

Química analítica

Las determinaciones cuantitativas tienen por objeto buscar o hallar la cantidad relativa de un constituyente en una muestra dada. Conociendo esta cantidad podemos saber en cualquier momento la cantidad que tenemos de este constituyente partiendo del conocimiento de la muestra inicial. Se suele expresar el resultado de este análisis en tanto por ciento en peso. Las primeras determinaciones cuantitativas desarrolladas sistemáticamente se basaron en la determinación directa de la masa de una de las muestras. Debido a que la masa es una propiedad no específica, estas determinaciones tenían grandes problemas para llevarse a cabo. Se superaron de dos formas diferentes:

Se pueden separar los constituyentes unos de otros generalmente por precipitación y pesar los mismos en forma de un compuesto de composición conocida, a lo que se conoce como **análisis gravimétrico**.

También se puede obtener el peso del componente deseado indirectamente mediante la determinación de la cantidad de un reactivo para que reaccione totalmente con el componente. Este proceso se denomina **análisis volumétrico**.

Estos dos grupos de determinaciones analíticas se denominan métodos químicos o métodos clásicos. Se caracterizan porque es imprescindible que exista una reacción química.

[T.1.]

En la actualidad hay una gran variedad de métodos de análisis que forman el grupo llamado **métodos físico-químicos**. Están basados en la medida de una propiedad cuya magnitud depende de la masa. Por ejemplo, la absorción de la luz u otra forma de energía radiante. La cantidad de luz absorbida por una muestra y que se puede medir es proporcional a la cantidad de átomos, moléculas o iones que componen esa muestra.

También puede utilizarse alguna propiedad que no dependa de la masa, densidad o dureza. Se les conoce también como **métodos instrumentales** ya que requieren el uso de instrumentos distintos a los que utilizamos generalmente en un laboratorio.

Métodos instrumentales

Se basan en la interacción energía-materia (energía-masa). La reacción química no es necesaria a excepción de las coulombimetrías (métodos basados en la medida de la intensidad de corriente necesaria para transformar un ion metálico en su correspondiente metal).

Algunas veces, las reacciones son un paso preliminar para llevar a cabo el método físico-químico. Las colorimetrías son unos métodos basados en la medida del color. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de la muestra.

[T.2.]

Los métodos físico-químicos se caracterizan por ser más específicos o selectivos que los químicos debido a que la mayoría de las propiedades que podemos medir son características de un grupo reducido de componentes. En los físico-químicos es necesario encontrar empíricamente el valor del factor que nos relaciona la proporción que medimos con la masa o concentración del constituyente que la produce. En la mayoría de estos métodos se requiere el empleo de patrones que sirvan como base de comparación con las medidas que realizamos posteriormente. Es necesario realizar una curva de calibrado.

[T.3.]

Hay una gran variedad de métodos instrumentales. Casi tantos como manifestaciones de energía. Su desarrollo ha sido relativamente reciente, bien porque los fenómenos en los que se basan no eran conocidos o porque no se disponía de los aparatos apropiados.

La buena acogida de los métodos instrumentales se debe a la gran posibilidad para llevar a cabo numerosas determinaciones que sin ellos eran imposibles, a la rapidez, a la buena selectividad y frecuentemente a la simplicidad del método. Suelen ser apropiados para componentes minoritarios o traza, puesto que para componentes mayoritarios son más adecuados los químicos porque se obtiene gran precisión. En cuanto a su aplicación presentan la ventaja de proporcionar una mayor rapidez y sensibilidad en el análisis de la mayoría de los elementos. Son no destructivos, permitiendo la identificación de muestras sin destrucción de las mismas, es decir, sin cambios en sus propiedades físicas y su cantidad. Para poder aplicar el análisis instrumental lo más eficazmente a un problema, es necesario comprender las relaciones fundamentales que existen entre las especies químicas y las propiedades físico-químicas que desarrollan. También es necesario conocer el alcance, las ventajas y limitaciones de la medida de esa propiedad.

Clasificación de los métodos instrumentales.

Según la forma de energía que interaccione con la materia:

- Ópticos: Todos aquellos basados en la interacción entre la materia y la radiación electromagnética, desde los rayos X hasta las microondas. Parte de esta radiación puede ser absorbida por la materia y desprendida en forma de calor. Puede ser la radiación dispersada o remitida con o sin cambio de longitud de onda. También puede haber un cambio en las propiedades de la radiación. La muestra puede emitir radiación electromagnética bajo condiciones determinadas de excitación.
- Eléctricos: Se basan en la interacción materia-energía eléctrica. Métodos potenciométricos (celdas galvánicas).
- Otros grupos:
 - Magnéticos: medida de alguna propiedad magnética. Ejemplo: resonancia magnética nuclear.
 - Nucleares: los hay de dos tipos: los que utilizan radioisótopos como fuentes de radiación y los que los utilizan como trazadores.
 - Térmicos: Se mide el calor absorbido o desprendido.
- Separación: Todos aquellos basados en la separación previa de los constituyentes antes de su cuantificación.

Propiedades de la radiación electromagnética

La radiación electromagnética es un tipo de energía que se transmite a enormes velocidades por el espacio. Adopta muchas formas aunque la más conocidas son la luz y el calor radiante. Otras manifestaciones menos conocidas son los rayos X, la radiación ultravioleta visible, las microondas, etc.

Muchas de las propiedades de la radiación electromagnética se describen bastante bien según el modelo clásico de fenómenos ondulatorios. Este modelo clásico considera a la radiación electromagnética como una serie de ondas constituidas por un campo eléctrico perpendiculares entre sí y perpendiculares a la dirección de propagación de dicha onda.

A diferencia de otros fenómenos ondulatorios como el sonido, la radiación electromagnética no necesita un medio soporte para su propagación por lo que se transmite fácilmente en el vacío. Pero este modelo ondulatorio no es capaz de explicar ciertos fenómenos que suceden cuando interacciona la radiación

electromagnética con la materia, como la absorción y emisión de dicha radiación. Para explicar estos fenómenos es necesario considerar que la radiación electromagnética es una corriente de paquetes discretos de energía. Estos paquetes de energía se comportan como partículas individuales, llamadas fotones. Cada fotón se caracteriza por una frecuencia. Estas dos formas de ver a la radiación electromagnética como partícula y como onda no se excluyen sino que se complementan.

Propiedades de la radiación electromagnética como onda

Se puede considerar que la radiación electromagnética está formada por un campo eléctrico que sufre oscilaciones sinusoidales a medida que se desplaza por el espacio. El campo eléctrico está representado como un vector cuya longitud es proporcional a la fuerza del campo. El campo eléctrico oscila en una dirección que es perpendicular a la dirección de propagación de la radiación. Todas las radiaciones se pueden describir con los siguientes parámetros:

- Amplitud (A): Longitud del vector eléctrico en el máximo de la onda.
- Periodo (p): Tiempo que tarda en pasar dos máximos o dos mínimos sucesivos por un punto fijo del espacio.
- Frecuencia (ν): Número de oscilaciones del campo eléctrico por segundo. Equivale a $1/p$. Esta frecuencia sólo depende de la fuente de radiación y es totalmente independiente del medio que atraviesa la radiación.
- Velocidad de propagación (v_i): Velocidad a la que se mueve el frente de la onda a través de un medio. Depende del medio y de la frecuencia.
- Longitud de onda (λ): Distancia lineal entre dos máximos o mínimos sucesivos.

$V_i =$.

$V_i \text{ máxima} = 3 \cdot 10^{10} \text{ cm/s}$ (en el vacío)

La v_i de la radiación en cualquier otro medio es menor que c debido a que la radiación interacciona con los electrones de los iones, átomos o moléculas que existen en ese medio. (Ver gráfico (A), fotocopia 1).

- Número de onda (σ): Inverso de la longitud de onda, en centímetros ($1/\lambda$).
- Índice de refracción de un medio (n): Medida de la interacción de dicho medio con la radiación.

$n = c/v_i$

- Potencia de radiación (P): Energía del haz de luz que alcanza un área determinada por segundo.
- Intensidad: Potencia por unidad de ángulo sólido.

La potencia y la intensidad están relacionadas con el cuadrado de la amplitud por lo que a veces se confunden.

Para poder explicar la absorción y la emisión por parte de la materia es necesario considerar a la radiación electromagnética como un conjunto de paquetes de energía llamados cuantos, y que cada fotón tiene una energía que es proporcional a la frecuencia.

[T.4.]

Absorción de la radiación.

Es un proceso mediante el cual una especie química situada en un medio transparente disminuye selectivamente la intensidad de la radiación electromagnética, es decir, elimina ciertas frecuencias de la radiación electromagnética. Según la teoría cuántica, cada partícula elemental, posee un número irrefutable de

estados de energía, de los cuales, el de menor energía se denomina estado fundamental. A temperatura ambiente, todas las partículas se encuentran en ese estado fundamental. Cuando un fotón de radiación incide sobre esta partícula, es probable que se absorba si la energía del fotón coincide exactamente con el desnivel de energía entre el estado fundamental y otro estado de energía superior. En estas condiciones, la energía del fotón se transfiere a la partícula, pasando ésta a un estado de mayor energía, llamado estado excitado. La excitación de una especie del estado fundamental al estado excitado, se puede escribir por la siguiente ecuación.

[T.5.]

Este estado excitado tiene un tiempo de vida medio muy corto, alrededor de 10^{-8} s. Una vez excitada la especie, tiende inmediatamente a relajarse a su estado fundamental transfiriendo la energía que contiene generalmente al disolvente en que se encuentra, transformándose esa energía en calor.

Esa energía que le sobra puede dar lugar a una fotodescomposición de la especie, puede ser utilizada en la formación de otros productos o puede, incluso, reemitir como radiación. Este calor que desprende es indetectable. Apenas hay variación de la temperatura. Podemos decir que el sistema en estudio no sufre apenas ninguna perturbación cuando tiene lugar la absorción de la radiación.

Absorción atómica

Cuando tenemos un medio donde existen átomos gaseosos y le incidimos con un haz de radiación policromática, se observa que sólo se eliminan unas pocas frecuencias de esta radiación y si realizamos un espectro, siendo un espectro la representación de la absorción en función de la longitud de onda, éste está formado por unas pocas líneas (Ver ©, fotocopia 1).

Absorción molecular

Las moléculas experimentan tres tipos de transiciones cuantizadas cuando se excitan mediante radiación ultravioleta visible e infrarroja. La radiación ultravioleta visible determina la promoción de un electrón situado en un orbital molecular o atómico de baja energía a otro orbital de mayor energía. La diferencia de energía entre estos orbitales debe coincidir con uno de los fotones con los que se irradia la muestra. A este salto se le llama transición electrónica. Al proceso de absorción se le conoce como absorción electrónica. Además, las moléculas presentan otros dos tipos de transiciones inducidas por la radiación: vibracionales y rotacionales. En cada nivel electrónico existe multitud de niveles de energía cuantizados propio de los enlaces que mantienen unida a la molécula (Ver (D), fotocopia 1). Los subniveles de energía son debidos a las vibraciones en los enlaces. La diferencia de energía entre los distintos estados vibracionales es de un orden inferior de magnitud que la energía entre los niveles electrónicos. Además, en cada nivel vibracional existen distintos subniveles de energía llamados subniveles rotacionales debidos a la rotación de la molécula en torno a su centro de gravedad.

[T.6.]

Los espectros de absorción molecular son bandas, debido a la gran cantidad de posibles estados energéticos.

[T.7]

Procedimientos de relajación

Los dos más importantes son los que se denominan relajación no radiante y fluorescencia.

Relajación no radiante.

Cuando los electrones pasan del estado fundamental a otro y a distintos estados vibracionales, se produce la desactivación vibracional que consiste en que las moléculas excitadas colisionan con el disolvente transfiriendo esa energía vibracional que tiene de más a las moléculas del disolvente mediante distintos pasos. Ese exceso de energía que toma el disolvente se transforma en calor. Esta desactivación vibracional es tan efectiva que el tiempo de vida medio de un estado vibracional excitado es de 10–15 s.

También se puede producir la desactivación no radiante entre un estado excitado y el estado fundamental. El mecanismo no se conoce bien, pero el efecto neto es un aumento de la temperatura. Es menos eficaz ya que el tiempo de vida medio de un estado excitado es de 10–8 s.

Fluorescencia

Una vez que todos los electrones se encuentran en el nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado, la energía que todavía tiene, la elimina en forma de radiación. La energía que reemite es menor que la absorbe. Se pierde algo en el primer paso de llegar al estado vibracional más bajo.

Métodos ópticos

Están incluidas todas las zonas del espectro electromagnético desde los rayos X hasta las microondas. Además se pueden basar en las distintas formas en que interacciona la radiación con la materia (absorción, emisión,...).

Primera clasificación de los métodos ópticos

Se clasifican en dos grupos fundamentales: métodos espectroscópicos y métodos no espectroscópicos.

Métodos espectroscópicos

Se basan en medir los espectros, es decir, la variación de la intensidad de la energía radiante en función de la longitud de onda o de la frecuencia. Estos espectros se deben a transiciones entre niveles energéticos cuantizados. Son los más utilizados.

Métodos no espectroscópicos

Se basan en la interacción entre la materia y la radiación electromagnética basándose en el cambio de dirección o en el cambio de las propiedades físicas.

Por ejemplo, los que están basados en la reflexión, refracción, difracción, etc.

Segunda clasificación de los métodos ópticos

Basados en la absorción de la radiación electromagnética: Espectrofotometrías

Se mide la fracción de la radiación electromagnética absorbida por una sustancia. Tienen distinta aplicación analítica dependiendo de la zona del espectro que utilicemos.

La zona de microondas (λ 0.75 a 375 mm)(baja energía) sólo sirve para estudiar gases bipolares a baja presión. Es tan poco energética que tan sólo da lugar a transiciones rotacionales, las cuales están muy impedidas en muestras líquidas y sólidas. Sin embargo, los gases puros muestran espectros rotacionales bastante complejos.

La zona infrarroja (λ 0.7 a 300 μ m) puede dar lugar a transiciones vibracionales y rotacionales dentro del estado fundamental electrónico. Tiene aplicaciones cualitativas y cuantitativas. Su principal aplicación es la

identificación de compuestos orgánicos, los cuales presentan espectros en la zona del infrarrojo con numerosos máximos y mínimos tan característicos que se conocen como la huella digital de un compuesto.

La zona del visible y ultravioleta próximo (λ 180 a 800 nm). Esta radiación es capaz de producir transiciones electrónicas. Su aplicación fundamental es el análisis cuantitativo.

La zona del ultravioleta lejano (λ 10 a 180 nm). Los espectros en esta zona sirven para la determinación de compuestos orgánicos saturados.

La zona de los rayos X (λ 0.01 a 100 nm) es tan energética que da lugar a transiciones de los electrones más internos por lo que la absorción o espectro en esta zona sólo depende de la composición elemental de la muestra. Son pocos específicos y se utilizan para la determinación de plomo en la gasolina.

Absorción de neutrones (rayos γ) (0.005 a 1.4 nm). En esta zona los neutrones son capturados por el núcleo emitiendo generalmente un fotón de alta energía o dando lugar a la fisión.

Basados en procesos fotoluminiscentes

Cuando el sistema emite radiación por influencia de la radiación electromagnética. Hay tres tipos:

Basados en la dispersión de la radiación.

