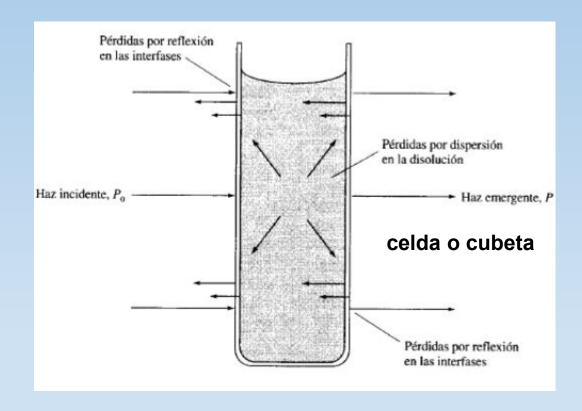


Trabajo Práctico Nº 6: Resolución espectrofotométrica de mezclas Sistema Cr(III)-Co(II)

Química Analítica Instrumental Facultad de Ciencias Exactas UNLP Abril 2021

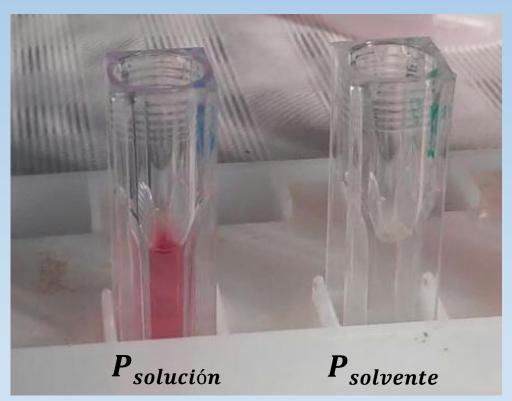
Bioq. Christian Byrne

Definición operacional de la absorbancia



La interacción entre la radiación y las paredes del recipiente es inevitable, produciéndose pérdidas de potencia en cada interfase como resultado de reflexiones y posiblemente de absorción. Además de las pérdidas por reflexión, puede darse la dispersión de la potencia del haz al atravesar la solución, debido a moléculas grandes o a las heterogeneidades del solvente.

Definición operacional de la absorbancia



Para compensar esos efectos, la potencia del haz transmitida a través de la celda que contiene la solución absorbente se compara con la de un haz que pasa a través de una celda idéntica que contiene sólo solvente.

$$T = \frac{P}{P_0} \approx \frac{P_{solución}}{P_{solvente}}$$

$$A = -logT = -log \frac{P_{solución}}{P_{solvente}} = log \frac{P_{solvente}}{P_{solución}}$$



ajuste del 100%T o 0 de A (blanco)

Para medir la absorbancia o %T en instrumentos de simple haz se deben llevar a cabo los siguientes pasos:

a) Ajuste de 0%T, compensación de corriente oscura

Sin que llegue luz al detector (paso de luz cerrado) se lleva a cero la indicación del medidor de %T

b) Ajuste de 100%T, 0 de A o blanco

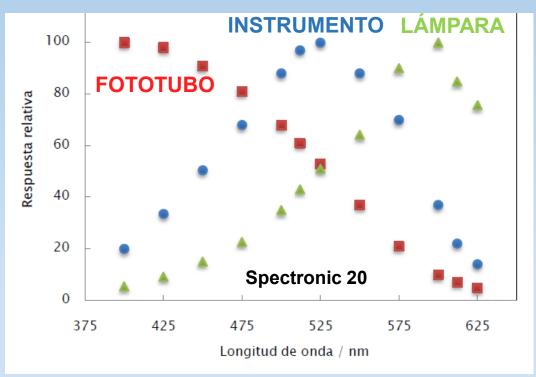
Se coloca la cubeta con sólo solvente y se ajusta el 100%T.

c) Lectura del %T de la muestra

Se coloca la cubeta con la solución problema y se lee el correspondiente %T



Estas tres operaciones se deben repetir para cada longitud de onda, ya que tanto la salida de la fuente como la respuesta del detector varían con la longitud de onda.



Tanto la salida de la fuente como la sensibilidad del detector deben permanecer constantes durante estos tres pasos, implicando que el voltaje de la fuente y del detector deben ser estables.

Espectrofotómetro simple haz visible



escala %T (lineal)

pantalla analógica de aguja móvil

escala de absorbancia (logarítmica)

selector de longitudes de onda

compartimiento de celda (portacubetas)

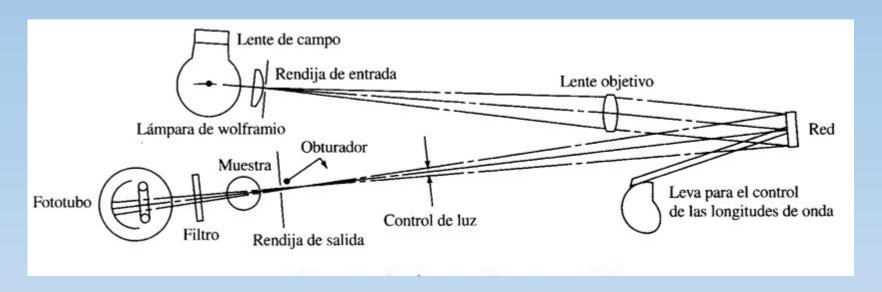
Encendido (ON-OFF)

AJUSTE DE 0%T

Control de amplificación



AJUSTE DE 100%T Control de luz

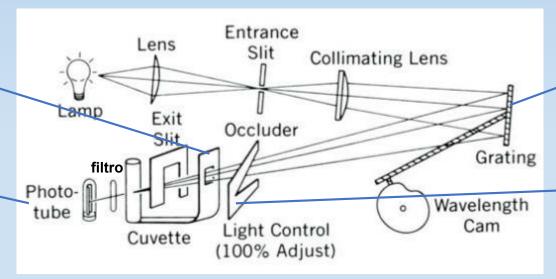


OBTURADOR

Placa que se interpone automáticamente entre el haz y el detector cuando el portacubetas está vacío

