

PRÁCTICA 4

COLORIMETRÍA. LEY DE LAMBERT-BEER

OBJETIVOS

- Adquirir los conocimientos básicos sobre espectrofotometría de absorción visible, incluyendo la Ley de Lambert-Beer y sus aplicaciones en Química. Para ello se realizará un experimento en el laboratorio que muestre cómo utilizar un espectrofotómetro para llevar a cabo la determinación cuantitativa de un compuesto.

FUNDAMENTO TEÓRICO

Espectrofotometría ultravioleta visible. Ley de Lambert-Beer.

Los métodos espectroscópicos de análisis están basados en la medida de la radiación electromagnética que es absorbida o emitida por una sustancia. En función de ello se clasifican fundamentalmente en:

- Métodos de absorción:** Se basan en la disminución de la potencia de un haz de radiación electromagnética al interaccionar con una sustancia.
- Métodos de emisión:** Se basan en la radiación que emite una sustancia cuando es excitada previamente por medio de otro tipo de energía (térmica, eléctrica...).
- Métodos de fluorescencia:** Se basan en la radiación que emite la sustancia cuando es excitada previamente por un haz de radiación electromagnética.

Otras clasificaciones de los métodos espectroscópicos se establecen en función de la región del espectro electromagnético que interviene en la técnica. Así, pueden utilizarse regiones como rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas, etc. En la Figura 1 pueden verse las regiones del espectro electromagnético, en función de los valores de la longitud de onda (λ) de cada radiación:

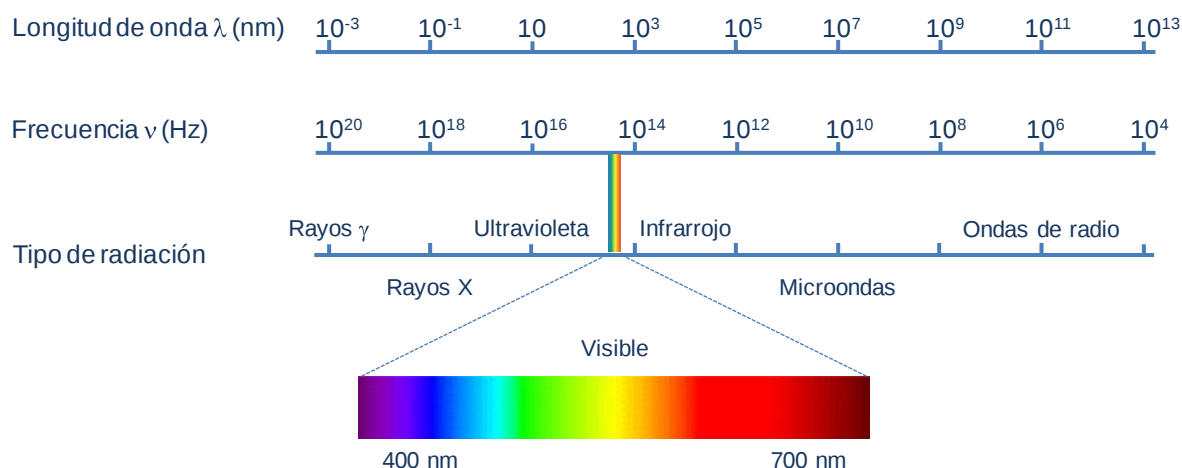


Figura 1

En esta figura puede también observarse como la luz visible para el ojo humano constituye únicamente una pequeña parte del espectro electromagnético.

Dado que los primeros métodos espectroscópicos desarrollados corresponden a la región del visible recibieron la denominación de métodos ópticos, la cual se utiliza todavía con frecuencia. A continuación, se ofrece una breve información sobre la ley de Lambert-Beer y la **espectrofotometría de absorción** en la región visible del espectro.