Basados en la difracción de la energía radiante.

Destaca la difracción de rayos X, que determina la estructura cristalina de un sólido.

Basados en la reemisión de la energía radiante.

Cuando la molécula ha absorbido una energía y la reemite en un tiempo del alrededor de 10^{-8} s, el proceso se denomina fluorescencia. Si este tiempo es superior, se denomina fosforescencia.

Basados en la emisión por parte de la muestra

Además de la fotoluminiscencia, puede darse la quimioluminiscencia cuando la muestra emite radiación tras sufrir una reacción química. Se basan en la medición de esta radiación. Son importantes los métodos basados en la medida de la radiación emitida por una sustancia que ha sido excitada por una llama. Es lo que se denomina fotometría de llama.

Basados en el cambio de las propiedades de la radiación electromagnética cuando no ha sido ni absorbida ni dispersada por la materia

Microscopía y microscopía electrónica

Instrumentación

Los componentes básicos de los instrumentos analíticos de espectroscopía de absorción, emisión y fluorescencia son muy parecidos en sus funciones y los requisitos que han de cumplir. La mayoría de estos instrumentos constan de cinco componentes:

- Fuente estable de energía radiante.
- Selector de longitudes de onda que permita el aislamiento de una región reducida de longitudes de onda.

- Recipiente que contenga la muestra
- Detector de la señal radiante o un transductor que convierta la energía radiante en una señal de medida generalmente de tipo eléctrico.
- Procesador de señales.

Fuente

En espectroscopías de absorción y de fluorescencia se requiere una fuente de radiación externa de potencia constante y suficientemente intensa como para poder ser detectada y medida. Generalmente la energía radiante de una lámpara varía exponencialmente con el voltaje de la fuente eléctrica de alimentación. Por esta razón es necesario el uso de reguladores de voltaje. El problema de la estabilidad de una fuente se evita a veces desdoblado la señal de salida de la fuente en dos haces: un haz de referencia que pasa tan solo por el disolvente y un haz de medida que pasa por la muestra. Estos dos haces serán medidos por un mismo detector de forma alternada o por dos detectores que están convenientemente equilibrados. El cociente de intensidades de estos dos haces va a ser independiente de las fluctuaciones de la lámpara.

[T.8.]

Las fuentes utilizadas en espectroscopía de absorción y fluorescencia molecular son continuas. Emiten radiación cuya intensidad sólo varía con la longitud de onda. También existen lámparas de líneas que emiten en un número reducido de longitudes de onda. Éstas se utilizan en espectroscopía atómica. Las lámparas continuas que más se utilizan son: de H₂ ó D₂, de filamento de Wolframio y de arco de Xenón.

Lámpara de H₂ ó D₂ (Hidrógeno o deuterio)

Se utilizan en la zona del ultravioleta. En éstas, una descarga eléctrica hace que el H₂ o el D₂ se disocie emitiendo una radiación ultravioleta y proporcionando un espectro continuo útil en la región que va de 160 a 375 nm. (Ver (F), fotocopia 2).

La lámpara de deuterio suele proporcionar mayor intensidad y se utiliza con más frecuencia. Es una lámpara de las denominadas de bajo voltaje. Se basa en la formación de un arco entre un filamento recubierto de óxido y un electrodo metálico. Al calentarse el filamento aporta los electrones necesarios para mantener una corriente continua a un potencial de 40 V.

Lámpara de filamento de Wolframio

Se utiliza en la zona del visible y del infrarrojo. Se calienta un filamento de Wolframio hasta la incandescencia por medio de una corriente eléctrica. La radiación que emite depende de la temperatura de trabajo. A la temperatura normal de trabajo (3000 K) sólo el 15 % del total de la energía radiante cae en el visible. Si aumentamos la temperatura, aumentamos rápidamente el porcentaje de radiación en la zona del visible, pero disminuye el tiempo de vida de la lámpara. Es útil para la región de entre 320 y 2500 nm. El límite inferior lo impone la absorción del bulbo de vidrio donde se encuentra alojado el filamento. La energía que emerge de esta lámpara en el visible varía aproximadamente en función de la cuarta potencia del voltaje y por tanto es esencial que esté unida a un estabilizador de la corriente.

Existen también lámparas de Wolframio halógeno que contienen, además del filamento de Wolframio, una pequeña cantidad de yodo dentro de un bulbo de cuarzo. El cuarzo permite que se pueda trabajar a temperaturas superiores a los 3000 K, lo que hace posible mayores intensidades. Y el yodo alarga el tiempo de vida de la lámpara casi al doble. Un espectrofotómetro ultravioleta visible, generalmente tiene las dos lámparas: una de H₂ ó D₂ y otra de Wolframio, de manera que al pasar de 360 nm deja de funcionar la primera para pasar la segunda de forma que siempre se utilice la fuente más potente.

Lámpara de arco de Xenón

Produce una intensa radiación al pasar una corriente por una atmósfera de Xenón. Proporciona un espectro continuo entre 250 y 600 nm con una intensidad máxima alrededor de los 500 nm. En algunos instrumentos esta lámpara funciona de forma interrumpida mediante descargas regulares procedentes de un condensador. Se obtienen intensidades elevadas.

Transmitancia de los materiales.

(En (G), fotocopia 2) Se muestran intervalos de longitudes de onda en los que son transparentes los distintos materiales que se utilizan para fabricar componentes de instrumentos espectroscópicos.

Se puede observar que el vidrio de silicato (normal) es transparente en la zona del visible y del infrarrojo, pero no en la del ultravioleta.

Selectores de longitudes de onda

Proporcionan una radiación constituida por un grupo limitado y continuo de longitudes de onda denominado banda.

Ningún selector de longitudes de onda es capaz de proporcionarnos una única longitud de onda, sino que proporciona una distribución de longitudes de onda (Ver (H), fotocopia 2).

La calidad del dispositivo es inversamente proporcional a la anchura de la banda que deja pasar (más estrecha más sensible). Hay dos tipos de selectores de longitudes de onda: filtros y monocromadores.

Filtros

Trabajan absorbiendo toda la radiación excepto una banda donde se encuentra la longitud de onda que nos interesa. Pueden ser de dos tipos: de transferencia y de absorción.

Filtros de interferencia:

Se usan en la región del ultravioleta, visible e infrarrojo. Se basan en los principios de la interferencia óptica para originar una banda de radiación relativamente estrecha (ver (I), fotocopia 2).

Están constituidos por una lámina de material transparente (NaCl, MgF₂) recubierta de dos finas películas metálicas de forma que el grosor de éstas hace que radiación incidente en ellas se transmita la mitad y la otra mitad se refleje. Todo este conjunto se coloca entre 2 placas de vidrio que lo protegen de la atmósfera.

Cuando la radiación incide en la primera película metálica, el 50 % de la radiación se refleja y el otro 50 % se transmite incidiendo en la segunda capa metálica donde la radiación sufrirá el mismo reparto: 50 % se transmite y 50 % se refleja. Este 50 % que se refleja incide en la cara interna de la primera película. Si tiene una longitud de onda adecuada, se transmitirá de nuevo y en fase con la luz incidente de forma que el resultado es una interferencia constructiva para esta longitud de onda y una eliminación destructiva del resto de longitudes de onda (ver (J), fotocopia 2). Anchos de banda de unos 10 nm (estrecha).

Filtros de absorción

Son más baratos. Sólo se pueden aplicar en la región del visible. Constituidos por una lámina de vidrio coloreado que elimina parte de la radiación incidente por absorción. Tienen anchuras de banda de 30 a 250 nm. Son menos eficaces.

Monocromadores

Nos permiten variar de forma continua y en un amplio intervalo las longitudes de onda de una radiación. Realizan un barrido espectral y permiten aislar cualquier porción de longitudes de onda dentro del espectro electromagnético. Los monocromadores que se utilizan en la zona del ultravioleta, visible o infrarrojo son semejantes. Tan sólo se diferencian en el material con que están contruidos. Un monocromador tiene los siguientes componentes:

- Rendija de entrada
- Una lente o un espejo colimador que produce haces paralelos de la radiación.
- Un prisma o red de reflexión para dispersar la radiación en las distintas longitudes de onda que la componen.
- Un elemento de enfoque que proyecte una serie de imágenes en una superficie plana que se denomina plano focal.
- Generalmente, ventanas de entrada y salida para proteger al resto de los componentes del polvo y de humos corrosivos que puede haber en el laboratorio. (Ver (K), fotocopia 2).

La red de reflexión dispersa la radiación mediante la difracción en una superficie refractora y el prisma dispersa la radiación mediante la desviación de la radiación cuando pasan por dos de sus caras. Si tenemos un detector en la rendija de salida y movemos el componente dispersivo de forma que una de esas longitudes de onda atraviese la rendija, la respuesta del detector es una estrecha banda de forma Gaussiana. La anchura depende de la calidad del componente dispersivo, del tamaño de la rendija de salida y de la distancia focal. Pero, generalmente, la anchura de esa banda suele ser de décimas de nanómetro (ver (L), fotocopia 2).

De todas formas, el haz de salida de un monocromador está generalmente contaminado con radiación de longitudes de onda diferentes a las que hemos ajustado el aparato. Estas radiaciones se deben a reflexiones de la radiación en determinadas partes de monocromador o a dispersiones de la radiación en las partículas de polvo que puede haber en el monocromador. Para evitar estas radiaciones (parásitas) se colocan filtros en determinados puntos del monocromador que las absorben. También se pinta toda la superficie interna del monocromador con pintura negra satinada. Además, todos los monocromadores disponen de ventanas de entrada y salida para que estén herméticamente cerrados y evitar así la entrada de polvo o pequeñas partículas. De todos modos, es inevitable la existencia de estas radiaciones parásitas.

Recipientes para las muestras.

A excepción de la espectroscopía de emisión, en el resto de los instrumentos se necesita un recipiente para mantener la muestra. Se le suele denominar celda o cubeta. Tiene que fabricarse con el material adecuado de acuerdo con la región del espectro en que trabajemos. Tiene que ser un material que transmita totalmente la radiación. El cuarzo se puede utilizar en la zona del ultravioleta, visible e infrarrojo. En visible también valen cubetas de vidrio o de plástico (más baratas). Normalmente las ventanas de las cubetas son normales (perpendiculares) a la dirección del haz de la radiación, para evitar reflexiones.

Las más utilizadas son las que tienen 1 cm por cada lado. Los resultados que obtengamos en un análisis espectroscópico dependen mucho de la conservación y cuidado de las cubetas. Las huellas digitales, grasa y depósitos que puedan quedar en las paredes modifican notablemente las características de transmisión de dicha cubeta.

Detectores.

Es un dispositivo que indica la existencia de algún fenómeno físico. Ejemplos: la aguja de una balanza que detecta la variación de masa y una película fotográfica que detecta la presencia de luz. Un transductor es un detector especial que convierte las magnitudes físicas y químicas en señales eléctricas, ya sea en forma de

corriente, de voltaje o de carga. Un transductor ideal para la radiación electromagnética debe de responder rápidamente a bajos niveles de energía radiante en un amplio intervalo de longitudes de onda. Debe de producir una señal eléctrica que sea fácil de amplificar y que contenga poco ruido. Además, debe de presentar una señal mínima en ausencia de radiación. Finalmente, la señal eléctrica que produce debe de ser directamente proporcional a la potencia del haz que le llega.

Existen dos tipos de transductores: los que detectan fotones (fotoeléctricos o cuánticos) y los que responden al calor (caloríficos o térmicos).

Los cuánticos se basan en la interacción de la radiación con una superficie reactiva que produce electrones. A este proceso se le denomina fotoemisión. O una superficie que eleva electrones a estados de energía en los cuales puede conducir la electricidad. A este proceso se le denomina fotoconducción. Solamente las radiaciones ultravioleta, visible e infrarrojo próximo son capaces de producir estos procesos. Generalmente la radiación infrarroja se detecta midiendo la variación de temperatura de un material que se ha colocado en el camino del haz radiante. La variación de temperatura es tan pequeña que es necesario un estricto control de la temperatura de trabajo. La sensibilidad relativa de los detectores térmicos es independiente de la longitud de onda, pero es menos sensible que los detectores fotónicos o cuánticos, los cuales no dan una respuesta constante frente a las longitudes de onda. Hay distintos tipos de detectores fotónicos: **fototubos**, **tubos fotomultiplicadores**, detectores de fotoconductividad, **fotodiodos de silicio** y celdas voltaicas.

Fototubos

Son los detectores más utilizados. Constan de un cátodo semicilíndrico y un ánodo de filamento. Se encuentran dentro de un tubo transparente herméticamente cerrado y donde se ha hecho el vacío. Sobre la superficie del cátodo se encuentra depositada una sustancia que es fotoemisiva como puede ser un metal alcalino o un óxido de metal alcalino. Esta sustancia fotoemisiva emite electrones cuando se irradia. Si aplicamos un potencial entre los dos electrodos, los fotoelectrones emitidos se encaminarán hacia el ánodo produciendo una corriente eléctrica que puede ser fácilmente medida y amplificada.

El número de electrones emitidos por la superficie fotoemisiva es directamente proporcional a la potencia de la radiación que le llega. Generalmente el potencial aplicado entre los electrodos es de 90 V (Ver (M), fotocopia 2).

Tubo fotomultiplicador

Son semejantes al fototubo, pero mucho más sensibles. Formados por un cátodo similar al del fototubo que emite electrones cuando se irradia. Estos electrones son acelerados hacia otra superficie que se llama dinodo, el cual está a 90 V más positivo que el cátodo y que por lo tanto actuará como ánodo respecto a ese cátodo. Al incidir esos electrones en la superficie del dinodo, cada fotoelectrón produce nuevos electrones, los cuales son acelerados hacia un nuevo dinodo, sufriendo de nuevo una ampliación electrónica. Esto tiene lugar varias veces de forma que al final se producen de 10^6 a 10^7 electrones por cada fotoelectrón, los cuales son recogidos finalmente en un ánodo, produciendo una corriente fácil de medir (ver (N), fotocopia 2).

Fotodiodos de silicio

Han alcanzado recientemente mucha popularidad debido a que se pueden fabricar pequeños chips de silicio que contienen más de mil fotodiodos, unos junto a otros, dando lugar a filas de fotodiodos. Si estas filas se colocan en el plano focal de un monocromador, pueden medirse de forma simultánea todas las longitudes de onda, permitiendo así una espectroscopía bastante rápida. Es menos sensible que el tubo fotomultiplicador.

Procesadores y medidores de señales

Un procesador es un dispositivo electrónico que mide la señal de salida del detector (eléctrica) y la amplifica. En la actualidad, las señales obtenidas son almacenadas en un ordenador pudiendo tratarse y realizar operaciones matemáticas como si fuesen números.

Espectroscopía de absorción molecular ultravioleta visible

Transmitancia:

Si tenemos una disolución que contiene una especie absorbente en una concentración c y la longitud de esa muestra es b , debido a las interacciones entre la radiación y las especies absorbentes, se comprueba que la potencia de un haz incidente disminuye su valor. Se denomina transmitancia (T) a la fracción de radiación incidente transmitida por la disolución. Su valor va del 0 al 100 por ciento.

$$T = P/P_0$$

[T.9.]