FOTOTUBO

Cátodo fotoemisivo de Cs-Sb



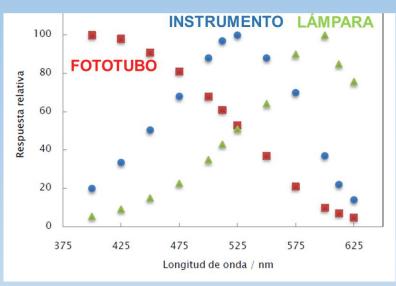
RED DE DIFRACCIÓN

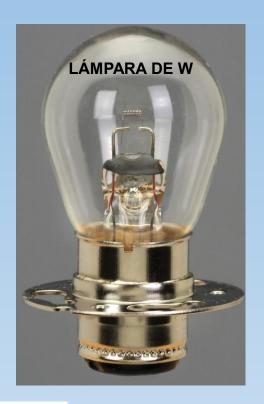
copia de lámina de vidrio con 600 rayas/mm, con superficie aluminizada para hacerla reflectora

CONTROL DE LUZ

Abertura en forma de V





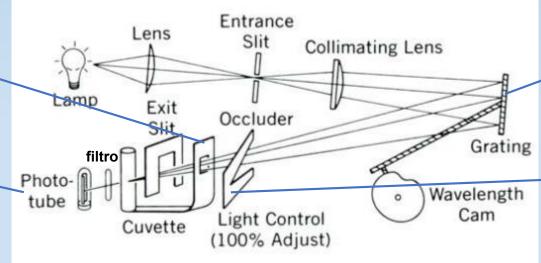


OBTURADOR

Placa que se interpone automáticamente entre el haz y el detector cuando el portacubetas está vacío

FOTOTUBO

Cátodo fotoemisivo de Cs-Sb



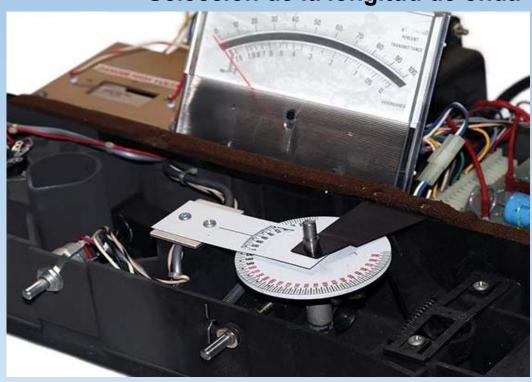
RED DE DIFRACCIÓN

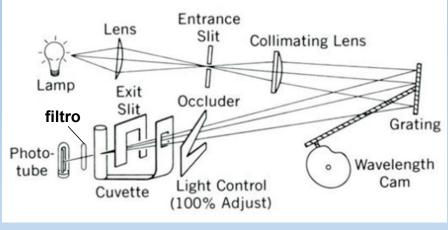
copia de lámina de vidrio con 600 rayas/mm, con superficie aluminizada para hacerla reflectora

Abertura en forma de V

Selección de la longitud de onda





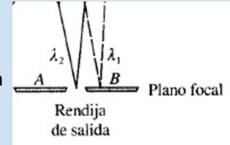


El filtro elimina radiación procedente de la red que corresponde a la difracción de segundo orden y órdenes superiores

Table 2-2 Phototube options (SPECTRONIC* 20 and 20D only)			
Range 340 to 600 nm 600 to 950 nm 400 to 700 nm	Phototube Cat. No. 332971** 332972 332989	Filter Cat. No. None required 332918* 332992*	

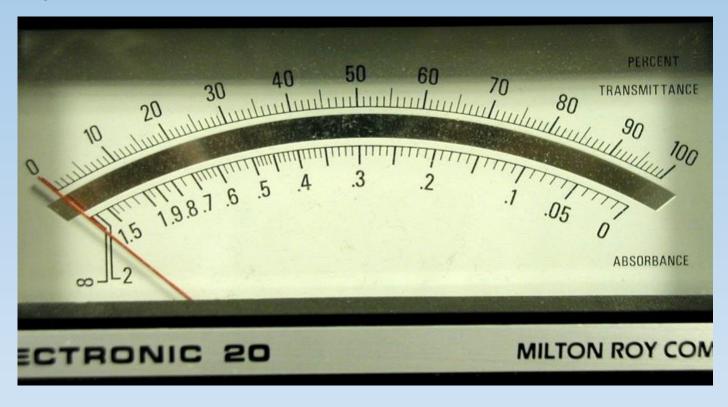
Intervalo espectral 340-600(950) nm

Por la rendija de salida pasa un haz de luz con una longitud de onda dominante (nominal) y un ancho de banda efectivo de 20 nm



Ajuste del 0%T



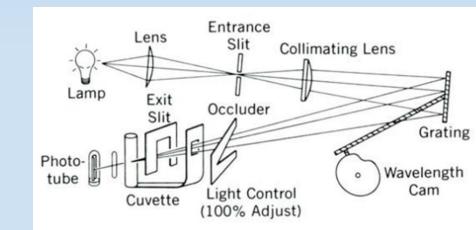


Cuando no hay ninguna cubeta colocada en el portacubetas el obturador impide que la radiación llegue al detector. Con la **perilla 0%T** se ajusta la amplificación del fototubo de tal manera que la aguja indicadora marque "0" en la escala de %T. A esto se llama compensación de corriente oscura.