Si se considera que se dispone de una fuente de radiación que hace llegar a la muestra un haz de radiación, de longitud de onda previamente seleccionada, cuya potencia es P_0 , la muestra de espesor b absorbe una parte de esa radiación incidente, de forma que la potencia del haz disminuye después de atravesar la muestra siendo su nueva potencia P . El cociente entre la potencia de la radiación que sale de la muestra y la de la que incidió sobre ella, se define como transmitancia:

$$T = P/P_0.$$

La transmitancia también puede expresarse en tanto por ciento, multiplicando el cociente anterior por 100. Es más frecuente utilizar el concepto de **absorbancia**, o **densidad óptica**, que se define como el logaritmo de la transmitancia cambiado de signo:

$$A = \log (P_0/P) = - \log T$$

De acuerdo con estas expresiones, si la muestra no absorbe radiación, P y P_0 coinciden, por lo tanto $A=0$, y se transmite toda la radiación $T=1$ (100% de transmitancia). Si, en otro caso, se transmite solo un 1% de radiación ($T=0.01$), $P=P_0/100$, la absorción de radiación que ha tenido lugar corresponde a $A=2$.

Al incidir radiación electromagnética visible sobre la materia puede ser totalmente absorbida o totalmente reflejada. En el primer caso el objeto aparecerá de color negro y en el segundo de color blanco. Puesto que nosotros percibimos los objetos por medio de la luz reflejada, si hacemos incidir un haz de luz blanca (que contiene todas las longitudes de onda) sobre un objeto, éste absorberá ciertas longitudes de onda y reflejará otras, siendo éstas últimas las responsables del **color**. Se dice que este color (observado) es complementario del que se percibiría si la luz absorbida se pudiera detectar. Dado que en la parte experimental de esta práctica las medidas van a realizarse con espectrofotometría visible, es conveniente conocer para qué longitud de onda tiene cada color su máxima absorción, lo que se muestra en la tabla siguiente:

<u>Colores de la luz visible</u>		
Longitud de onda de máxima absorción(nm)	Color absorbido	Color observado
380-420	Violeta	Amarillo-verde
420-440	Azul-violeta	Amarillo
440-470	Azul	Anaranjado
470-500	Verde-azul	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-575	Amarillo-verde	Violeta

Para medir los valores de absorbancia y transmitancia de una disolución se utilizan **espectrofotómetros UV-Vis**, que, como puede verse en la Figura 2, se componen de cinco elementos principales:

- Una fuente de radiación que suele ser una lámpara de filamento de wolframio
- Un monocromador que permite seleccionar una longitud de onda determinada originando un haz monocromático.
- Un recipiente para contener la muestra denominado cubeta fabricado con un material que permite el paso de la radiación en la región del espectro de interés. Suelen ser de vidrio, plástico o cuarzo. El espesor de la cubeta más habitual es 1 cm.
- Un detector que convierte la energía radiante en una señal eléctrica.
- Una pantalla de visualización



Figura 2

La absorbancia está relacionada con la concentración de la sustancia, **c**, por la ley de **Lambert-Beer**, que se resume con la ecuación: $A = \epsilon b c$, donde **c** se expresa en mol/L, **b** es la longitud del camino óptico (anchura de la célula que contiene la disolución de la sustancia) y se expresa en cm, y ϵ es la absorptividad molar, propiedad característica de cada sustancia correspondiente a la cantidad de radiación que absorbe a una longitud de onda determinada por unidad de concentración, siendo sus unidades $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (téngase en cuenta que la absorbancia no tiene unidades).

Para poder aplicar la ley de Lambert-Beer es necesario seleccionar previamente una longitud de onda puesto que tanto **A** como ϵ varían con ella. Para ello se obtiene previamente el **espectro de absorción** de la sustancia, que consiste en una representación de los valores de absorbancia frente a la longitud de onda expresada en nanómetros (nm). Del espectro de absorción puede seleccionarse el valor de longitud de onda para el cual la absorbancia es máxima. La Figura 3 muestra dos ejemplos de espectro de absorción.