Absorbancia:

$A = -\log T = \log(P_0/P)$. Cuanto mayor es la transmitancia, mayor es la absorbancia, y viceversa.

Ley de Lambert–Beer:

Demuestra que la absorbancia es directamente proporcional a la longitud b de la trayectoria que atraviesa la disolución y a la concentración c de la especie absorbente.

a absorptividad

b longitud que atraviesa la radiación

c concentración en gramos/litro

$$A = abc$$

Si la concentración viene dada en moles/litro, la constante de proporcionalidad entre A y la concentración se denomina absorptividad molar ϵ . Entonces: $A = \epsilon bc$.

La absorbancia no tiene unidades (es adimensional). El valor de A va de 0 a 2. ϵ es una constante que depende de la longitud de onda en la que se está trabajando y de la naturaleza de la especie.

Medición de la absorbancia: Debido a que siempre va a haber interacciones entre la radiación y las paredes de la cubeta, produciéndose pérdidas de radiación por reflexión y a veces incluso por absorción, se mide la transmitancia de una cubeta que contenga la disolución con la especie absorbente y otra cubeta que sólo contenga el disolvente.

$$A = \log(P_0/P) = \log(P_{\text{dte}}/P_{\text{muestra}})$$

La absorbancia es una propiedad aditiva. Si en una muestra donde existen distintas especies absorbentes, siempre que no existan interacciones entre estas especies, la absorbancia que nos proporciona la muestra va a ser igual a la suma de las absorbancias de cada una de las especies.

$$A_m = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \epsilon_1 bc_1 + \epsilon_2 bc_2 + \dots + \epsilon_n bc_n$$

Esto permite la determinación simultánea de la concentración de varios componentes en una muestra.

Limitaciones de la Ley de Lambert–Beer:

La proporcionalidad directa entre la absorción y la concentración cuando b es constante tiene desviaciones. Pueden ser debidas a tres causas: limitaciones reales de la ley, a desviaciones instrumentales como consecuencia de la forma en que medimos la absorbancia y a desviaciones químicas como resultado de cambios químicos ocasionados por variaciones de la concentración.

Desviaciones debidas a limitaciones reales de la ley

Es una ley límite: sólo se cumple para disoluciones diluidas. Cuando la concentración aumenta y es superior a 0,01 M, las especies absorbentes están tan próximas que se producen interacciones electrostáticas modificándose su capacidad de absorción y la constante dieléctrica del medio y dando lugar a desviaciones entre la relación lineal entre A y la concentración. Lo mismo sucede en una disolución donde existe muy poca concentración de especies absorbentes pero se encuentra en presencia de alta concentración de otro tipo de especies. Además, estas limitaciones reales pueden ser debidas también a que el valor de $\tilde{\nu}$ depende del índice de refracción del medio. Si un aumento de la concentración modifica considerablemente el índice de refracción se producirán desviaciones de la ley.

Desviaciones químicas

Se producen cuando la especie absorbente se disocia, asocia o reacciona con el disolvente dando lugar a un producto que presenta propiedades de absorción diferentes a la de la especie original. Ejemplo: indicadores coloreados.

[T.10.]

Desviaciones instrumentales

Son debidas a que la Ley de Lambert–Beer sólo se cumple cuando la radiación que incide en la muestra es monocromática. En la práctica sabemos que no se cumple ya que con los dispositivos que disponemos para seleccionar la longitud de onda (filtros y monocromadores) se obtiene una banda de longitudes de onda más o menos simétrica en torno a la deseada.

[T.11.]

(Ver (O), fotocopia 1)

El error que se comete debido a la utilización de un haz policromático es despreciable siempre que estemos trabajando en una región del espectro donde las características de absorción de la especie en función de la longitud de onda no varíe demasiado. (Ver (P), fotocopia 1).

Todas las desviaciones instrumentales proporcionan valores menores de absorbancia. Por lo tanto, siempre producen errores negativos. También se producen variaciones instrumentales debidas a la presencia de radiaciones parásitas las cuales provienen de reflexiones y dispersiones producidas en las distintas superficies del instrumento. A menudo estas radiaciones tienen longitudes de onda muy diferentes a la de la radiación principal e incluso pueden llegar al detector radiaciones que no hallan pasado por la muestra.

Aplicaciones de la espectroscopía de absorción

Se utiliza generalmente para determinaciones cuantitativas y probablemente es el procedimiento más usado en

laboratorios químicos y clínicos de todo el mundo. Para saber qué muestras se pueden determinar es necesario conocer las especies moleculares que absorben radiación ultravioleta visible. Éstas pueden ser compuestos orgánicos o inorgánicos. La absorción por parte de los compuestos orgánicos se debe a dos tipos de electrones responsables de esta absorción: compartidos que participan en un enlace y que por lo tanto están asociados a más de un átomo, y electrones no compartidos localizados generalmente en torno a átomos como azufre, oxígeno, nitrógeno y halógenos. La longitud de onda a la que absorbe una molécula orgánica depende de la fuerza con que retiene a sus electrones. Así, los electrones que participan en enlaces sencillos tipo C–C o C–H están tan fuertemente retenidos que se necesita para excitarlos energías que corresponden a longitudes de onda inferiores a 180 nm, es decir, absorben en la zona denominada ultravioleta de vacío. Estos espectros no tienen aplicación en química analítica debido a las dificultades experimentales que se encuentran para trabajar en esta zona del espectro ya que el cuarzo absorbe esa radiación y los componentes atmosféricos también y se necesitan materiales adecuados y trabajar totalmente en el vacío. Los componentes orgánicos que tienen dobles y triples enlaces presentan por lo general picos de absorción localizados en la región del ultravioleta porque los electrones que participan en estos enlaces no están tan fuertemente sujetos y son por lo tanto fáciles de excitar. Los grupos orgánicos responsables de la absorción en la zona ultravioleta visible se denominan cromóforos.

También son responsables de que absorban en el ultravioleta visible. También todas aquellas moléculas orgánicas que contengan azufre, bromo y yodo absorben en la zona del ultravioleta debido a que tienen electrones no compartidos algo sueltos y fáciles de excitar.

También absorben en la zona del ultravioleta visible especies inorgánicas. La mayoría de los iones complejos y de las especies inorgánicas muestran espectros similares a los de compuestos orgánicos caracterizados por bandas anchas y por un número reducido de picos. Una excepción importante son los espectros de los iones de la serie de lantánidos y actínidos. Los electrones responsables de la absorción de estos elementos son electrones que se encuentran en orbitales muy internos, orbitales f que se encuentran apantallados de la influencia externa, dando lugar a espectros con bandas estrechas, los cuales están relativamente poco afectados por la naturaleza del disolvente donde se encuentra la especie o el ligando al que está unido ese ion.

$H^{++}H_2O \rightarrow H_3O^{+}$

También los elementos que corresponden a las series de transición absorben en la zona del visible y las disoluciones de estos elementos son coloreados (Cu – azul – Co). La absorción en el visible corresponde a transiciones entre orbitales d llenos y vacíos de estos elementos. La longitud de onda a la que absorben y por lo tanto la diferencia de energía que existe entre estos orbitales d , dependen de la posición en la tabla periódica, del estado de oxidación y del ligando al que este unido el elemento.

También tiene importancia desde el punto de vista analítico la absorción por transferencia de carga, ya que presenta absorptividades molares muy altas, generalmente mayores de 10.000, lo que da lugar a un método muy sensible. Muchos complejos orgánicos e inorgánicos presentan esta absorción, siendo complejos de transferencia de carga. Un complejo está formado por un aceptor de electrones (normalmente un metal) y un ligando dador de electrones, lo cual da lugar a un compuesto estable.

[Fe.1.]

En los complejos de transferencia de carga cuando tiene lugar la absorción se produce una transición entre un electrón perteneciente al ligando hacia un orbital vacío del metal. Un ejemplo es el complejo de Fe con SCN⁻ (sulfocianuro) que es rojo debido a la absorción por transferencia de carga.

Instrumentos para medir la absorción en el U.V. – visible:

Los componentes anteriormente explicados se disponen de forma diferente para dar lugar a distintos

instrumentos.

Así, existen los fotómetros, que emplean filtros como selector de longitud de onda y se caracterizan por ser baratos, su facilidad de manejo y manutención, sencillos y resistentes. Si no se necesita una elevada pureza espectral, las medidas de absorbancia realizada por fotómetro es aproximadamente igual a la de un espectrofotómetro. Sus desventajas son su menor versatilidad, incapacidad para realizar espectros y que sus anchuras de banda efectivas son relativamente anchas lo que conduce a errores. Los fotómetros se utilizan para medir absorbancia en la zona del visible y dado que utilizan filtros como selectores de longitud de onda sólo se realizan medidas puntuales. Para cada longitud de onda se utiliza un filtro nuevo y generalmente el filtro seleccionado será el que tenga un color complementario al de la disolución cuya absorptividad mide, por ejemplo una disolución roja transmite radiación roja por lo que absorbe la verde. La absorptividad será mayor o menor dependiendo de la cantidad de muestra.

Los fotómetros de un solo haz están constituidos por una fuente, un filtro, una cubeta, un fotodetector y el registrador. Los fotómetros de doble haz están constituidos por fuente y filtro, a continuación una lente que produce un haz paralelo y un divisor de haces, generalmente suele ser un espejo cromoplateado, que transmite el 50% de la radiación y el otro 50% lo refleja, siguiendo esos dos haces caminos diferentes y son medidos por separado (fig. 7). No se comete error por la fluctuación de la lámpara.

Los espectrofotómetros utilizan como selector de longitud de onda un monocromador que permite una banda relativamente estrecha de longitudes de onda y seleccionar de forma continua esta longitud. Se utiliza en la zona del ultravioleta, visible e infrarrojo. Su limitación es el bajo rendimiento de radiación por lo que se necesita un fotomultiplicador como detector. También son de un solo haz o de doble haz, siguiendo el mismo esquema que los fotómetros. Generalmente se usan espectrofotómetros para la zona del U.V. que disponen de dos lámparas (de hidrógeno y de wolframio) controlados por ordenador.

Los instrumentos multicanal utilizan como detectores fotodiodos de silicio (serie de diodos). Tienen una óptica muy sencilla, generalmente compuestos por una lámpara, una red de reflexión que dispersa la radiación en distintas longitudes de onda y cada una se detecta en un diodo de forma que se lleva a cabo la lectura simultánea de todas las longitudes de onda, realizándose el espectro en segundos. El rendimiento es mucho más elevado que el de un espectrofotómetro normal dado que tiene menor número de componentes ópticos, de forma que se puede utilizar una sola lámpara de D2 tanto para el U.V. como para el visible. Es muy reproducible en la localización de la longitud de onda porque no tiene elementos móviles de longitud de onda.

Aplicaciones de la espectrografía de absorción molecular.

Tiene aplicaciones cuantitativas y cualitativas, pero en el análisis cualitativo está muy limitado y sólo será útil en la detección de grupos funcionales como los grupos carbonilo (280–296) o bencénicos (sobre 260), pero generalmente la información que da un espectro de absorción no es suficiente sino complementaria a otras técnicas. Es importante considerar que el disolvente utilizado debe ser transparente en la región del espectro utilizada y tener el suficiente poder de disolución para mantener la muestra disuelta. Se han de tener en cuenta las interacciones entre el disolvente y las especies absorbentes. Con disolventes polares (H_2O , alcoholes, cetonas) tienden a difuminarse los espectros vibracionales y por consiguiente no se deben utilizar cuando se desea obtener un espectro detallado, por el contrario los disolventes no polares (hexano) proporcionan espectros que se asemejan más a los de un gas. La polaridad del disolvente puede afectar a la posición de los máximos de absorción. Generalmente se usa el agua y etanol para la zona del U.V. y para la visible cualquier disolvente incoloro.

En cuanto al análisis cuantitativo la espectroscopía es una de las técnicas más útiles en este tipo de determinaciones. Las características más importantes son su amplia aplicabilidad, sensibilidad elevada, los límites de detección están entre 10^{-4} y 10^{-5} M como mínima medida, selectividad de moderada a alta, exactitud bastante buena, los errores cometidos son inferiores al 5% y en ocasiones inferiores al 1% además

de ser métodos fáciles de realizar y de automatizar. Una de las características más importantes es su amplia aplicabilidad, se pueden aplicar tanto a especies absorbentes, es decir a compuestos orgánicos con grupo cromóforo y especies inorgánicas como los metales de transición, como a especies no absorbentes mediante una reacción de derivación previa en la que se hace reaccionar el compuesto con otra especie para dar lugar a un compuesto estable y absorbente, la reacción ha de ser cuantitativa, es decir, totalmente desplazada hacia la derecha. Un reactivo típico es el SCN⁻ que reacciona con el Fe, Co y Mo dando lugar a complejos de transferencia de carga. Más importantes son los reactivos orgánicos quelantes (con pares de electrones libres) que dan lugar a compuestos muy estables coloreados, un ejemplo es la dimetilglixina ((DMG)₂) que forma con el Ni un compuesto de color rosa fuerte ((DMG)₂-Ni) o la ortofenantrolina.

También se puede mediante esta espectroscopía llevar a cabo la resolución de mezclas, dado que la absorbancia es aditiva y que por lo tanto la absorbancia de una disolución es la suma de las absorbancias. Se puede determinar la concentración de los compuestos seleccionando dos longitudes de onda que difieran significativamente y utilizando patrones de estos componentes para poder medir las absorbancias de cada cual en cada una de las longitudes de onda, finalmente se calcula la absorbancia de la muestra a las dos longitudes de onda y se establece un sistema de ecuaciones:

$$A_{M,1} = A_{A,1} + A_{B,1}$$

$$A_{M,1} = \epsilon_{A,1} b C_A + \epsilon_{B,1} b C_B$$

$$A_{M,2} = \epsilon_{A,2} C_A + \epsilon_{B,2} C_B$$

$A_{M,1}$ es la absorbancia para λ_1

$A_{M,2}$ para λ_2

Ambas son conocidas experimentalmente. [Fe.2.]

C_A y C_B son incógnitas.

ϵ se debe calcular mediante una recta de

calibrado para distintas concentraciones de A

para las dos longitudes de onda.

Se realizan para B igualmente las rectas de

calibrado.

Las concentraciones deben ser directamente proporcionales a la absorbancia (no pueden ser curvas).

Si hubiera un componente más se necesitaría coger otra longitud de onda adicional, resultando tres ecuaciones.

Otra aplicación es la detección del punto de equivalencia en una volumetría y esto es posible siempre que alguno de los reactivos o productos sea una especie absorbente.

[Fe.3.]

Para determinar el punto de equivalencia se puede utilizar un método químico (fenoftalina, etc.) o mediante

espectroscopía de absorción molecular.

Se puede determinar mediante la representación de la absorbancia frente al volumen de agente valorante añadido, siempre se ha de cumplir la ley de Beer y además la representación serán dos tramos lineales con distinta pendiente. Una corresponderá a la absorbancia antes del punto de equilibrio y la otra después de este. El punto final es la intersección de estos tramos lineales.

[Fe.4.]

También determina la constante de acidez de una sustancia, por ejemplo de un indicador ácido– base (son sustancias que varían de color dependiendo de si están protonados o no lo están).

[Fe.5.]

Espectroscopía de fluorescencia molecular.

