repetiremos la operación de manera más fina en la región donde hayamos observado una mayor absorbancia, esta vez tomando valores cada 10 nm. Establecer, a partir de esta medida, dónde se encuentra el máximo de absorción del ión dicromato. Anotar entonces el valor de absorbancia para esa longitud de onda de la Disolución 4.

4. Repetir la medida, a la misma longitud de onda (máximo de absorción del dicromato) para las disoluciones 3, 2 y 1 y de una mezcla problema de concentración desconocida. Anotar los correspondientes valores de absorbancia frente a concentración para hacer una recta de calibrado.

5. Procedemos a realizar el análisis de datos:

5.1 Representamos gráficamente el espectro de absorción del dicromato (absorbancia frente a longitud de onda).

5.2 Representamos la absorbancia en el máximo de las Disoluciones 1-4 frente a la molaridad y ajustamos los 4 puntos a una recta por el método de mínimos cuadrados. A partir de la regresión lineal obtenida, determinar:

- a) El coeficiente de absortividad molar k del anión dicromato
- b) la concentración de la muestra problema.