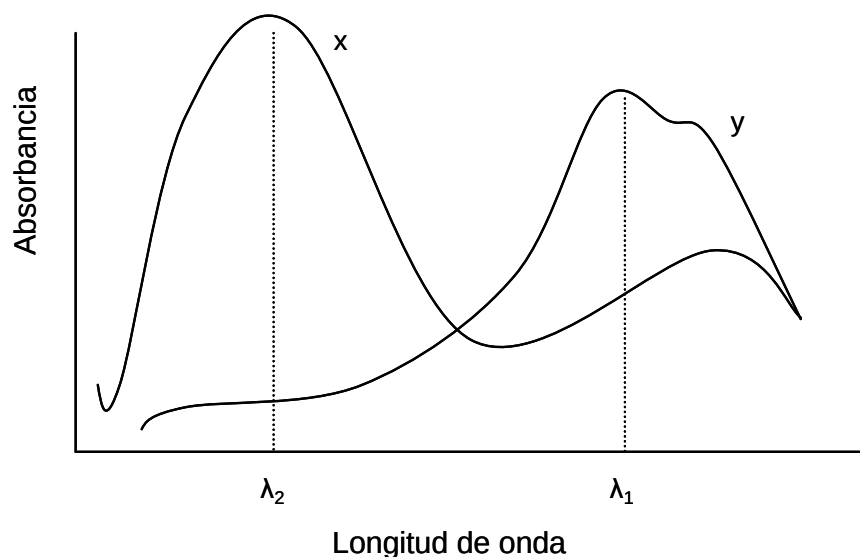


Figura 3

Si bien la ley de Lambert-Beer indica que a una representación gráfica de la absorbancia frente a la concentración le correspondería una línea recta, esto sólo tiene lugar para disoluciones diluidas, por ello, no es conveniente utilizar la expresión matemática directamente, sino construir en cada caso la recta de calibrado que confirme que la ecuación de Lambert-Beer se cumple en el intervalo de concentraciones en el que se trabaja. Esta recta se construye midiendo la absorbancia de una serie de disoluciones de concentración perfectamente conocida.

En la práctica que realizaremos a continuación se determinará la concentración de cobre presente en una determinada muestra por espectrofotometría. Para ello se formará previamente el complejo con amoníaco, es decir, $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Por otro lado, se medirá la absorbancia de una serie de disoluciones cuya concentración de $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ es perfectamente conocida, representándose el valor de absorbancia obtenida frente a la concentración (recta de calibrado). Por último, a partir del valor de absorbancia medido para la disolución problema y utilizando la recta de calibrado se determinará la cantidad de cobre presente en la muestra problema.

El compuesto formado $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ presenta color azul. Como ya se ha mencionado anteriormente para que una sustancia sea coloreada debe absorber luz visible, provocándose como consecuencia tránsitos electrónicos. En el caso del complejo amoniacal de cobre, la presencia de los ligandos (NH_3) alrededor del ion Cu^{2+} provoca que los orbitales 3d del Cu^{2+} se diferencien energéticamente, posibilitando la absorción de un fotón de energía adecuada que provoca un tránsito electrónico, como puede verse en la figura 4.