La fluorescencia es un proceso de emisión, de gran interés analítico basado en la excitación de átomos y moléculas por absorción de radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental devolviendo el exceso de energía en forma de fotones. Existen dos tipos de relajación, la radiante y la no radiante. Dentro de la relajación no radiante se comprenden la vibracional, conversión interna (ambas ya explicadas) y **conversión externa** que produce lo mismo que la conversión interna pero tiene lugar por interacciones y transferencias de energía entre las moléculas excitadas y las moléculas del disolvente u otra especie en disolución. Prueba de la existencia de la conversión externa es la disminución que sufre la fluorescencia al variar el disolvente.

En las radiantes está la fluorescencia. La longitud de onda más larga de absorción (correspondiente al nivel menos energético) comprende a la longitud menos energética, por eso se denominan líneas resonantes. El resto de las longitudes de onda de fluorescencia son más largas que las de absorción. Siempre hay un desplazamiento de longitudes de onda de líneas de fluorescencia con respecto a las de absorción (desplazamiento de Stokes).

[Fe.6.]

Especies Fluorescentes.

En principio, como la fluorescencia es un proceso de relajación después de haber absorbido radiación electromagnética se puede decir que todas las moléculas absorbentes pueden ser fluorescentes, pero no es así ya que debido a la estructura molecular existen otros caminos de relajación más que la fluorescencia y por eso se define el rendimiento o eficiencia cuánticos (ϕ) que es el cociente entre el número de moles de la especie luminiscente y el número de moles de la especie absorbente tomando valores entre 0 y 1.

El ϕ se puede calcular mediante las velocidades relativas con que tienen lugar los distintos procedimientos de relajación entre el estado excitado de más baja energía y el estado fundamental

[Fe.7.]

Todos aquellos factores que favorezcan la velocidad con que tiene lugar la fluorescencia harán aumentar el rendimiento siendo el factor más importante la estructura molecular. Aquellas variables que incrementen las velocidades del resto de procesos de relajación harán disminuir la fluorescencia estando estos factores relacionados con el entorno.

Serán fluorescentes todos aquellos compuestos que tengan anillos aromáticos, existen también compuestos

carbocíclicos alifáticos y acíclicos y compuestos con dobles enlaces que presentan fluorescencia, pero son minoría. Casi todos los hidrocarburos aromáticos son fluorescentes siendo mayor la fluorescencia cuanto mayor es el número de anillos aromáticos y mayor sea el grado de condensación del anillo, como se observa a continuación:

$\lambda_{exc.}$ (nm) $\lambda_{em.}$ (nm)

Benceno 0.11 205 278

Naftaleno 0.29 286 321

Antraceno 0.46 365 400

Naftaceno 0.60 390 480

Sin embargo, los heterociclos sencillos (fig. 10) no presentan fluorescencia, pero cuando se unen a un anillo bencénico (fig. 11) sí la presentan.

En cuanto a los sustituyentes en estos anillos aromáticos, producen desplazamientos en las longitudes de onda de excitación y de emisión y también pueden producir un incremento o una disminución en la intensidad de fluorescencia. Generalmente los grupos que son dadores de electrones aumentan la intensidad de fluorescencia mientras que los grupos aceptores (ácidos, nitro, etc.) la disminuyen (fig. 12). También tiene importancia la rigidez estructural, una molécula presenta mayor fluorescencia a mayor rigidez. Un ejemplo es el fluoreno y el bifenilo (fig. 13), sus eficiencias son de aproximadamente 1 y 0,2 respectivamente. Este aumento se debe al grupo metileno presente en el fluoreno que lo dota de mayor rigidez. Como consecuencia del aumento de rigidez disminuye la velocidad del proceso de relajación no radiante lo que implica fluorescencia.

Lo mismo ocurre con colorantes que son fluorescentes. Cuando estos son absorbidos por un papel, la rigidez que les proporciona este incrementa la fluorescencia. Este efecto también se comprueba cuando tenemos ciertos ligandos orgánicos que son fluorescentes como la 8-hidroxiquinoleína que aumenta su intensidad de fluorescencia cuando se compleja con un metal.

[Fe.8.]

Influencia de la temperatura y el disolvente.

Un incremento de temperatura disminuye la fluorescencia dado que hace aumentar las colisiones entre las moléculas excitadas y las moléculas del disolvente, favoreciendo así el proceso de relajación no radiante (conversión externa). Igual sucede cuando disminuimos la viscosidad del disolvente. En cuanto a la polaridad, al aumentar esta aumenta la fluorescencia y generalmente se produce un desplazamiento de los máximos de excitación y de emisión.

Influencia de la concentración del analito en la intensidad de fluorescencia.

La intensidad de fluorescencia es proporcional a la intensidad de radiación absorbida.

[Fe.9.]

K depende del instrumento con el cual se mide y del factor geométrico que es constante con el instrumento. Se incluye también el rendimiento.

[Fe.10.]

Si sube la concentración se pierde la linealidad y la gráfica comienza a curvarse y si se sigue aumentando empieza a disminuir la intensidad con la concentración, este es el efecto de autoatenuación, el número de moléculas es tan grande y están tan próximas entre sí que las propias moléculas absorben la fluorescencia emitida por moléculas cercanas.

Se comprueba que la intensidad de fluorescencia depende de la potencia del haz incidente, al contrario que la absorbancia.

Espectros de emisión y absorción

En los métodos fluorescentes podemos registrar 2 tipos de espectros: de absorción o excitación y de emisión o fluorescencia.

Un espectro de excitación (absorción) se realiza midiendo la intensidad de emisión de una longitud de onda fija cuando variamos la longitud de onda con la que estamos excitando la muestra, mientras que un espectro de emisión (fluorescencia) se hace midiendo la intensidad de fluorescencia en función de la longitud de onda (a distintas longitudes) cuando excitamos la muestra a una longitud de onda fija. Como generalmente las diferencias de energía entre los niveles vibracionales de un estado excitado y del estado fundamental son iguales, estos espectros en teoría son imágenes especulares, aunque normalmente el espectro de emisión es más sencillo que el de excitación.

Existen dos tipos de instrumentos para medir la fluorescencia; fluorímetros, que usan como selector de longitud de onda un filtro, y espectrofluorímetros que emplean un filtro para seleccionar la longitud de onda de excitación y un monocromador de red para dispersar la radiación fluorescente procedente de la muestra. Actualmente los espectrofluorímetros llevan dos monocromadores (uno para excitación y otro para emisión). Los fluorímetros y los espectrofluorímetros son de doble haz. Se dispone de una fuente cuya radiación se desdobra en dos haces, un haz va hacia la muestra tras seleccionar la longitud de onda adecuada de excitación y posteriormente un detector detecta la fluorescencia emitida por la muestra tras pasar por el monocromador de emisión. Generalmente se mide a 90° pues la muestra emite en todas direcciones, pero a 90° los errores por dispersión en la cubeta y disolución son menores. El otro haz atraviesa un atenuador de radiación que disminuye la radiación a un valor aproximado al de la fluorescencia, llega a un detector y las señales de los dos detectores se procesan y se miden (fig. 14).

Las ventajas y desventajas son similares a las de los fotómetros y los espectrofotómetros.

Aplicaciones de la fluorescencia.

Los métodos fluorescentes son más usados por ser más selectivos y mucho más sensibles que los de absorción. Esa mayor sensibilidad es porque la intensidad se puede aumentar incrementando la potencia del haz incidente o amplificando la señal que llega al detector. Ninguna de estas opciones incrementa la absorbancia.

Mediante fluorescencia se pueden determinar especies orgánicas o inorgánicas pero muy pocas especies inorgánicas emiten fluorescencia, tan solo en disoluciones de Ce, Eu, Tb y algunos actínidos.

Generalmente en métodos de detección necesitan de alguna reacción previa, y así se pueden diferenciar en dos tipos:

Directos: hacen reaccionar el analito (catión o anión de la especie inorgánica) con un reactivo que da lugar a un compuesto estable fluorescente.

Indirectos: medir la atenuación de la fluorescencia de un reactivo como resultado de la reacción con el analito.

Más utilizado para la determinación de aniones.

La aplicación de la fluorescencia a compuestos orgánicos es elevadísima pues son innumerables los compuestos orgánicos determinados por fluorescencia, pero generalmente se aplica al análisis de alimentos, análisis farmacéutico, muestras clínicas y productos naturales.

Espectroscopía atómica:

Con la espectroscopía atómica se pueden determinar alrededor de setenta elementos. Es bastante sensible. Los métodos de detección que se alcanzan son del orden de micro gramos por litro. Además, se caracterizan por su elevada selectividad, sencillez, capacidad manejar los aparatos y un coste mucho más barato en cuanto a instrumentación.

Los métodos espectroscópicos atómicos se basan en los fenómenos de absorción, emisión y fluorescencia por parte de átomos o iones.

La información atómica se obtiene en dos zonas espectrales: la ultravioleta visible y la de rayos equis. Nosotros sólo vamos a considerar los espectros atómicos conseguidos en la zona del ultravioleta visible. Para obtener esta información atómica es necesario que la muestra se encuentre en fase gaseosa, que es donde los átomos y las partículas se encuentran lo suficientemente separadas entre sí, por lo que a las tres técnicas (absorción, emisión, fluorescencia) existe una fase previa que es la atomización, es decir, la atomización de una fase gaseosa atómica. Este paso previo es crítico. La sensibilidad, precisión y exactitud del resultado final va a depender de este dato.

Existen distintos procesos para atomizar la muestra, y de acuerdo con estos se clasifican los métodos atómicos.

(Fotocopia 4. A)

Los espectros atómicos, ya sean de emisión, absorción o fluorescencia están constituidos por líneas estrechas y bien definidas, procedentes de las transiciones de los electrones externos.

Estos espectros atómicos son característicos de cada elemento, y por lo tanto sirven para su identificación, pero si medimos la altura de esas líneas nos servirá para cuantificarlo.

A temperatura ambiente la mayoría de los átomos gaseosos que forman la muestra se encuentran esencialmente en el estado fundamental. La excitación de los electrones más externos de estos átomos a orbitales de más alta energía puede conseguirse mediante calor. El tiempo de vida media de un átomo excitado es muy pequeño, y tiende a volver a su estado fundamental emitiendo fotones de energía. De esta forma obtenemos el espectro de emisión atómica.

Cuando tenemos una sustancia en forma gaseosa a elevada temperatura, los átomos que forman la muestra son capaces de absorber radiaciones de longitudes de onda características para pasar del estado fundamental o de un estado excitado de baja energía a otro estado de mayor energía, dando lugar al espectro de emisión atómico.

Para poder realizar por lo tanto un espectro de absorción atómica necesitamos dos fuentes:

- Una que atomice la muestra, que será una fuente calorífica.
- Otra que excite la muestra, que será una lámpara.

Cuando tenemos una muestra gaseosa que ha absorbido radiación, estos átomos pueden volver al estado

fundamental emitiendo fluorescencia. Si nosotros la medimos tenemos el espectro de fluorescencia. Esta fluorescencia por parte de los átomos siempre la vamos a medir a noventa grados con respecto al haz incidente.

Espectroscopía de emisión: fuente calor

Espectroscopía de absorción: fuente lámpara

Los espectros atómicos son líneas. Esto es debido a que teóricamente en los átomos sólo existen niveles electrónicos, y no vibraciones.

[T.12]

En realidad, los espectros atómicos están formados por picos estrechos, y ese ensanchamiento de las líneas para dar lugar a pico es debido a dos fenómenos:

- Efecto Doppler, provocado por el rápido movimiento de los átomos cuando están absorbiendo o emitiendo. Los átomos, que se mueven hacia el detector, emiten a longitudes de onda más cortas que los que se mueven a dirección normal a éste.

Un efecto contrario entrar cuando se alejan del detector. El efecto neto es un aumento de la línea de emisión. Lo mismo nos ocurre si los átomos están absorbiendo. Este ensanchamiento se hace más pronunciado al aumentar la temperatura, porque un aumento de la temperatura provoca un aumento de la velocidad de las partículas.

- Ensanchamiento por presión: se debe a las colisiones entre átomos, que originan pequeñas variaciones de la energía del estado fundamental, y pequeñas diferencias de energía entre el estado fundamental y el estado excitado. Como el ensanchamiento Doppler, en el ensanchamiento por presión aumenta al aumentar la temperatura; por lo tanto, los espectros atómicos aumentan sus picos al aumentar la moléculas. Estos picos relativamente estrechos ocasionan un problema en el análisis cuantitativo, ya que ningún monocromador es capaz de seleccionar una banda de radiación tan estrecha como la anchura de los picos de absorción, dando lugar a errores instrumento tales de la ley de Lambert–Beer. Además, como la absorción es tan pequeña, el detector recibe una señal muy poco atenuada, y por lo tanto la sensibilidad es muy baja.

[T.13]

Para evitar esto se utilizan unas lámparas que se denominan lámparas de líneas, de forma que esa lámpara emite a una única longitud de onda, que es la seleccionada para la medida de absorción y, además, el pico de emisión de esa lámpara es siempre más estrecho que el pico de emisión o absorción que va a dar la muestra. Por ejemplo, si queremos determinar mercurio en una muestra, lo que haremos es fabricar una lámpara con mercurio en estado gas. Este mercurio se excita electrónicamente. Los átomos excitados de mercurio se relajan a su estado fundamental emitiendo a una longitud de onda característica (más bien a una banda estrecha de longitudes de onda) y esa radiación que emite va a ser la responsable de excitar al mercurio que tenemos en la muestra. Como el pico (tanto de emisión como de absorción) depende de la temperatura, siempre va a ser más estrecho que el de la muestra, siendo así más efectivo que el que proporciona la muestra.

Influencia de la temperatura en los espectros atómicos:

Tanto los espectros de absorción y emisión como los de fluorescencia atómica se ven altamente influidos por la diferencia de temperatura. Así, un aumento de la temperatura dará lugar a un aumento en la eficiencia de la atomización, aumentando la población atómica y produciendo un incremento de la sensibilidad, pero también

la disminuyen al aumentar la posibilidad de producirse la iniciación de estos átomos.

Otro efecto del aumento de la temperatura es el ensanchamiento de los picos, que produce una disminución de la altura de los mismos. Por lo tanto, está claro que es necesario un control de la temperatura para registrar tanto los espectros de emisión y absorción como los de fluorescencia. Además, la temperatura influye en el número de átomos excitados según la ecuación de Boltzmann:

[T.14]

Con esta expresión vemos que con un aumento de la temperatura aumenta el número de átomos excitados, ya que por ejemplo, un aumento de diez grados en una llama de 2500 grados supone un aumento del 3% de los átomos excitados y tan sólo una disminución del 0,002% de los átomos en estado fundamental.

Solamente el 1% de los átomos se puede excitar mediante el calor, y un 99% de los átomos pueden ser excitados mediante una lámpara. En principio, estos datos parecen decirnos que los métodos de absorción y fluorescencia son más sensibles que los de emisión, pero en realidad son métodos complementarios.