Ajuste del 100%T

La **perilla 100%T o control de luz** regula la cantidad de luz que pasa a través de la rendija de salida hacia el fototubo. La necesidad de este control de luz reside en el hecho de que la lámpara de W no emite luz de iguales intensidades a diferentes longitudes de onda y que el fototubo no tiene la misma respuesta para las distintas longitudes de onda. Además la solución blanco (el medio o solvente en el cual se disuelve la sustancia problema) puede absorber luz de ciertas longitudes de onda. Así, para medir la absorbancia debida solamente a especies particulares en solución, tales efectos que afectan la lectura de transmitancia deben ser compensados.

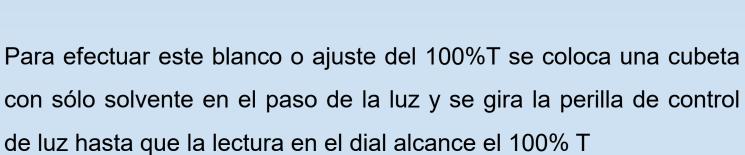




Ajuste del 100%T











Medida del %T de la solución



Se coloca la cubeta con la solución problema en el paso de luz y se lee directamente el %T

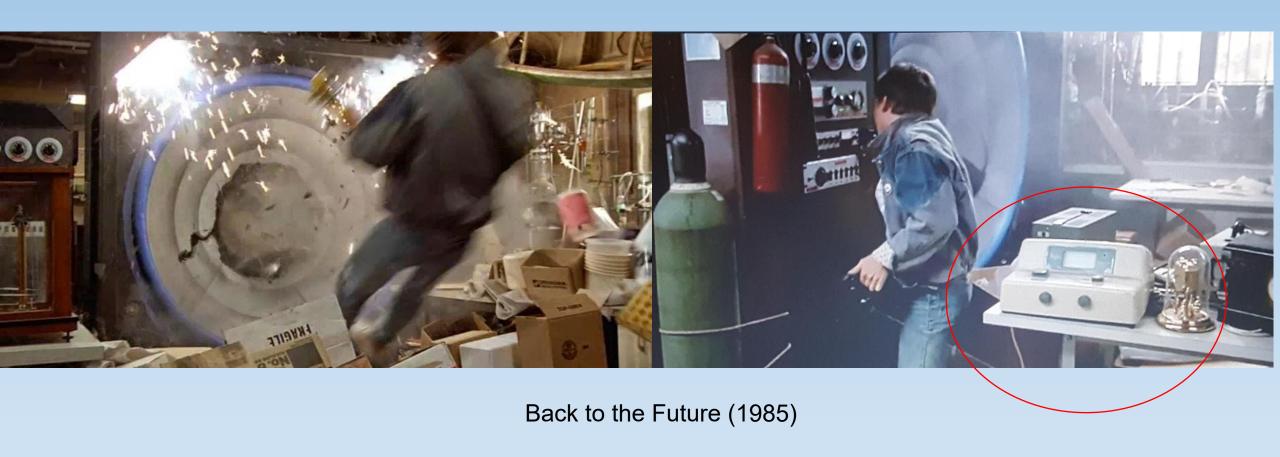






Spectronic 20 (1955)

Bausch & Lomb





Spectronic 20 (1986)
Milton Roy



Spectronic 20D (1986)

La escala analógica de los primeros modelos se reemplazó por una lectura LED digital roja





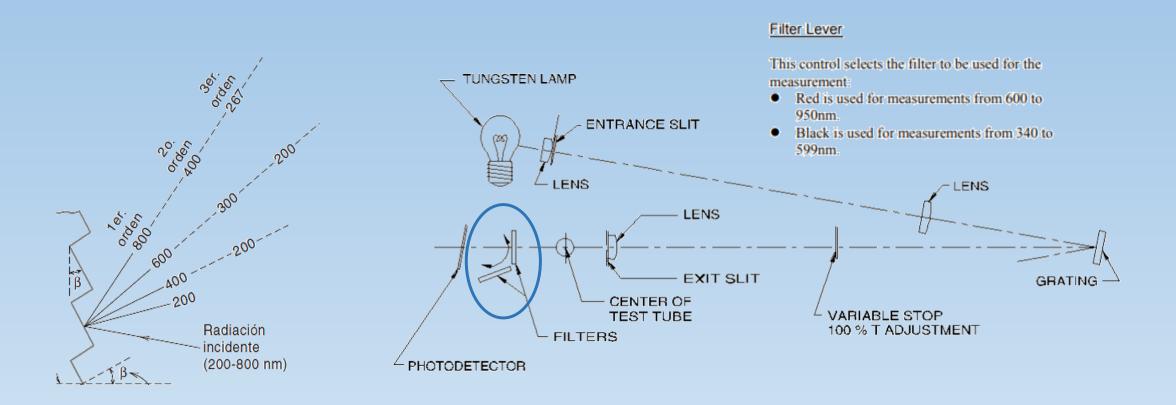
Spectronic 20+

Thermo

Spectronic 20D+

Spectronic Instruments

Detector fotodiodo Dos filtros



Spectronic 20+ y Spectronic 20D+

Detector fotodiodo
Dos filtros











Optical Design		Single Beam
Spectral Bandwidth		≤4 nm
Light Source		Tungsten-halogen
Detector		2048 element CCD
Wavelength	Range	340 nm to 1000 nm
	Accuracy	±2 nm
	Repeatability	±1 nm
	Data interval	1 nm

Thermo Scientific

Espectrofotómetro simple haz UV-visible



Lámpara deuterio (UV)



Lámpara tungsteno/halógeno (visible)