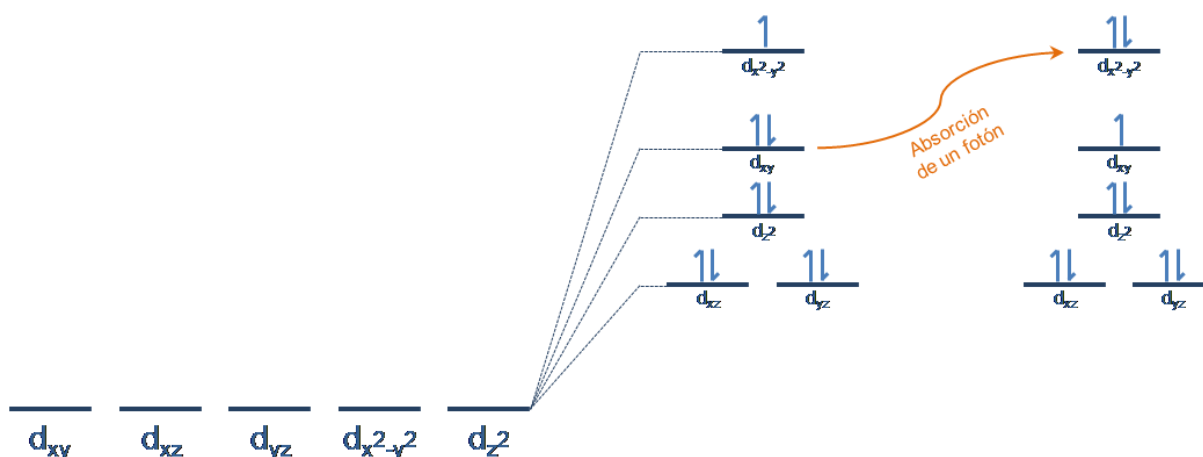


Figura 4

MATERIAL Y REACTIVOS

Material

Un vaso de precipitados de 50 mL
4 matraces aforados de 50 mL
Una pipeta graduada de 5 mL
Una pipeta graduada de 10 mL

10 frascos de polipropileno
Un frasco lavador
Un espectrofotómetro
Cubetas espectrofotométricas.

Reactivos

Sulfato de cobre 0.1000 M

Amoníaco (Dispensador 10 mL)

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

En el **manejo del espectrofotómetro** han de observarse una serie de **precauciones**:

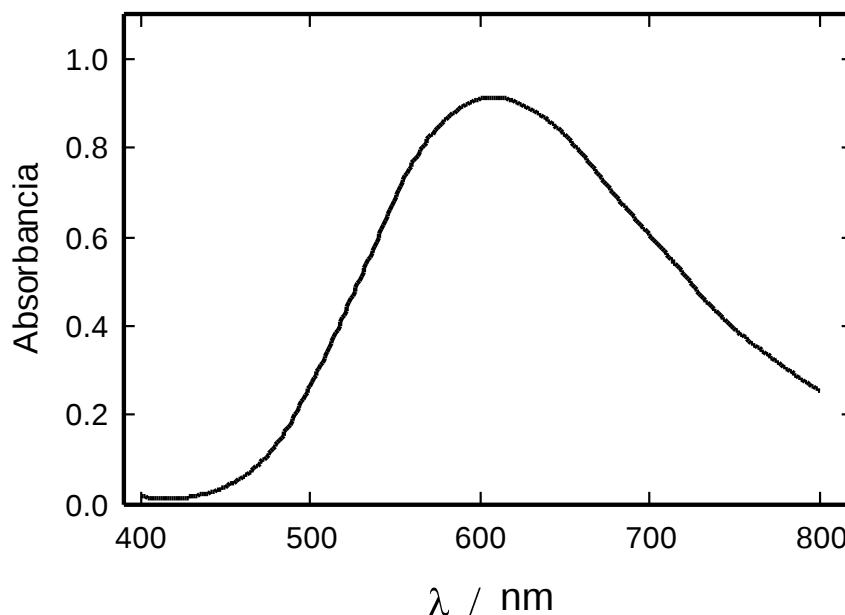
- No dejar huellas en las paredes de la cubeta espectrofotométrica.
- Enjuagar cuidadosamente la cubeta espectrofotométrica con la disolución que va a ser medida, antes de llenarla definitivamente.
- Realizar las medidas empezando por la disolución más diluida y acabando por la más concentrada.