Atomización de la muestra:

Existen dos tipos de atomizadores: continuos y discretos. En los continuos la muestra se introduce a una velocidad constante dando una señal espectral constante con el tiempo. Los atomizadores de llama y plasma son atomizadores continuos. En cada uno de ellos se distinguen las siguientes etapas:

- 1.- Nebulización: consiste en formar una especie de niebla mediante un gas a alta presión.
- 2.- Desolvatación: el disolvente se evapora y se forma un aerosol molecular sólido finamente dividido.
- 3.- Volatilización: se pasa a fase gaseosa.
- 4.- Disociación: las moléculas se dividen en sus átomos.
- 5.- Ionización: los átomos se dividen en iones y electrones.

Tanto las moléculas como los iones y los átomos se pueden excitar mediante calor. En los átomos discretos se introduce una cantidad de muestra en forma de bolo obteniéndose un máximo de la señal espectral que cae o disminuye al abandonar el vapor atómico la zona calentada. At. discretos electrotérmicos y de chispa, en ellos se produce la desolvatación incrementando la temperatura hasta que el disolvente se evapore y luego la temperatura se sube de forma rápida produciéndose el resto de las etapas de atomización en un breve periodo de tiempo (del orden de ms.).

Instrumentación:

Los componentes básicos son aproximadamente iguales a los de espectroscopía molecular. Una fuente, un recipiente que contenga la muestra, un monocromador, un detector y un amplificador. Las mayores diferencias están en la fuente y el recipiente. Ya que la muestra son átomos el recipiente será aquel donde se obtengan estos, es decir, en los atomizadores. Hay dos clases de atomizadores:

Atomizadores de llama: La etapa de atomización es la más crítica pues de ella depende la precisión del resultado y eso es debido a la gran cantidad de procesos acontecidos durante esta y que da como resultado una mezcla de átomos del analito, de iones del analito, del cual de moléculas de óxidos estables de analito, de moléculas de otras especies presentes en la muestra y especies moleculares y atómicas formadas por el combustible, el oxidante y la muestra. Existen distintas llamas (ver tabla). Cada llama proporciona una

temperatura. Se utilizan llamas de bajas temperaturas para el análisis de alcalinos y alcalino-terreos pues son fácilmente excitables. Para el análisis de metales pesados se usan llamas de mayor temperatura, obtenidas al usarse oxidantes más energéticos como el óxido nítrico.

En todas las llamas existen 3 zonas, dependiendo el aspecto y el tamaño de estas zonas del oxidante, del combustible y de la proporción en que se encuentran:

1ª zona: zona de combustión primaria; luminiscencia azul, que proviene de los espectros de radicales que se encuentran en ella; esta zona no se utiliza para espectroscopía atómica.

2ª zona: intermedia, rica en átomos libres es la más utilizada en espectros atómicos.

3ª zona: cono exterior, zona de reacción secundaria, formación de óxidos estables a partir de los átomos de la región intermedia.

La máxima temperatura se alcanza por encima de la zona de combustión primaria.

En cada análisis se utiliza la zona de la llama más adecuada, es decir, aquella que proporcione máxima absorbancia, es importante enfocar siempre la misma parte.

Atomizadores de llama.

Generalmente, consta de un nebulizador que transforma la muestra en un aerosol. El más común es el tubo concéntrico en el que la muestra se aspira por un capilar mediante un flujo de gas a alta presión; la velocidad del gas es tan alta que a la salida del capilar hace que la muestra se disperse en finas gotas. El gas utilizado suele ser el oxidante. Este aerosol se mezcla con el combustible y se hace pasar a través de unos deflectores que eliminan la gota que no son demasiado finas, las cuales se recogen en el fondo de la cámara de mezcla y se desechan. Este desecho es la mayor parte de la muestra introducida, la otra parte se lleva a un quemador el cual está provisto de una ranura y produce una llama de 5 a 10 cm. de longitud. Los mecheros de flujo laminar (ver foto) proporcionan una llama estable y en una trayectoria larga, estas propiedades hacen incrementar la sensibilidad y la reproducibilidad del método.

La cámara de mezcla de este tipo contiene una mezcla que es potencialmente explosiva y que puede encenderse por retroinflamación, por ello, están equipadas con válvulas de escape a presión.

Una de las variables experimentales a optimizar son los caudales de combustible y oxidante, que deben controlarse de forma precisa. Se combinan en proporción estequiométrica. Para aquellos metales que forman óxidos estables se requiere una llama enriquecida con exceso de combustible. La atomización por llama resulta muy reproducible, sin embargo, la eficacia en la introducción de la muestra es muy baja ya que la mayor parte de la muestra se desecha y por lo tanto es poco sensible, además, los átomos se encuentran muy poco tiempo en el camino óptico, alrededor de 10⁻⁴ s.

Atomizadores electrotérmicos (hornos de grafito)

Proporcionan mayor sensibilidad ya que toda la muestra se atomiza en un tiempo relativamente corto, y el tiempo de permanencia medio de los átomos en el camino óptico puede ser superior a 1 s. En un mismo equipo se pueden utilizar un atomizador de llama y uno electrotérmico usándose el más adecuado dependiendo de la muestra. En un atomizador electrotérmico al principio se evapora a una temperatura baja y a continuación se calcina la muestra elevando la temperatura del tubo donde normalmente se encuentra la muestra que se calienta eléctricamente. Después de calcinar la muestra se eleva rápidamente la corriente para que la temperatura que se alcance este entre los 2000° C y los 3500° C de forma que la atomización tiene lugar en pocos ms.

La atomización tiene lugar en un tubo cilíndrico de grafito cuyos extremos están abiertos y tiene un orificio central para la introducción de la muestra, que se introduce con una micropipeta. El tubo es de 5 cm. de longitud y 1 cm. de diámetro interno. Los extremos del tubo están conectados a dos contactos eléctricos que están imbuidos en una camisa metálica enfriada por agua. Se dispone de dos corrientes de gas inerte. La corriente externa impide la entrada de aire y de esta forma se evita que el tubo arda. El flujo de gas interno pasa por los orificios laterales y sale por el orificio central, impidiendo la entrada de aire por el interior del tubo y expulsa los gases formados por la matriz de la muestra en las primeras etapas de la atomización.

Es conveniente utilizar la plataforma de L'ou, que es una plataforma de grafito que se coloca debajo del orificio por donde se introduce la muestra, la cual se evapora y se calcina desde esta plataforma, pero la atomización tiene lugar con cierto retraso con respecto a la subida rápida de temperatura ya que la muestra no esta en contacto directo con la pared del tubo. La atomización tiene lugar en un entorno de temperatura donde esta no varia rápidamente, dando señales más reproducibles.

Si el monocromador esta ajustado en la longitud de onda adecuada durante la atomización electrotermica el detector va a recibir una señal espectral que aumenta rápidamente para alcanzar un máximo y que disminuye rápidamente hasta cero a medida que los componentes atómicos se difunden por el tubo. El cambio es bastante rápido por lo que se necesita un registrador de alta velocidad para detectar la señal.

Los atomizadores electrotermicos se caracterizan por su alta sensibilidad ya que toda la muestra se atomiza, pero son más imprecisos, es decir, menos reproducibles que los de llama, además tienen más interferencias por lo que normalmente sólo se utilizan cuando existen problemas en detectar cantidades pequeñas utilizando el atomizador de llama o de plasma.

Lámparas de líneas

Dos tipos de lámparas de líneas:

Lámpara de cátodo hueco.

La más utilizada, y está formada por un ánodo de Wolframio y un cátodo cilíndrico. Estos se encuentran en un bulbo de vidrio herméticamente cerrado que contiene un gas inerte como puede ser Ar. El cátodo se construye con el metal que nosotros vamos a utilizar. Al aplicar un potencial a los electrodos se produce la ionización del átomo, dando lugar a una corriente como resultado de la migración de los iones de Ar hacia el cátodo y de los electrones hacia el ánodo. Los iones de Ar al chocar con el cátodo son capaces de arrancar átomos del metal, produciéndose una nube atómica. A este proceso se le conoce vulgarmente como chisporroteo. Estos átomos pueden excitarse emitiendo una radiación con una longitud de onda característica al relajarse.

Como sabemos, la temperatura de la lámpara es siempre inferior a la que tiene la llama en el atomizador, para estar seguros de que la anchura de la línea de emisión de la lámpara sea siempre inferior a la del pico de absorción del analito en la llama y evitar con ello las desviaciones instrumentales que se podrían dar si esto no existiese.

Los átomos del metal pueden incidir de nuevo en el cátodo y depositarse en él. Existen en el mercado más de 40 lámparas diferentes, cada una de ellas característica para el análisis de un elemento. Actualmente existen lamparas cuyos cátodos están formados por varios metales, por lo que se pueden movilizar para determinación de estos sin necesidad de cambiar la lampara.

Lámpara de descargas sin electrodos

Ofrece una mayor intensidad de radiación, pero su funcionamiento es menos fiable.

Esta lámpara es un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene un gas inerte(en general Ar), y el metal que vamos a analizar.

La lámpara se energiza mediante un campo intenso de radiofrecuencias o microondas, dando lugar este campo a la ionización del Ar, cuyos iones alcanzan tal velocidad que son capaces de excitar al metal mediante colisiones. Este metal, al relajarse, emitirá a su longitud de onda característica.

Es importante cuando realicemos una medida de absorción atómica el diferenciar la radiación precedente transmitida por la lámpara y la radiación procedente de la llama. La mayor parte de la radiación procedente de la llama se evita interponiendo un monocromador entre la llama y el detector, pero siempre habrá una fracción de átomos de analito en la llama que se excitan térmicamente y que por lo tanto emita radiación a la longitud de onda a la que está ajustado el monocromador, dando lugar a una interferencia. Para evitar esto, se modula la señal procedente de la fuente, de forma que su intensidad oscila a una frecuencia constante. De esta forma, el detector recibe dos tipos de señales: una alterna, procedente de la lámpara y otra continua, procedente de la llama. Este las convertirá en sus correspondientes señales eléctricas y un sencillo dispositivo electrónico rechazará la corriente continua y sólo medirá la corriente alterna.

Generalmente, la modulación de la fuente se lleva a cabo mediante un cortador accionado mecánicamente. Al cortador metálico le faltan algunos sectores, de forma que la mitad de las veces la radiación procedente de la lámpara se refleja en él y la otra mitad se transmite.

[JJ,1]

En espectroscopia atómica se pueden también encontrar instrumentos de simple y doble haz, al igual que fotómetros y espectrofotómetros.

Los fotómetros en absorción atómica sólo son válidos para el análisis de alcalinos y alcalinoterreos, ya que éstos presentan espectros de absorción atómica muy simples, con pocas líneas y bastantes espaciadas. Si utilizamos un fotómetro para un metal cuyo espectro esté constituido por múltiples líneas juntas, el filtro deja pasar una banda de radiación relativamente grande pudiéndose producir interferencias debido a solapamientos entre picos y en general produce una disminución de la I.

Generalmente se usan los espectrofotómetros con 1 monocromador de radiación, y como regla general son de doble haz(fotoc. 4, f).

En el detector solamente se medirá la señal alterna, y se despreciará la combinación procedente de la llama. La medida de la absorbancia que nos proporciona el aparato es la relación logarítmica entre el haz de referencia y el haz que ha pasado por la muestra.

Interferencias

Espectrales

Surgen cuando partículas procedentes de la atomización dispersan la radiación del haz incidente o bien cuando estas especies producen emisiones o absorciones a la misma longitud de onda que el analito. Las interferencias por solapamiento espectral de líneas suelen ser raras, ya que como sabemos, la lámpara emite una línea muy estrecha de radiación y por lo tanto tendría que haber una diferencia inferior a 0.01nm para que se produjese el solapamiento.

Lo que sí puede darse es interferencia debida a la dispersión de la radiación por parte de una especie molecular estable que se ha producido en la atomización o también porque esa especie molecular absorba a la longitud de onda que el analito. Esto se corrige preparando una disolución que denominamos blanco siempre

y cuando esa especie molecular estable se deba al oxidante y al combustible que dan lugar a la llama. Un blanco en química analítica es una disolución que contiene todas las especies que contienen los patrones a excepción del analito.

[JJ,2]

El problema está cuando la especie molecular que absorbe o dispersa la radiación se debe a la matriz del analito. La matriz es todo lo que acompaña al analito en la muestra real. Un ejemplo es la que produce el Ca en la determinación de Ba:

A la temperatura de la llama normalmente se utiliza para la determinación de Ba, si en la muestra existe Ca, a esa temperatura es estable el CaOH, y esta especie molecular absorbe a la misma λ que el Ba, y por lo tanto va a ser una interferencia. Esto se evita utilizando llamas que proporcionan temperaturas más elevadas. En este caso sería conveniente usar como oxidante el óxido nítrico. A la temperatura de esa llama el CaOH es estable y el Ca no se interfiere.

También existen interferencias cuando en la muestra hay gran concentración de elementos como el Ti, Zr o Wf, los cuales suelen formar óxidos estables cuyas partículas tienen un diámetro mayor que el de la λ del haz incidente, dispersándolo y cometiendo el correspondiente error.

Normalmente, todas estas interferencias espectrales se suelen solucionar variando el combustible y el oxidante que se utilizan para la atomización.

Estas interferencias espectrales son más acusadas en la atomización electroquímica que en la llama, aunque también existen formas de reducirlas, y a ello se debe que los métodos que utilizan estos tipos de atomización sean más inexactos.

Químicas

Suelen evitarse seleccionando adecuadamente las condiciones de trabajo. La mayor parte de las interferencias químicas se deben a la presencia de aniones que forman compuestos estables con los átomos menos volátiles y que por lo tanto reducen la población atómica, dando lugar a errores por defecto. Esto se evita utilizando agentes liberadores, que son sustancias que tienden a reaccionar preferentemente con estos aniones, evitando la reacción de éstos con el analito, o bien añadiendo agentes protectores, los cuales son sustancias que tienden a reaccionar con el analito preferentemente, dando lugar a especies muy volátiles.

Dentro de las interferencias químicas se puede considerar también la ocasionada por la ionización de los átomos o moléculas en estado gaseoso. Generalmente, a la temperatura de la llama característica producida por aire como oxidante, la ionización casi no tiene lugar. Sin embargo, cuando utilizamos como oxidante óxido nítrico o O_2 , la ionización puede darse con mayor facilidad. La ionización se puede considerar como una reacción: $M \rightarrow M^+ + \text{electrón}$

La interferencia es que el espectro del átomo neutro es diferente del iónico, por lo tanto, si consideramos esta reacción como una más:

[JJ,3]

Este equilibrio va a estar afectado por reacciones similares. Así, si en el atomizador tenemos otra sustancia que también se ioniza, los electrones debidos a la ionización de esta otra especie actúan como efecto ión común, disminuyendo el grado de ionización del analito.

Por ello, generalmente se suelen añadir lo que se denomina supresores de ionización, que son sustancias con

bajos potenciales de ionización que aportan una gran concentración de electrones inhibiendo la reacción de ionización. Por ejemplo la sal de potasio.

Aplicaciones de la absorción atómica

Como ya hemos comentado, la absorción atómica sirve como método de determinación de más de 60 elementos. Se caracteriza por ser un método muy sencillo y fácil de automatizar, por lo que se utiliza mucho para análisis de rutina.

En este tipo de análisis de rutina se suele trabajar haciendo curvas de calibrado periódicamente, aunque es conveniente, para estar seguros del resultado, realizar junto al análisis de las muestras un análisis de un patrón.