Intervalo espectral 190-1100 nm
Ancho de banda efectivo 2 nm



Selección de la longitud de onda



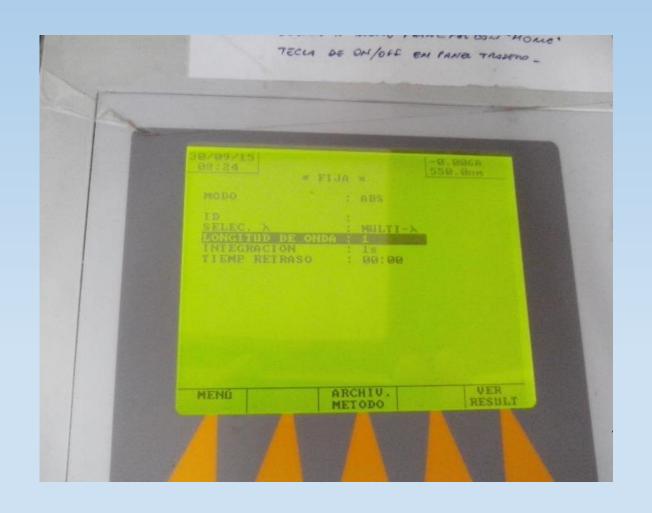
Selección de la longitud de onda



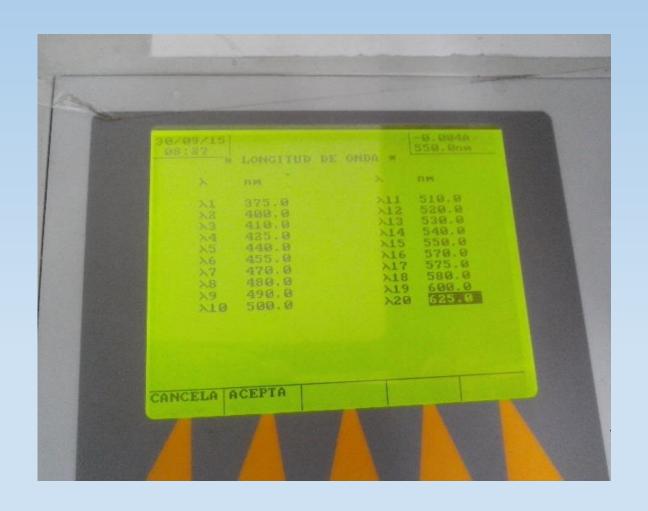
Selección de la longitud de onda



Selección de la longitud de onda



Selección de la longitud de onda

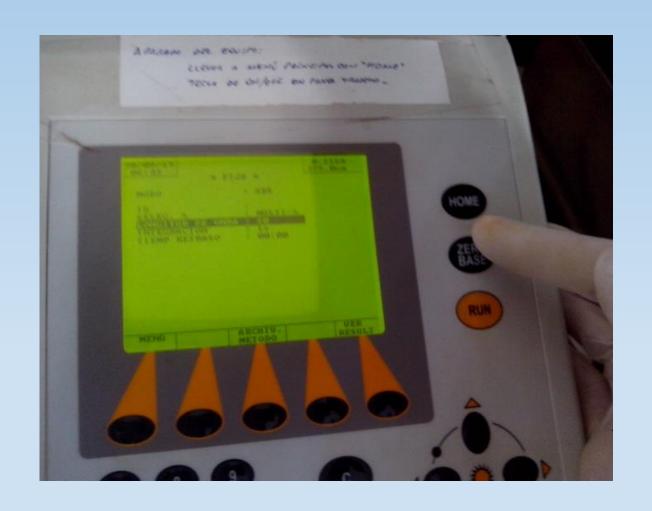


Ajuste del 100%T (0 de absorbancia o blanco)

A continuación se carga la cubeta con agua destilada y se aprieta la tecla Zero base.

El equipo mide y almacena los blancos para cada longitud de onda seleccionada.





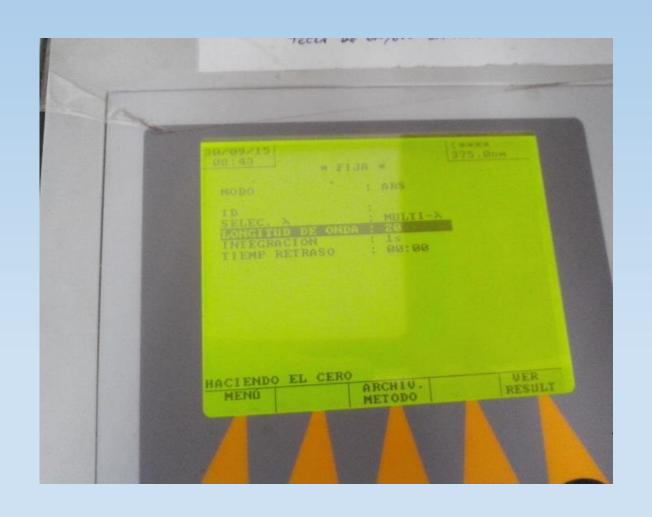
Ajuste del 100%T (0 de absorbancia o blanco)

A continuación se carga la cubeta con agua destilada y se aprieta la tecla Zero base.

El equipo mide y almacena los blancos para cada longitud de onda seleccionada.

¿Y el ajuste de 0%T (compensación de corriente oscura?

Lo hace automáticamente el equipo durante los tests de inicio



Medida de la A de la solución

Luego se carga la cubeta con la solución y se aprieta la tecla amarilla Run. El equipo realiza las medidas de absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas, restando en cada caso el blanco correspondiente.

Los valores de absorbancia van apareciendo de a dos por fila, desde $\lambda 1$ a $\lambda 20$.