Construcción de la recta de calibrado

1. Coger 50 mL de una disolución patrón 0.1000 M de sulfato de cobre.
2. A partir de la disolución anterior y de una disolución de amoníaco preparar varias disoluciones del complejo $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ de concentración conocida. En concreto, estas disoluciones se prepararán mezclando 5.0 mL de amoníaco con 1.0, 2.5, 3.5, 5.0, 6.0, 7.5, 8.5 y 10.0 mL respectivamente de la disolución patrón de sulfato de cobre y enrasando en un matraz aforado de 50 mL con agua destilada. Las disoluciones se guardarán en frascos de polipropileno y se etiquetarán hasta el momento de medir la absorbancia.

3. Preparar la disolución que será utilizada como blanco. Para ello se pondrán 5.0 mL de amoníaco en un matraz aforado de 50 mL y se enrasará con agua destilada.

4. Elegir la longitud de onda a la cual se realizará posteriormente la medida de la absorbancia. Esa longitud de onda es la correspondiente al máximo de absorción, pues es ahí donde la sensibilidad es máxima. Además, las medidas de absorbancia en esa zona implican un menor error frente a pequeñas variaciones en la longitud de onda que las realizadas en cualquier otra zona de la banda de absorción. Para elegir la longitud de onda de medida se ha obtenido el espectro de absorbancia de una de las disoluciones preparadas anteriormente (la obtenida mezclando 5.0 mL de amoníaco y 8.5 mL de disolución patrón de cobre) entre 550 y 650 nm. Dicho espectro se muestra a continuación:



5. Medir la absorbancia de cada una de las disoluciones preparadas (a la longitud de onda determinada en el apartado anterior).

6. Representar la recta de calibrado.

Determinación de la cantidad de cobre en una muestra problema.

1. Medir la absorbancia (a la longitud de onda de máxima absorción) de una muestra problema que contiene cobre. Dicha muestra es suministrada por el profesor y ha sido preparada mezclando una cantidad desconocida de disolución patrón de cobre con 5.0 mL de amoníaco. Esta determinación se realizará por duplicado.

RESULTADOS Y CUESTIONES

1. Comentar el espectro de absorción del complejo amoniacal y explicar cuál ha sido la longitud de onda elegida para medir la absorbancia.

2. Calcular la concentración exacta de la disolución patrón de CuSO_4 preparada a partir de la masa pesada. ¿Con qué instrumento se realizó la pesada? ¿Se enrasó en probeta o en matraz aforado? ¿Por qué?

3. Completar la siguiente tabla:

Disolución	V amoniaco (mL)	V CuSO ₄ (mL)	Cu(NH ₃) ₄ ²⁺ (M)	Absorbancia medida
PATRÓN 1				
PATRÓN 2				
PATRÓN 3				
PATRÓN 4				
PATRÓN 5				
PATRÓN 6				
PATRÓN 7				
PATRÓN 8				
PATRÓN 9				
PROBLEMA				

4. Representar gráficamente la absorbancia frente a la concentración.

5. Hallar la concentración (mol/L) de la disolución problema a partir de la recta de calibrado.

6. Hallar la concentración de la disolución problema a partir de la expresión algebraica de la ley de Lambert-Beer. Para ello, es necesario obtener previamente el valor del coeficiente de absorción molar a partir de la pendiente de la recta de calibrado.

BIBLIOGRAFÍA

- Harris, D. C. *Análisis Químico Cuantitativo*. 3ª ed. Capítulo 18. Ed. Reverté, 2007.
- Higson, S. P. J. *Química Analítica*. 1ª ed. Capítulo 5. Ed. Mc Graw Hill. 2007.
- Martínez Urreaga, J.; Narros Sierra, A.; De La Fuente García-Soto, M.M.; Pozas Requejo, F.; Díaz Lorente, V.M. *Experimentación en Química General*. Capítulo 5. Ed. Thomson Paraninfo, 2006.
- Hernández-Hernández, L.; González-Pérez, C. *Introducción al análisis instrumental*. Capítulo 3. Ed. Ariel Ciencia, 2002.