En los métodos de absorción atómica también se utiliza lo que se denomina método de adiciones estándar, para contrarrestar las interferencias espectrales y químicas procedentes de la matriz de la muestra. Este método es similar a la realización de un calibrado adicionado a un volumen de muestra a cada uno de los patrones.

[JJ,4]

Como puede haber interferencias, hacemos el método de adiciones estándar:

[JJ,5]

La atomización electrotérmica es mucho más sensible. Los métodos de detección están entre 0.01–0.02 ng/ml, mientras que con llama van de 1 a 20 ng/ml. Sin embargo, la de llama es más precisa que la electrotérmica.

Espectroscopía de emisión atómica:

Los iones o moléculas gaseosas, cuando se excitan térmica o eléctricamente emiten una radiación característica en la zona del ultravioleta visible que puede ser medida y utilizada para análisis cualitativo y cuantitativo. Mientras que la mayoría de las técnicas espectroscópicas sirven para análisis de moléculas y de átomos, la espectroscopía de emisión sólo sirve para análisis de átomos, y esto es debido a la gran energía que se necesita para excitar la mayoría de las especies químicas, de forma que esta energía disocia los compuestos en átomos o iones. Por lo tanto, esta técnica no es útil para la determinación del estado químico de combinación.

En general, la espectroscopía de emisión debería ser útil para determinar todos los elementos. En la práctica, sólo es válida para el análisis de metales metaloides. La muestra puede ser sólida, líquida o gaseosa. En espectroscopía de emisión son los electrones de valencia de los elementos los que se excitan para dar lugar a picos bien definidos y estrechos. Presenta las siguientes ventajas:

- Es un excelente método para el análisis de trazas (elementos contenidos en la muestra en una cantidad inferior a un p.p.m.).
- Puede usarse para la determinación de metales, metaloides y algún elemento más.
- Se necesita una cantidad pequeña de muestra (un ng es suficiente).
- Se pueden analizar simultáneamente varios elementos sin necesidad de separaciones previas. El método es rápido y fácilmente automatizado.

Presenta también las siguientes desventajas:

- Equipo relativamente caro.
- La exactitud y la precisión suele ser del 5% o mayores.

- Destruye por completo la muestra.
- Sólo sirve para análisis de elementos.

La emisión puede ser provocada por energía térmica o eléctrica. La fuente de energía ejerce una gran influencia en el tipo y en las intensidades de los picos que constituyen el espectro de cada uno de los elementos. La fuente de energía tiene dos funciones:

- Debe proporcionar suficiente energía como para convertir los compuestos en átomos en iones gaseosos. En este proceso es importante que la distribución de los elementos en el vapor se relaciona reproduciblemente con la concentración y la distribución en la muestra.
- Además, la fuente de energía debe proporcionar también la suficiente energía como para excitar los electrones de los átomos gaseosos de forma también reproducible.

En estas dos etapas están implicados múltiples procesos, los cuales dependen de las características de la fuente de energía de la muestra.

Un espectro de emisión típico es más o menos como el de una llama de O₂ y H₂, donde se observan tres tipos de radiación o espectros:

- De líneas, estrechas y bien definidas.
- De bandas.
- Continuo.

Los de líneas se deben a emisiones atómicas o iónicas; sólo existen niveles electrónicos en los átomos y por lo tanto las emisiones procedentes de ellos serán picos más o menos estrechos bien definidos.

Los espectros de bandas se deben a emisiones de radicales o moléculas sencillas. En realidad, son espectros de líneas que se superponen y que el instrumento no es capaz de resolver. Estos espectros de bandas se eliminan utilizando fuentes de energía a mayor temperatura que romperán los radicales.

A partir de 350 aparece un espectro continuo (fondo) que es debido a calentar los sólidos hasta incandescencia; es una reacción térmica que se conoce como la radiación de cuerpo negro. Depende más de la temperatura a que sometamos al sólido que del material con que esté hecho y se genera por la múltiples oscilaciones atómicas y moleculares que produce la energía térmica en el sólido condensado.

Los espectros de picos y de bandas aparecen superpuestos a este espectro.

Energía necesaria de excitación

Para que un elemento en estado de oxidación cero emita una única línea espectral, es necesario que previamente haya absorbido una energía equivalente a su potencial de excitación, que es la energía necesaria para subir un electrón del estado fundamental al primer estado excitado.

Para que un elemento muestre una emisión completa debe absorber una energía equivalente a su potencial de ionización. Como cada fuente de energía por tener una cantidad de energía fija, los potenciales de ionización pueden servir como vía para conocer las sensibilidades relativas de los distintos elementos en espectroscopía de emisión. Así, aquellos elementos que tienen bajos potenciales de ionización (ejemplo: alcalinos) se podrán determinar con gran sensibilidad, mientras que los elementos no metálicos con alto potencial de ionización se determinarán con poca sensibilidad.

Con una fuente bastante energética, somos capaces de excitar a todos los elementos. Aparte del problema de la baja sensibilidad, los elementos con alto potencial de ionización tendrán también líneas muy energéticas y

emitirán en la zona del ultravioleta de vacío (= lejano). Por ello, sólo se determinan en espectroscopía unos 70 elementos (metales y metaloides).

La complejidad de los espectros de emisión dependerá de la configuración electrónica del elemento, por lo que los metales alcalinos presentan espectros muy simples, mientras que los de transición los presentan muy complejos.

La sensibilidad en espectroscopía de emisión es inversamente proporcional a la complejidad del espectro. Como sabemos, el espectro de emisión, al igual que el de absorción, es diferente si el elemento es neutro o es iónico. El que predomine el espectro de la especie neutra o de un ion determinado del analito dependerá de la fuente de energía. Por ejemplo, en un analito que puede dar lugar a un átomo bivalente, si la fuente de energía proporciona energía en exceso al primer potencial de ionización, la mayor parte de los átomos van a estar como átomos monovalentes y, por tanto, el espectro que va a dominar va a ser el del átomo monovalente.

Si la fuente proporciona energía en exceso superior al segundo potencial de ionización, el que predomine será el correspondiente al espectro del ion bivalente.

Espectroscopía de emisión en llama

También llamada fotometría de llama, es un método basado en la excitación de la muestra mediante el calor de una llama. Normalmente se realiza rociando una llama con la muestra que vamos a analizar, y midiendo la emisión posteriormente. Cada elemento emitirá lógicamente a una longitud de onda característica, y la intensidad con que emite es proporcional a su concentración. Normalmente se utiliza para la determinación de Na, K, Li y Ca, que son elementos difíciles de determinar por otros métodos.

La instrumentación necesaria en fotometría de llama es similar a la de absorción atómica, con la diferencia de que la llama actuará como fuente de radiación por lo que no necesitamos ni lámpara de cátodo hueco ni cortador.

Generalmente, para el análisis de rutina de estos elementos, se utilizan fotómetros con filtro de interferencia para seleccionar la línea de emisión de medida, y llamas de baja temperatura para evitar excitar otros elementos que existen en la muestra evitando interferencias.

Como siempre, nos encontramos con dos tipos de fotómetros:

- De haz simple, que están constituidos por reguladores de presión, medidores de flujo de gas y un único sistema fotométrico que incluye el atomizador quemador, un fototubo para detectar la intensidad y un amplificador. La señal procedente del centro de la llama se encamina mediante una lente atravesando un filtro al detector. La señal que le llega al detector es muy pequeña y por lo tanto siempre es necesario un amplificador. También tienen estos fotómetros un dispositivo de ajuste a cero, que elimina la señal de fondo procedente de la llama. La señal que obtenemos es llevada a un calibrado que se ha realizado propiamente utilizando patrones.
- De doble haz, llamado aquí fotómetro de llama de patrón interno, el cual dispone de dos sistemas fotométricos independientes; el haz de emisión procedente de la llama se desdobra en dos haces de igual potencia que atraviesan cada uno un sistema fotométrico.

Normalmente, tanto a los patrones como a la muestra se les suele adicionar una cantidad fija de Li, de forma que un sistema fotométrico detecte la emisión de Li y el otro la emisión de analito.

El parámetro analítico que utilizamos es la relación entre las señales de los dos detectores.

Este instrumento es mucho más exacto puesto que se evitan todas las fluctuaciones que se puedan dar en las

medidas.

También existen espectrofotómetros que nos darán espectros completos de la muestra y se utilizarán para fines cualitativos. Éstos son mucho más caros y se utilizan menos.

Las llamas utilizadas son las mismas que las de absorción atómica, y el proceso de atomización también.

El uso de llama como fuente de excitación presenta algunas ventajas con respecto a una excitación eléctrica:

En primer lugar los espectros son más simples; esto es debido a la baja temperatura que puede suministrar la llama, impidiendo la excitación de muchos elementos simultáneamente que darían lugar a solapamientos espectrales. Además, al ser tan simples, no se necesitan aparatos de alta resolución.

También se caracterizan por dar resultados más reproducibles, y esto es debido a que controlamos mejor las variables que afectan a la excitación por parte de la llama.

Desventajas: Al ser una fuente muy poco energética, sólo sirve para determinar unos pocos elementos y, además, la muestra tiene que estar necesariamente en disolución.

En fotometría de llama se presentan las mismas interferencias que en absorción atómica, siendo las interferencias espectrales más acusadas en espectrofotometría de llama que en la atómica. Las técnicas utilizadas también son similares a las utilizadas en absorción atómica: se utilizan tanto la curva de calibrado como el método de adiciones estándar. También se utilizan a veces patrones internos para compensar las variables de las llamas.

También existe espectroscopía de emisión basada en atomización con plasma, arco y chispa. En estas las fuentes son de mayor energía, y podemos distinguir cuatro tipos:

- Plasma acoplado inductivamente
- Plasma de corriente continua
- Arco eléctrico
- Chispa eléctrica

Al ser fuentes más energéticas, se alcanzan temperaturas más elevadas pudiéndose realizar determinaciones simultáneas de muchos elementos en una única condición experimental. Además, estas temperaturas son capaces de excitar elementos refractarios, que son compuestos difíciles de descomponer térmicamente, como son el B, P, Wf, V e incluso pueden determinar algunos no metales como el S, Cl, Br, I. Estas técnicas son complementarias a la absorción atómica, ya que esta es difícil de sustituir completamente, puesto que es un método más simple, barato y preciso.

La fuente de plasma es más reproducible que la de arco y chispa. Sin embargo, la de arco y chispa presentan otra ventaja, y es que la muestra puede estar en estado sólido.

Métodos eléctricos

Basados en energía eléctrica– materia.

Introducción

Las reacciones redox son todas aquellas reacciones en las que existe una transferencia de electrones. Un ejemplo es:

[F1]

En toda reacción redox existe un oxidante y un reductor. El oxidante es una sustancia con gran afinidad a los electrones, y el reductor cede electrones fácilmente.

Del ejemplo: Ce^{4+} : Oxidante, porque oxida y el se reduce.

Fe^{2+} : Reductor, reduce y se oxida.

La tendencia a reducirse de los distintos elementos o especies está cuantificada por lo que se denomina potencial estandar. Estos potenciales estandar están tabulados en lo que se denomina serie electroquímica.

[F2]

Los semisistemas que tienen potenciales estandar elevados son oxidantes y viceversa. En general, el potencial desarrollado por un semisistema viene cuantificado por lo que se conoce como ecuación de Nerst, que dice que:

[F3]

[F4]

Para que de lugar una reacción redox espontánea, loicamente la cte. tiene que ser mayor que uno, y esto depende de los potenciales que en el sistema actúen como oxidantes y de los que actúen como reductor. Si la diferencia es positiva, reacción espontánea y viceversa.

[F5]

En el sentido ! ; en el sentido ! , $k = 10^{-14.2}$, por lo que el Fe^{3+} no puede oxidar al Ce^{3+} .

[F6]

A medida que se desarrolla la reacción, disminuye la $[\text{Fe}^{2+}]$ y la $[\text{Ce}^{4+}]$, para aumentar las concentraciones de Fe^{3+} y Ce^{3+} , lo que supone que el potencial desarrollado por $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ disminuye y el del $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ aumenta. Cuando se igualen se alcanzará el equilibrio.

Las redox se caracterizan porque pueden intervenir en ellas unos reactivos llamados reactivos electroquímicos o electrodos, que son simplemente un conductor, como puede ser un hilo de platino. Además del electrodo es necesario una especie en disolución que tenga tendencia a captar o ceder electrones. Además, las reacciones redox pueden llevarse a cabo en una célula galvánica o electroquímica, es decir, una pila. Una célula galvánica es aquella en la que una reacción química espontánea genera tensión eléctrica. Para lograrlo es necesario que uno de los reactivos se oxide y el otro se reduzca. Es necesario, además, que estos reactivos estén separados físicamente para evitar que los electrones se transfieran directamente del producto al disolvente y forzar a estos electrones a circular por un circuito externo para ir de un reactivo a otro. Además, debe existir lo que se denomina puente salino, para mantener la electroneutralidad.

[F7]

[F8]

Donde tiene lugar la reacción recibe el nombre de ánodo, y donde tiene lugar la reducción se llama cátodo.

Puente salino: Pieza de vidrio en forma de U que contiene un electrolito fuerte, como por ejemplo: $\text{KCl} \rightarrow \text{K}^+ + \text{Cl}^-$.

$E = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} - IR$! resistencia de los electrones a moverse.

Podemos usar una pila como detector de una especie química cuando conozcamos las concentraciones de las especies que forman la pila.

[F9]

Esta pila la vamos a usar para determinar la concentración de Zn. Si somos capaces de mantener cte. el potencial del cátodo, el otro potencial depende de la concentración de Zn, luego modificando su concentración variaremos así el potencial del cátodo y podremos ver la variación de potencial con relación a la concentración de Zn estableciendo una recta de calibrado; en esto se basa la potenciometría.

Los métodos potencimétricos necesitan una instrumentación muy sencilla:

- 1 electrodo de referencia.
- 1 electrodo indicador.
- 1 dispositivo para medir el potencial.

Electrodos de referencia

Un buen electrodo de referencia debe presentar un potencial exactamente conocido, cte. e insensible a las variaciones de la concentración de la disolución donde esté sumergido. Además, debe ser robusto y fácil de preparar.

El primer electrodo de referencia fue el electrodo estándar de H_2 , el cual es un electrodo de referencia universal; a partir de él se calcularon los potenciales estándar del resto de los semisistemas redox para realizar la serie electroquímica. Está constituido por un hilo de platino sumergido en una disolución de H^+ con actividad unidad, y a la que se le hace burbujear H_2 gaseoso a una $P = 1 \text{ atm}$ y a 25°C . La actividad es la concentración efectiva.

[F10]

El electrodo está basado en la reacción:

[F11]

Este electrodo, actualmente se utiliza muy poco ya que es muy difícil de preparar y bastante irreproducible.

El electrodo de cloruro de mercurio saturado es mucho más utilizado y se basa en el sistema cloruro mercurioso/ Cl^- .

[F12]

Para mantener un potencial cte. se añade KCl saturado. De esta forma, la concentración de cloruro se mantiene cte. y el potencial toma un valor de 0.241 V .

(FOTOCOPIA 5, FIGURA 17-2)

Otro electrodo muy utilizado es el de AgCl/Ag , cuyo funcionamiento es similar.