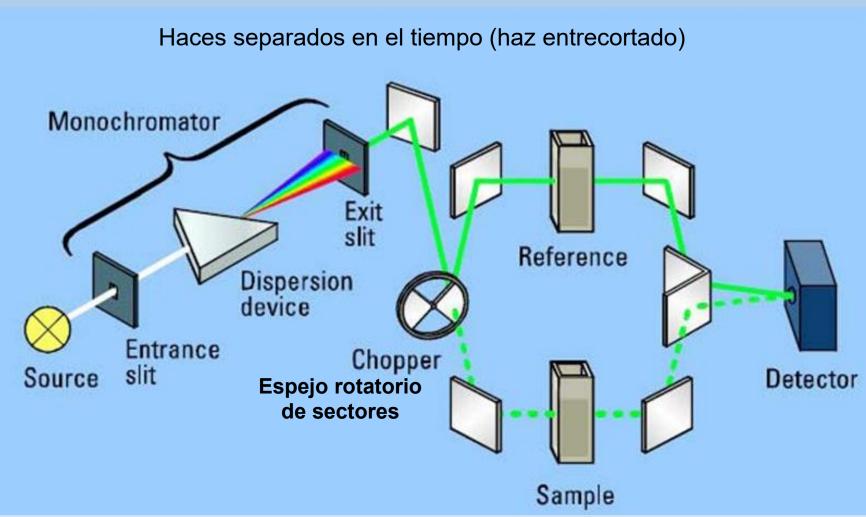


- Haces separados en el tiempo (único detector)
- Rango espectral 190-900 nm
- Ancho de banda efectivo variable
- Cambio de lámparas automático
- Se maneja desde un software (GBC Spectral)

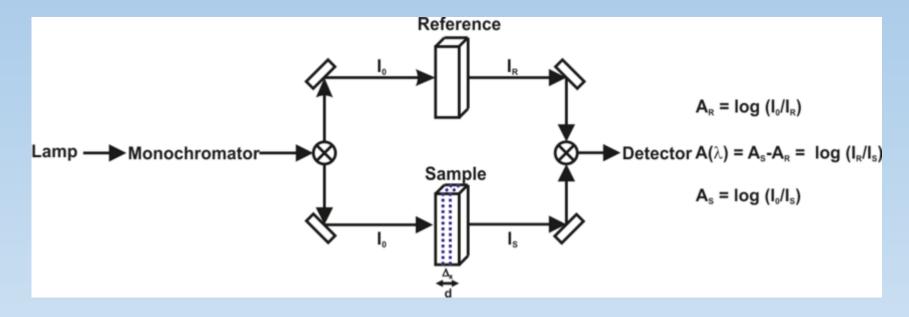








Espectrofotómetro doble haz UV-visible



La señal del haz de muestra es continuamente referida a la señal del haz de referencia, y sólo la diferencia entre ambas señales es amplificada y registrada. Como la medida de I_R y I_S se realiza en forma simultánea, se compensan todas las fluctuaciones de la radiación de la fuente, así como la deriva del detector y del amplificador.

Espectrofotómetro doble haz UV-visible

Modo scan: se realiza un barrido automático de la longitud de onda

0%T: durante los test de inicio

100%T (A=0): cubeta con solvente en muestra y referencia. Se

almacena el blanco de cada longitud de onda (línea de base)

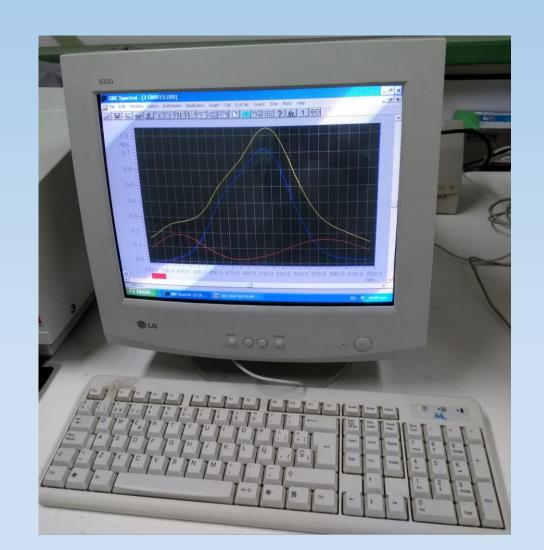
Medida de A: cubeta con solvente en referencia y con solución a

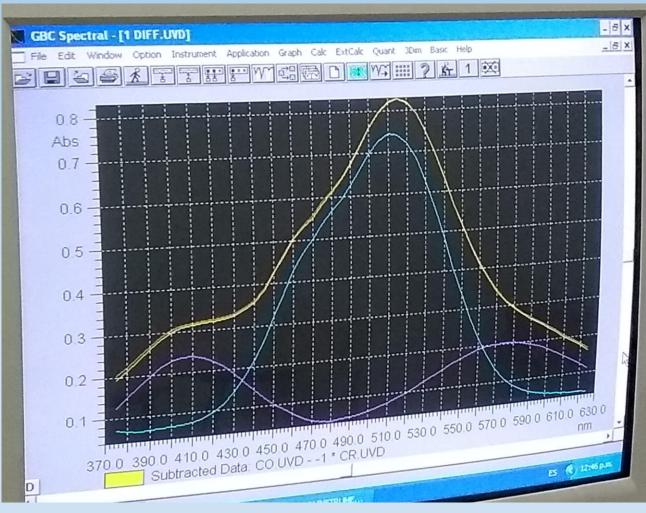
medir en muestra

Se registra el espectro en el software.

Pueden compararse varios espectros a la vez





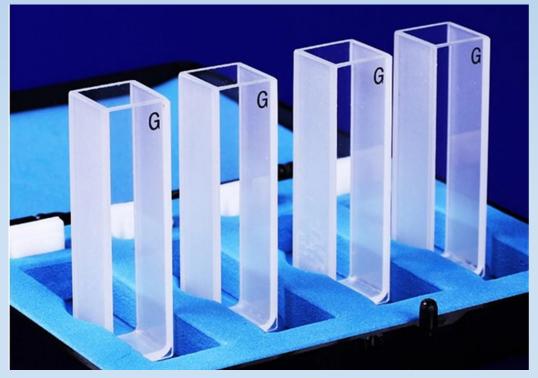


Vidrio

380 a 780 nm







Plástico

Poliestireno (PS) >340nm

Polimetil metacrilato (PMMA) > 300 nm





atacadas por algunos solventes orgánicos (ej: cloroformo)