[F13]

Para que sea el potencial cte. hay que añadir KCl.

Potencial de unión líquida:

Surge en el límite de separación de dos disoluciones de electrolito de distinta concentración; si tenemos una disolución de HCl 0.1 M separado por una barrera de otra de HCl 0.01 M para evitar que se mezclen, la diferencia de concentración produce la difusión de los protones y de los cloruros de la disolución más concentrada a la más diluida. Entonces tienden a igualarse las concentraciones.

Debido a la mayor movilidad de los H^+ aparece una separación de cargas de forma que el lado de la membrana que está junto a la disolución más diluida se carga positivamente; el lado que está en la disolución más concentrada se carga negativamente.

Inmediatamente se alcanza un equilibrio al verse frenados los protones debido a la repulsión de las cargas y dando lugar a un potencial llamado de unión líquida.

[F14]

Este potencial lo debemos minimizar, y esto se consigue con un puente salino. La eficacia del puente salino es máxima si el catión y el anión que lo forman tienen igual movilidad y, además, se encuentra en alta disolución. Un puente salino que cumple este requisito es una disolución de KCl, reduciéndose el valor del potencial de unión líquida a un valor de milésima de voltio y por lo tanto despreciable. Por ello, en todos los electrodos de referencia hay un puente salino entre este electrodo y la disolución que vamos a medir.

Electrodos indicadores

Deben responder de forma rápida y reproducible a los cambios de concentración del analito. Aunque no existe ningún electrodo absolutamente específico en su respuesta, actualmente sí que nos encontramos con electrodos altamente selectivos.

a) Electrodos de 1ª clase

Metálicos b) Electrodos de 2ª clase

c) Inertes para sistemas redox

Existen 2 tipos

d) De membrana

a) Se utilizan para cuantificar el catión proveniente del metal con que está construido el electrodo. Un electrodo de este tipo es un trozo de metal que está en equilibrio directo con el catión del metal. En general se basa en una reacción:

[F15]

Para este tipo de electrodos se utiliza Ag, Hg, Pb y Cd.

[F16]

No todos los metales sirven para construir un electrodo de este tipo, debido a que no desarrollan potenciales reproducibles.

b) Son aquellos donde los metales actúan como detectores de aniones que forman precipitados bastante insolubles o complejos y bastante estables con el catión del metal.

Un ejemplo es el que se utiliza para la determinación de cloruros.

[F17]

Otro ejemplo es el electrodo para determinar $\text{EDTA}=\text{Y}^{4-}$, importante porque determina muchos cationes y valora la dureza del agua.

[F18]

c) Electrodos metálicos inertes para sistemas redox: Metales inertes tales como el Au, Pt, Pd o C desarrollan un potencial que corresponde al potencial del sistema redox con el que están en contacto. Por ejemplo, si introducimos un hilo de platino en una disolución que contenga Ce^{4+} y Ce^{3+} el potencial del indicador va a ser:

[F19]

d) Indicadores de membrana: Durante muchos años, el método más cómodo para medir el pH de una disolución es la medida de un potencial que adquiere una membrana cuando separa dos disoluciones que contienen distinta concentración de p^+ .

En la actualidad, existen membranas que son sensibles a una gran variedad de iones. Ninguno de estos electrodos basan su funcionamiento en fenómenos electroquímicos redox, sino en fenómenos de intercambio iónico. Un electrodo de membrana, también llamado electrodo selectivo, consiste en una membrana que responde + o - selectivamente a un ion y que está en contacto por un lado con una disolución del ion que queremos cuantificar y por otro lado con una disolución del mismo ion de actividad conocida, que también está en contacto con un electrodo de referencia.

Una membrana es una capa delgada, generalmente de vidrio, que separa dos disoluciones y que es permeable o semipermeable a uno de los componentes de las disoluciones con las que está en contacto. Para medir el potencial de una membrana hay que formar una célula electroquímica con un electrodo de referencia en cada uno de los lados de la membrana. La modificación del transporte de materia debido a la presencia de la membrana da lugar a variaciones del potencial electrostático. Estas variaciones son función de la composición de las disoluciones en que esté en contacto, y se puede relacionar con las concentraciones de un ion determinado.

Los electrodos selectivos o electrodos de membrana se clasifican atendiendo al estado físico de la membrana. Así nos encontramos electrodos sólidos o cristalinos, cuyo ejemplo más significativo es el electrodo de vidrio que sirve para determinar el pH., También tenemos electrodos líquidos, constituidos por un soporte sólido saturado de especies iónicas o no iónicas y por último electrodos especiales, donde se encuentran los electrodos para gases, electrodos enzimáticos o biosensores.

Se ha estudiado como influye la composición de la membrana en la sensibilidad del electrodo. Centrándonos solamente en el electrodo de vidrio, la composición de vidrio más usado es el Corning 015, constituido por 22% Na_2O , 6% CaO y 72% SiO_2 . Este vidrio es bastante sensible a los p^+ para pH inferiores a 9. Para pH superiores empieza a ser También sensible a los iones Na^+ . Actualmente se utiliza otro tipo de vidrio donde en mayor o en menor medida se han reemplazado los Na^+ y Ca^{++} con Li y Ba. Parece ser que de esta forma

se alcanza mayor selectividad y las membranas tienen un tiempo de vida más largo.

(Fotocopia 5, a))

En el interior del tubo de vidrio hay una disolución de HCl de concentración conocida saturada con KCl. En este tubo de vidrio también se introduce un hilo de Ag, que junto con los cloruros que hay en el medio formará un electrodo de referencia AgCl/Ag. Este electrodo estándar de referencia interior se conectará a un terminal del medidor de potencial. El otro terminal estará unido al otro electrodo de referencia denominado de colomelanos.

(Fotocopia 5, b))

En los huecos se encuentran cationes para contrarrestar la carga – de los electrones.

Todos los vidrios han de estar hidratados para poder determinar el pH.

Los vidrios que no son hidróscópicos no son sensibles al pH. Los vidrios hidróscópicos, si están deshidratados pierden su sensibilidad, pero este efecto es reversible.

Los iones monovalentes como son el Na y el Li pueden moverse por los huecos de la red, y estos son los responsables de que la membrana conduzca la electricidad. Cuando la membrana la ponemos en contacto con H₂O lo que tiene lugar es una reacción de intercambio iónico, de forma que los protones que están en disolución reemplazan al Na del vidrio.

[F20]

La cte. de equilibrio de esta reacción es tan elevada que se puede decir que las superficies externas de la membrana están constituidas únicamente por ácido silícico.

Para que una membrana de este tipo pueda actuar como electrodo indicador debe conducir la electricidad. Como hemos dicho, esta conducción se debe a los iones monovalentes, que serán los p⁺ y los Na. Los Na serán los portadores de carga en el interior de la membrana en la zona en que está deshidratada, mientras que en la superficie hidratada los responsables serán los p⁺, de forma que los p⁺ tenderán a moverse en dirección a la disolución más diluida, de forma que la superficie de la membrana que está en contacto con la disolución más diluida adquirirá carga +, creándose así el denominado potencial de membrana. La magnitud de este potencial depende de la relación de concentraciones del ion H en las dos disoluciones.

(Fotocopia 5, c))

E1 y E2 ! potenciales asociados a cada una de las interfases constituidas por superficie de la membrana en disolución.

Teniendo en cuenta consideraciones termodinámicas se llega a la conclusión de que

[F21]

j_1 y j_2 = ctes.

a_1 y a_2 = actividades de los p⁺ en la disolución interior y exterior.

a'_1 y a'_2 = actividades de p⁺ en ambas superficies de la membrana (interna y externa).

Si consideramos que existe el mismo nº de posiciones negativas en la cara interna y externa de la membrana:

[F22]

y por lo tanto

[F23]

Si a_2 es conocida y cte., podemos decir que

[F24]

Si nosotros ponemos la membrana en contacto con dos disoluciones de concentraciones iguales y utilizamos dos electrodos de referencia exactamente iguales, el E_m es nulo, pero, sin embargo, esto no es así, pues siempre hay un potencial que se conoce como potencial de asimetría y que, además, cambia gradualmente con el tiempo. No se sabe a que es debido, pero lo más seguro es que se deba a tensiones sufridas en la superficie de la membrana durante la fabricación de la misma y al desgaste de la superficie externa al ponerse en contacto con diferentes reactivos. Para evitar errores y conocer siempre este potencial de asimetría es necesario al menos una vez al día calibrar el pH-metro con una disolución patrón y, por tanto, el potencial global será:

[F25]

Errores que se cometen al medir el pH:

– Error alcalino, que aparece a pH superiores a 9. A partir de ese pH el electrodo se hace también sensible al Na y nos da valores de pH inferiores a los reales si la concentración de Na es elevada.

– Errores ácidos, aparecen a $pH < 1$. No se conoce bien su origen, aunque parece ser que al haber una gran concentración de p^+ hay competencia entre ellos y se producen lecturas superiores a las que nos debían dar.

– Errores debidos a deshidratación, una membrana es sensible al pH siempre que este hidratada. Si no es así puede dar errores en las medidas.

– También se pueden producir errores en la determinación de pH de una disolución no tamponada próxima a la neutralidad. El equilibrio entre la membrana y este tipo de disoluciones se alcanza lentamente, y si no se deja bastante tiempo el electrodo con la concentración el resultado obtenido puede ser erróneo. Es conveniente que el electrodo se haya limpiado bien con agua y que la disolución se agite cuando se este determinando el pH.

– Error debido al potencial de unión líquida de los electrodos de referencia: En la cte. K' de la ecuación que nos relaciona el potencial con el pH se incluye el potencial debido al electrodo de referencia, que decíamos que siempre va a tener un potencial denominado de unión líquida. Nosotros consideramos que este potencial no varía cuando variamos de la disolución patrón a la disolución problema, pero esto no es así, porque ya dijimos que el potencial de unión líquida dependía de la composición de la disolución donde se sumergía el electrodo, y esto va a dar lugar a un error que puede ser de 0.02 unidades de pH.

– Error debido a una mala interpretación de los patrones, o una modificación de la concentración de los mismos durante su almacenamiento.

La medida de los potenciales de un electrodo selectivo desarrollados es una manera fácil y cómoda de cuantificar un ion determinado; si el electrodo es lo suficientemente selectivo, no es necesario llevar a cabo

separaciones previas, tan solo tenemos que realizar un calibrado utilizando patrones de concentración exactamente conocida de ese ion y después medir el potencial de la disolución problema. La ecuación que nos relaciona el potencial con la concentración de los cationes es:

[J.0]

En el caso de los aniones la ecuación es:

[J.1]

[J.2]

Un error que es inevitable es que ésta constante de proporcionalidad k , que la calculamos mediante un calibrado, puede variar al cambiar la naturaleza de la disolución en que introducimos el electrodo.

Aparte, existe otro error, y es que todos estos potenciales que medimos son función de las actividades, y no de las concentraciones. A nosotros generalmente nos pueden medir la concentración de algo, y por lo tanto deberíamos trabajar utilizando coeficientes de actividad (a_i), pero

[J.3]

éstos son muy difíciles de calcular, y dependen de la fuerza iónica de la concentración, que es

[J.4]

Cuanto mayor es la concentración de electrolitos, mayor es γ .

Para saber ese error, lo que se hace es añadir a los patrones y a la disolución problema una concentración elevada de un electrolito inerte, de forma que el efecto de los electrolitos de la matriz del problema sea despreciable frente a esa alta concentración.

[J.5]

Para lo que más se utiliza la potenciometría es para valoraciones potenciométricas, en las que se mide el potencial de una disolución y se registra en función del volumen de agente valorante añadido. Las valoraciones potenciométricas dan valores más precisos que las de los indicadores coloreados. Son muy útiles en la valoración de disoluciones coloreadas o turbias, porque no podríamos usar indicadores coloreados (no se aprecia el viraje). Son más lentos, aunque son más fáciles de automatizar (fotoc. S,d). Obtendríamos una curva típica de valoración (fotoc. S, e1). Nosotros podemos conocer el punto final derivando esta curva e2). El punto final coincide con el punto de inflexión.

No solamente se utiliza para valoraciones ácido-base, sino también para cualquier tipo de valoraciones. Sólo es necesario seleccionar el electrodo indicador adecuado.

Métodos de separación

Las propiedades físicas o químicas en las que se basan los métodos analíticos no son específicas de un determinado compuesto o especie. Por lo tanto, cuando queremos determinar un componente en una muestra mediante la medida de una propiedad física o química, que la presentan además otras especies que se encuentran en la misma muestra, debemos separar éste componente del resto. Además, algunas especies se encuentran en cantidades tan pequeñas en una muestra que es necesario concentrarlas de forma que se pueda cuantificar mediante alguna técnica.

Los métodos de separación permiten concentrar el analito o separarlo de las especies interferentes.

Existe un gran número de métodos de separación (fotoc. 6, tabla 5.1)

Los métodos más empleados son las cromatografías: La cromatografía es un conjunto de técnicas utilizada para separar, identificar y cuantificar numerosos compuestos en una mezcla compleja. No existe otro tipo de técnica de separación más potente y eficaz que la cromatografía.

La cromatografía es difícil de definir, debido a la gran variedad de técnicas y sustancias a las que se aplica. En todos los métodos cromatográficos existe una fase estacionaria mediante la corriente de una fase móvil, que puede ser líquida o gaseosa, separándose éstos componentes en función de sus velocidades de migración. Hay muchas clasificaciones en la cromatografía. Una muy sencilla es la que diferencia 2 tipos de cromatografía atendiendo al tipo de soporte utilizado. Así tenemos:

-Cromatografía en la columna: La fase estacionaria se encuentra en un tubo estrecho, y la fase móvil se hace pasar a través de ella mediante presión o por gravedad.

-Cromatografía plana: La fase estacionaria se encuentra inmóvil en una placa plana en los poros de un papel, y la fase móvil se mueve por acción capilar o por gravedad.

Nosotros sólo vamos a ver la primera. También existen otras clasificaciones (fotoc. 6, tabla 26.1).

De acuerdo con esto nos encontramos con cromatografía de líquidos, sólidos o gases si la fase es líquida, sólida o gas. Vamos a ver de sólido y líquido.

-Cromatografía de columna o de elución (fotoc.6.a))

Introducimos la muestra en fase móvil. Una vez que la hemos introducido en la columna, se producirán transferencias entre ambas fases, de forma que los componentes se distribuyen entre ambas fases. Al introducir nosotros más fase móvil, se fuerza a la porción de muestra disuelta a ascender por la columna, teniendo lugar nuevos repartos entre la fase móvil y la estacionaria. Puesto que el soluto se mueve cuando está en fase móvil, la velocidad de migración de cada componente va a depender de la fracción de tiempo que se encuentre en ésta fase móvil.