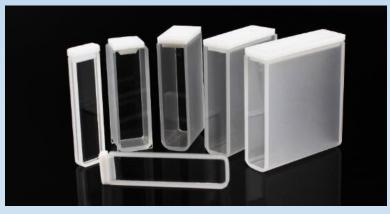
Cuarzo

190 a 2500 nm

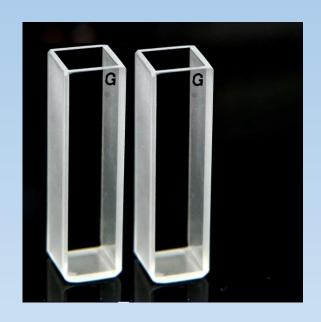


Típicas celdas para medidas en el UV; costosas





b = 1 cm



Vidrio

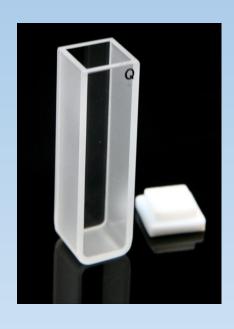
\$1000

\$1500



Plástico

\$25



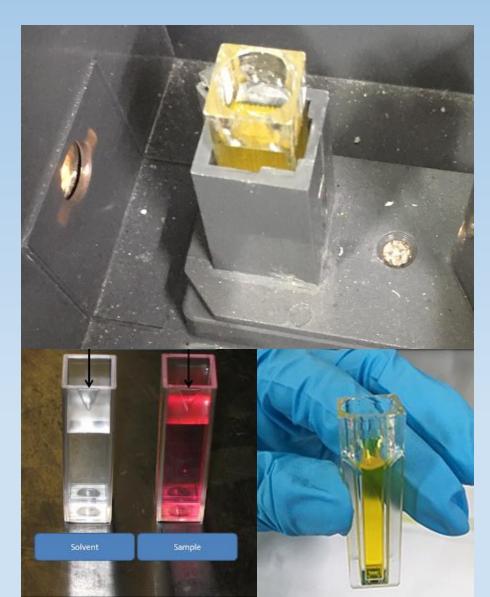
Cuarzo

\$4500

\$7500

Manipuleo de las cubetas

- 1. No tocar la parte inferior de la cubeta (porción a través de la cual pasa la luz).
- Cuando se usan dos cubetas simultáneamente, una de ellas se usa siempre para la solución blanco (cubeta de referencia) y la otra para las soluciones problema (cubeta para la muestra).
 Marcar las cubetas y no intercambiarlas durante el resto del trabajo.
- 3. Enjuagar siempre la cubeta con algunas porciones de la solución a medir antes de hacer una medición.
- 4. Eliminar cualquier gota de líquido o suciedad en la mitad inferior de la cubeta con un papel especial para superficies ópticas.
- 5. Observar que no queden burbujas de aire en el interior.
- 6. Observar que las cubetas no presenten rayas o imperfecciones



Resolución espectrofotométrica de mezclas

Para poder realizar un análisis espectrofotométrico simultáneo para varios componentes debe cumplirse que éstos no interactúen entre sí, de manera tal que la presencia de uno no afecte ninguna de las propiedades de absorción del otro. En tal caso la absorción de luz de estos componentes es aditiva, es decir, la absorbancia total de la solución es la suma de las absorbancias individuales que tendrían los distintos componentes si estuvieran en soluciones separadas y fuesen medidas bajo las mismas condiciones:

ADITIVIDAD DE ABSORBANCIAS

$$\mathbf{A}_{\mathsf{T}}^{\lambda} = \mathbf{\Sigma} \; \mathbf{A}_{\mathsf{i}}^{\lambda}$$

Resolución espectrofotométrica de mezclas

También debe verificarse que cada una de las especies absorbentes cumpla con la ley de Beer:

LEY DE BEER

$$A_i^{\lambda} = \varepsilon_i^{\lambda} \cdot b \cdot C_i(M)$$

Si se emplea siempre la misma cubeta (o cubetas idénticas) el camino óptico b será el mismo, por lo que podemos combinar la absortividad molar ϵ_i^{λ} y b en una única constante k_i^{λ} . k_i^{λ} es la constante de proporcionalidad que relaciona la absorbancia A_i^{λ} y la concentración C_i , para una sustancia i a una determinada longitud de onda λ .

LEY DE BEER

$$A_i^{\lambda} = k_i^{\lambda} \cdot C_i (M)$$

En el presente TP se analizará el sistema Cr(III)-Co(II). Para este sistema de dos componentes seleccionamos dos longitudes de onda diferentes (λ_1 y λ_2) y planteamos el siguiente sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas:

$$A^{\lambda 1} = A_{Cr}^{\lambda 1} + A_{Co}^{\lambda 1} = k_{Cr}^{\lambda 1} \cdot C_{Cr} + k_{Co}^{\lambda 1} \cdot C_{Co}$$

$$A^{\lambda 2} = A_{Cr}^{\lambda 2} + A_{Co}^{\lambda 2} = k_{Cr}^{\lambda 2} \cdot C_{Cr} + k_{Co}^{\lambda 2} \cdot C_{Co}$$

Resolviendo este sistema vamos a poder determinar simultáneamente la concentración de los dos componentes (C_{Cr} y C_{Co}) en una mezcla problema.

$$A^{\lambda 1} = A_{Cr}^{\lambda 1} + A_{Co}^{\lambda 1} = k_{Cr}^{\lambda 1} \cdot C_{cr} + k_{Co}^{\lambda 1} \cdot C_{Co}$$

$$A^{\lambda 2} = A_{Cr}^{\lambda 2} + A_{Co}^{\lambda 2} = k_{Cr}^{\lambda 2} \cdot C_{cr} + k_{Co}^{\lambda 2} \cdot C_{Co}$$

Para plantear y luego resolver este sistema debemos llevar a cabo la siguiente secuencia de pasos:

- 1) Demostrar que efectivamente las absorbancias de las soluciones de Cr y Co son aditivas.
- 2) Seleccionar dos longitudes de onda adecuadas (λ_1 y λ_2)
- 3) Determinar las cuatro constantes k a partir de las gráficas de la ley de Beer (k es la pendiente en la gráfica de A vs. C, a una λ dada)
- 4) Medir la absorbancia de la muestra desconocida a las dos longitudes de onda (λ_1 y λ_2)

1. Comprobar la aditividad de las absorbancias

Se medirá la absorbancia de 3 soluciones:

Cr(III) 0,015 M

Co(II) 0,150 M

Mezcla Cr(III) 0,015 M y Co(II) 0,150 M

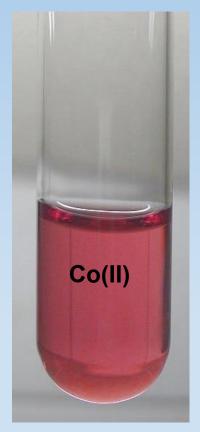
a las siguientes longitudes de onda (nm):

375, 400, 410, 425, 440, 455, 470, 480, 490, 500, 510,

520, 530, 540, 550, 570, 575, 580, 600, 625

Como blanco se emplea agua destilada.





1. Comprobar la aditividad de las absorbancias

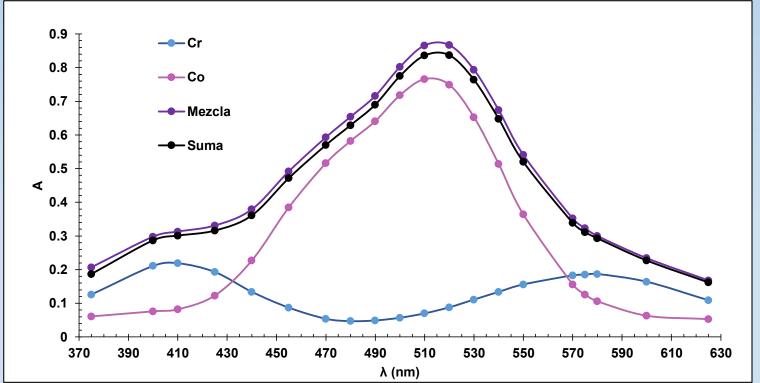
Con las medidas experimentales de absorbancia de las 3 soluciones a las distintas λ se construye una tabla, en donde se añade una columna que corresponde a la suma algebraica de las soluciones de Cr(III) y Co(II):

	Medidas experimentales de absorbancia			Suma algebraica
λ(nm)	A _{Cr 0,015 M}	A _{Co 0,15 M}	A _{mezcla Cr/Co}	A _{Cr} + A _{Co}
375				
400				

	Medidas experimentales de absorbancia			Suma algebraica
λ(nm)	A _{Cr 0,015M}	A _{Co 0,15M}	A _{mezcla Cr/Co}	A _{Cr} + A _{Co}
375	0,181	0,100	0,291	0,281
400	0,263	0,124	0,374	0,387
410	0,270	0,130	0,386	0,400
425	0,207	0,131	0,345	0,338
440	0,150	0,223	0,388	0,373
455	0,099	0,373	0,502	0,472
470	0,066	0,489	0,598	0,555
480	0,059	0,548	0,655	0,607
490	0,061	0,604	0,720	0,665
500	0,069	0,674	0,806	0,743
510	0,083	0,716	0,868	0,799
520	0,101	0,695	0,864	0,796
530	0,122	0,610	0,792	0,732
540	0,144	0,484	0,677	0,628
550	0,167	0,342	0,545	0,509
570	0,195	0,154	0,363	0,349
575	0,197	0,127	0,334	0,324
580	0,197	0,107	0,311	0,304
600	0,176	0,071	0,250	0,247
625	0,121	0,062	0,188	0,183

1. Comprobar la aditividad de las absorbancias

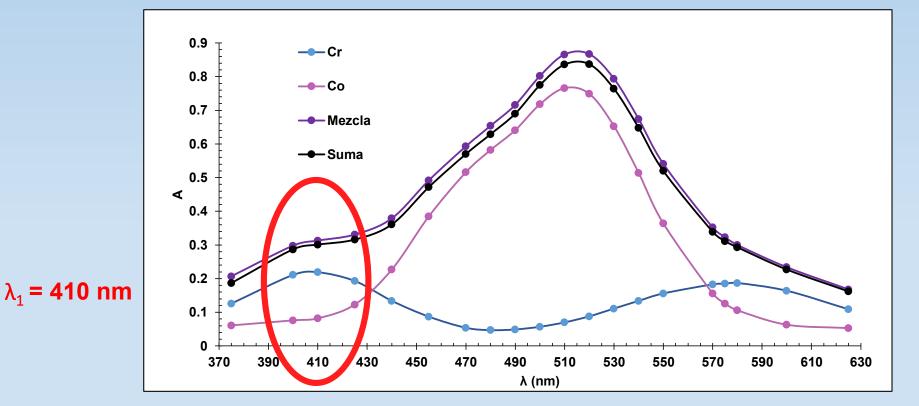
En un mismo gráfico representar los tres espectros experimentales y la suma algebraica de las absorbancias de Cr(III) y Co (II):



Los puntos de la suma deben estar muy cercanos a los de la mezcla, demostrando que para este sistema se cumple la condición de no interacción, es decir, que un componente no afecta las propiedades de absorción del otro.

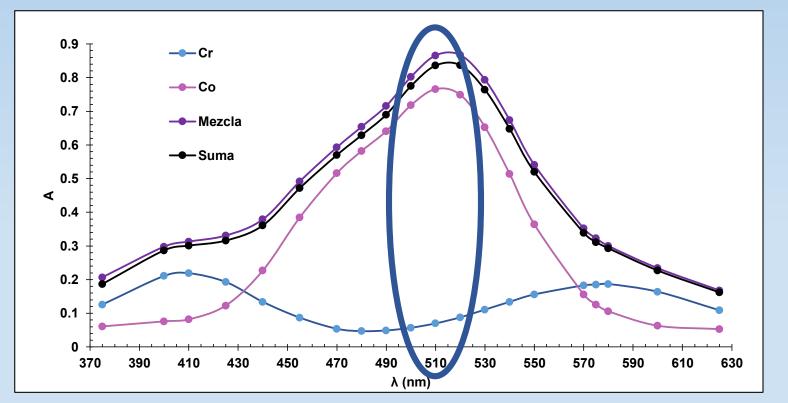
2. Seleccionar las longitudes de onda de trabajo (λ_1 y λ_2)

Debemos escoger dos longitudes de onda para las cuales la diferencia entre las absorbancias de Cr y Co sea máxima. Así, elegimos en primer lugar una longitud de onda (λ_1) en donde el **Cr(III)** tenga un **máximo** de absorbancia y, al mismo tiempo, el **Co(II)** posea un **mínimo** (**410 nm**).



2. Seleccionar las longitudes de onda de trabajo (λ_1 y λ_2)

La otra longitud de onda (λ_2) corresponderá al caso inverso: una absorbancia **máxima** para el **Co(II)** y **mínima** para el **Cr(III)** (esta longitud de onda corresponde a **510 nm**).



 $\lambda_2 = 510 \text{ nm}$

3. Determinar las constantes k a partir de las gráficas de la ley de Beer

A las longitudes de onda seleccionadas (λ_1 y λ_2) se lee la absorbancia de tres soluciones concentraciones crecientes de Cr(III) y tres soluciones con concentraciones crecientes de Co(II):

Cr(III) 0,005 M; 0,010 M; 0,015 M

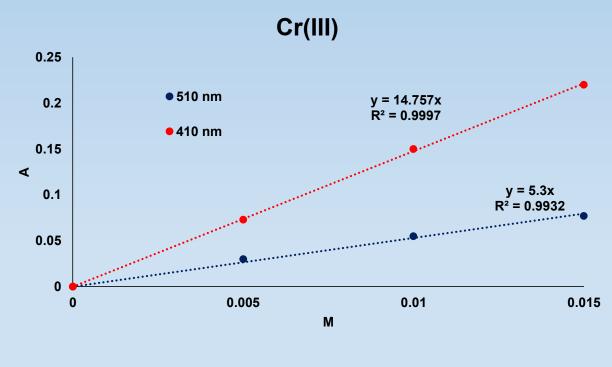
Co(II) 0,050 M; 0,100 M; 0,150 M

Para cada ión metálico se grafica absorbancia vs. concentración, tanto a la longitud de onda λ_1 como a la λ_2 . Tener en cuenta que las rectas deben pasar por el origen. Las pendientes de estas rectas corresponden a los valores de k que necesitamos para resolver el sistema de ecuaciones planteado anteriormente

3. Determinar las constantes k a partir de las gráficas de la ley de Beer

Cr(III) 0,005 M; 0,010 M; 0,015 M

Solución Cr (III)	Α (λ ₁)	Α (λ ₂)
0,005 M	0,073	0,030
0,010 M	0,150	0,055
0,015 M	0,220	0,077



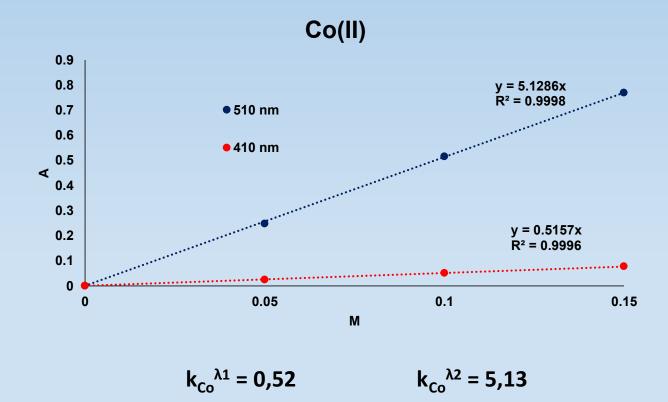
$$k_{Cr}^{\lambda 1} = 14,76$$

$$k_{\rm Cr}^{\lambda 2} = 5.3$$

3. Determinar las constantes k a partir de las gráficas de la ley de Beer

Co(II) 0,05 M; 0,10 M; 0,15 M

Solución Co (II)	Α (λ ₁)	Α (λ ₂)
0,05 M	0,025	0,248
0,10 M	0,051	0,516
0,15 M	0,078	0,770



4. Medir la absorbancia de la muestra desconocida a las dos longitudes de onda seleccionadas

Lo último que nos queda es medir la absorbancia de la muestra problema a las dos longitudes de onda seleccionadas, $A^{\lambda 1}$ y $A^{\lambda 2}$. De esta manera ya tenemos completo nuestro sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, cuya resolución nos permite obtener los valores de concentración de Cr(III) y Co(II) en la muestra.

	Α (λ ₁)	Α (λ ₂)
MUESTRA	0,190	0,535

$$A^{\lambda 1} = k_{Cr}^{\lambda 1} \cdot C_{Cr} + k_{Co}^{\lambda 1} \cdot C_{Co}$$
$$A^{\lambda 2} = k_{Cr}^{\lambda 2} \cdot C_{Cr} + k_{Co}^{\lambda 2} \cdot C_{Co}$$

$$0,190 = 14,76 \cdot C_{cr} + 0,52 \cdot C_{co}$$

 $0,535 = 5,3 \cdot C_{cr} + 5,13 \cdot C_{co}$

$$C_{cr} = 0,0095 M$$

$$C_{co} = 0.0944 M$$

Datos del TP