En el esquema, el componente B se encuentra más retrasado que el A. Esto es así porque tiene más afinidad por quedarse en la fase estacionaria y permanece menos tiempo en la fase móvil. La diferencia de velocidades con que se mueven estos dos componentes va a dar lugar a una separación de los mismos. Nosotros debemos añadir la cantidad necesaria de fase móvil para que los dos componentes sean eluidos por la columna. Cada uno saldrá a un tiempo determinado. Si ponemos un detector a la salida de la columna y registramos la respuesta del detector en función del tiempo nos aparecen unos picos simétricos tales como los que vemos en la figura. A esa representación se le llama cromatograma y tiene una aplicación tanto cualitativa como cuantitativa. La posición de cada pico nos sirve para la identificación de los componentes, y el área debajo de cada pico nos sirve para cuantificar cada componente (fotoc. 6, c)). Si nosotros registramos a un tiempo t_1 el cromatograma, vemos que los picos no están resueltos (componentes no separados). A un tiempo más largo vemos que los componentes sí están separados, es decir, podremos separar cualquier componente alargando la columna, pero a la vez que se produce un aumento de separación también se produce un ensanchamiento de los picos, lo que hace que ésta columna sea menos eficaz como técnica de separación.

Existen variables químicas y físicas cuyo control da lugar a que el ensanchamiento de las bandas sea más lento que la separación de las mismas.

Si tenemos una columna muy larga podremos poner cualesquiera componentes.

Todas las cromatografías se basan en las diferencias en el grado de reparto de los componentes entre la fase móvil y la estacionaria para un componente dado.

A móvil A estacionaria

Este equilibrio viene cuantificado por una constante k que se llama coeficiente de reparto o coeficiente de partición (si tiene poca tendencia a estar en la fase móvil va a tardar mucho en salir).

[J.6]

Parámetros

· *Volumen de retención*: V de fase móvil necesario para que un componente atraviese la columna y llegue al detector. Se puede medir experimentalmente en un cromatograma, y sería el V correspondiente al máximo del pico cromatográfico.

[J.7]

Para cada sistema cromatográfico cada uno de los componentes tiene un volumen de retención característico.

· También podemos trabajar con *tiempo de retención*, que es el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta la detección de los componentes (generalmente se trabaja más con tiempo de retención).

Estos dos parámetros se relacionan según la siguiente ecuación:

[J. 7,1]

· *Factor de capacidad*: Es más útil que el coeficiente de reparto, puesto que se puede calcular experimentalmente a partir de un cromatograma.

[J.8]

Con t_0 =tiempo muerto: tiempo que tarda una molécula de disolvente o de cualquier otra especie que no tiene ninguna afinidad por la fase estacionaria en atravesar la columna, es decir, tiempo de la fase móvil que tarda en llegar al detector.

[J.9]

Este factor de capacidad tiene que tener un valor comprendido entre 1 y 5. Factores de capacidad menores que 1 significan que los componentes eluyen rápidamente y por lo tanto los tiempos de retención no serán medidos con exactitud. Factores de capacidad mayores que 20 ó 30 no son adecuados, pues eluyen muy lentamente: tiempo de análisis largo.

Los factores de capacidad se pueden optimizar variando la temperatura y el empaquetamiento de la columna si estamos en cromatografía gaseosa, y variando la fase móvil o la estacionaria si nos encontramos en cromatografía líquida.

· *Factor de selectividad* (α) Define la capacidad de un sistema cromatográfico para diferenciar entre dos componentes.

[J.10]

Su valor óptimo está comprendido entre 1,1 y 2. Valores mayores que 2 significan tiempos de análisis largos.

·*Eficacia de la columna*: Es el grado de ensanchamiento de la banda cromatográfica a lo largo de la columna. Viene expresada por un parámetro denominado nº. de platos teóricos de la columna. Generalmente se denota como N y puede ser calculado mediante un cromatograma.

[J.11]

Cuanto mayor es N, mejor es la separación, porque los picos son más estrechos. N es constante para todos los componentes, fijadas las condiciones cromatográficas, como son la fase estacionaria, la columna, la fase móvil, el caudal y la temperatura.

Sin embargo, N aumenta al aumentar la longitud de la columna. Por eso es mejor expresar la eficacia de la columna como altura equivalente a un plato teórico, también llamada altura de plato, que se define como la longitud de la columna que corresponde a un plato teórico. Esta altura de plato se representa como H, y

[J.11,1]

Cuanto más pequeña sea H, mayor es el número de platos teóricos y mejor la separación.

H y N dependen del sistema cromatográfico, de la temperatura, de la fase móvil y del caudal. Además, la H depende también de la calidad de las partículas de relleno de la fase estacionaria y de la uniformidad en su empaquetamiento.

Giddings y colaboradores desarrollaron la teoría llamada de no equilibrio, que explica los factores que contribuyen al ensanchamiento de las bandas en un sistema cromatográfico y que permite diseñar mejores columnas cromatográficas. A partir de la ecuación de Van Deemter nos relaciona el valor de la H con la difusión y la Vmedia lineal de la fase móvil y la difusión.

La teoría de no equilibrio supone que el movimiento de las moléculas de los componentes a través de la columna es una sucesión de paradas y de comienzos al azar. Según esta teoría, la forma de los picos cromatográficos se debe a los procesos fundamentales, que son la transferencia de materia y la difusión. Como resultado de la transferencia de materia que tiene lugar entre la fase móvil y la estacionaria, se produce un ensanchamiento de banda, debido a que mientras las especies que se encuentran en la fase móvil se mueven con ella, las que se encuentran en la fase estacionaria permanecen inmóviles hasta que tiene lugar una nueva transferencia de la fase estacionaria a la móvil. Al mismo tiempo, en la fase móvil se produce una difusión que contribuye al ensanchamiento de la banda (fig. 6, d).

El ensanchamiento de bandas aumenta con el número de transferencias entre ambas fases (est. y móvil). Cuanto mayor es el número de transferencias mejor será la separación. El ensanchamiento disminuye al disminuir la velocidad de la fase móvil.

La ecuación de Van Deemter relaciona la eficacia o H con los 4 procesos que dan lugar al ensanchamiento. La ecuación de Van Deemter dice que:

[J.12]

A: Componente que describe la llamada difusión de Eddy, también llamada difusión en remolino, que depende del tamaño de las partículas del relleno de la columna y de la uniformidad de este relleno. Esta difusión es independiente de la velocidad de la fase móvil. Este componente A es casi cero en la cromatografía gaseosa.

B: Término que nos indica la contribución por parte de la denominada difusión longitudinal, que depende del coeficiente de difusión y que por lo tanto es mucho mayor en cromatografía que en la líquida, ya que los coeficientes de difusión son ucho mayores en gases (10.000 veces más) que el mismo en medio líquido.

Ce y Cm: están relacionadas con la resistencia a la transferencia de masa. Si nosotros representamos cada uno de esos componentes (fotoc. 7, a)).

·*Resolución*: La resolución de la columna proporciona una medida cuantitativa (p) de su capacidad para separar 2 analitos o componentes, es decir, describe el grado de separación de 2 bandas adyacentes.

[J.13]

Esta resolución se puede mejorar, si no es adecuada, aumentado la separación de los picos, variando el coeficiente de reparto para cada uno de los componentes mediante el cambio de la fase móvil o la estacionaria, o bien reduciendo la anchura de pico, que se consigue utilizando una columna que sea más eficaz, es decir, con mayor número de platos teóricos.

También:

[J.14]

La resolución y la eicacia dependen en general mucho de la temperatura, pero sobre todo en cromatografía de gases hay que tener u control exhaustivo de la temperatura, donde la separación tiene lugar en temperaturas elevadas (fotoc. 7, b).

Cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa es aquella cromatografía donde se utiliza como fase móvil a un gas inerte que eluye los componentes de la muestra a través de una columna que contiene una fase estacionaria inmovilizada. A diferencia de lo que ocurre en cromatografía líquida, en cromatografía gaseosa no existe ningún tipo de interacción entre los componentes de la muestra y la fase móvil; por lo tanto, la velocidad de emigración de ls distintos componentes es independiente de la naturaleza química de la fase móvil.

La 1ª cromatografía que se estableció es la denominada cromatografía sólida, donde la fase estacionaria estaba formada por partículas sólidas de gran tamaño donde los componentes gaseosos de la muestra se absorbían. La separación de los componentes se basaba en la distinta tendencia que tenían esos componentes a absorberse en la fase estacionaria.

Esta cromatografía gaseosa clásica sólo es útil para la separación de compuestos de bajo Pm como puede ser el CO, N₂, H₂ y algunos hidrocarburos--. Los compuestos con carácter polar se absorben casi permanentemente, por lo que esta cromatografía no es adecuada para la separación de estos compuestos.

La cromatografía gaseosa-líquida tiene muchas más aplicaciones. En este caso, la fase estacionaria es un líquido que está inmovilizado sobre la superficie de un soporte mediante absorción o por reacción química. La velocidad de emigración de los componentes a través de la columna va a depender de la relación de distribución entre la fase estacionaria líquida y la fase gaseosa. Por lo tanto, la última es la que vamos a ver.

Todos los principios teóricos y ecuaciones expuestos antriormente son válidos apara la cromatografía gasosa con tan solo haer ciertas modificaciones debido al efecto de compresibilidad de la fase móvil. Por lo tanto, vamos a pasar a la instrumentación necesaria para llevarla a cabo.

Para llevar a cabo la cromatografía gaseosa se inyecta la muestra gaseosa volátil en un séctum de goma de

modo que la muestra entre en un puerto caliente donde se vaporiza rápidamente. A continuación, una corriente de gas portador arrastra la muestra hacia la columna, la cual contiene la fase estacionaria, que es donde se va a producir la separación. Los componentes, una vez eluidos y separados, pasan al detector y posteriormente a un registrador. La temperatura de la columna no debe ser superior a todos los puntos de ebullición de todos los componentes, sino lo suficientemente alta para que exista una presión de vapor de forma que todos los componentes tarden un poco en salir de la columna. El detector se mantiene a una temperatura mayor que la columna, y por lo tanto en éste todos los componentes de la muestra están en fase gaseosa. Los solutos que salen de la columna pueden colectarse para su posterior identificación o ser enviados a un espectrofotómetro de masas o IR donde tendrá lugar de forma rápida el análisis de cada pico cromatográfico. Para colectar la muestra procedente de la columna es necesario poner a la salida de ésta una pieza de vidrio en forma de U.

El fondo de ésta pieza se enfriará con N₂ líquido o hielo seco produciendo la condensación de la muestra.

El gas portador que se utiliza en la fase móvil debe ser químicamente inerte. Los más utilizados son He, Ar, N₂ y H₂. Como no existe ningún tipo de interacción entre la muestra y el gas portador, la selección del gas portador va a depender del detector que utilicemos. Junto a la fuente del gas portador van asociados conducciones, controladores de presión y medidores de flujo. Además, generalmente, el sistema dispone de un tamiz molecular que impide el paso de moléculas de H₂O o de otras impurezas que pueda contener el gas portador.

Sistema de inyección de la muestra: La inyección de la muestra en la 1ª etapa de un proceso cromatográfico va a tener una eficacia que se va a reflejar en la eficacia del método, es decir, la precisión y exactitud con que realicemos la inyección va a influir mucho en la precisión y exactitud de los resultados. Hemos de tener en cuenta que el volumen de muestra inyectada es de 1 a 10 µl, por lo que o son fácilmente reproducibles. Por ello, se obtienen mejores resultados cuando la inyección de la muestra es automatizada.

La muestra se puede introducir o inyectar en forma gaseosa mediante válvulas de inyección de gas o en forma líquida mediante una microjeringa.

Si la muestra es líquida es necesario disolverla en un disolvente muy volátil e introducirla en una cámara de calentamiento que permita vaporizar la muestra de forma rápida. La temperatura a la que se encuentra ésta cámara suele ser 50° superior a la de la columna. A veces, en la muestra, existen componentes térmicamente inestables, los cuales tienen que ser inyectados directamente en la cabeza de la columna para evitar su descomposición. La muestra debe introducirse en la columna con la mínima dispersión de la fase móvil, de modo que entre en la columna como una pequeña banda que contiene todos los componentes de la muestra.

La introducción en la columna puede ser de dos formas:

Con o sin split. La introducción con split se realiza cuando se utilizan columnas capilares, que tienen muy poca capacidad de muestra, para evitar que así se sobrecargue. El split consiste en dividir la muestra en relaciones comprendidas entre 50,1 y 500,1 despreciando la mayor parte de la muestra y desechándola. Cuando introducimos la muestra sin split toda la muestra pasa a la columna.

--Columnas

Es el componente más importante en un cromatógrafo, puesto que contiene la fase estacionaria que es la responsable de la separación de los componentes de la muestra. Existen 2 tipos de columnas: empaquetadas y capilares.

Empaquetadas

Contienen partículas sólidas de tamaño uniforme revestidas con fase estacionaria. Típicamente tiene unas

dimensiones de 2 a 6 mm de diámetro interno y una longitud de 1 a 3 m.

Ventajas

- Fáciles de manejar
- Baratas
- No requieren gran instrumentación

Inconveniente

- Baja eficacia.

Capilares

Consisten en un largo tubo estrecho cuya superficie interna está recubierta por una micra de fase estacionaria. Se suelen denominar también columnas tubulares abiertas. Suelen tener diámetro interno entre 0.2 y 0.5 mm y longitud entre 10 y 100 m. Estas columnas se fabrican a partir de acero inoxidable pero son aún mejores las de vidrio silato tratadas o las de sílice por tener una actividad catalítica inferior. Con estas columnas se puede trabajar con longitudes mayores utilizando la misma presión, con lo que se consigue un mayor número de platos teóricos. La posición relativa de los picos cromatográficos puede modificarse con la cantidad de fase estacionaria. El rendimiento total de una columna capilar va a depender del grosor de la película de gas estacionaria y de la longitud de la columna.

Inconvenientes: Se necesita alta instrumentación y suelen ser más caras. Además tienen una pequeña capacidad de carga de muestra.

Ventajas

Presentan un número de platos teóricos mucho mayor que las empaquetadas. Los tiempos de elución suelen ser más cortos, luego el tiempo para llevar a cabo el análisis es más corto debido a que hay menos fase estacionaria que retenga a los componentes de la muestra. La temperatura de la columna a la que se lleva a cabo la separación suele ser 20° inferior a la de las empaquetadas debido a que la relación de fases es más favorable.

Las columnas fabricadas a partir de vidrio silano tratadas han permitido la separación de componentes de muestras que eran impensables utilizando columnas empaquetadas, debido a la interacción que tenía lugar entre la fase estacionaria y el soporte sólido. Quizás la ventaja más importante de estas columnas es su alta permeabilidad, que permite utilizar columnas mucho más largas y por lo tanto conseguir mayor número de platos teóricos. En la actualidad, con tan solo 3 ó 4 columnas capilares diferentes y utilizando un adecuado programa de temperatura es posible llevar a cabo la separación de la mayoría de las muestras.

Soporte Sólido

El soporte sólido debe ser de un material resistente en forma de partículas pequeñas con una gran área superficial. La mayoría de estos soportes son de diatómicas, es decir, de esqueleto de sílice de algas marinas denominadas así. Idealmente, ese soporte no debe interaccionar con ningún componente de la muestra, pero ningún soporte es totalmente inerte. La silanización con hexametildisilazina o con diclorodimetilsilano es una forma fácil de reducir la interacción de las partículas de sílice con las partículas polares.

Si los componentes de la muestra son muy reactivos se utilizará como material para el soporte el teflón. Las partículas de este soporte tienen que ser lo más uniformes posibles entre sí, puesto que veíamos que según la ecuación de Van Demmter cuanto mayor era la uniformidad mejor era la eficacia que se consigue. También

veíamos según esa ecuación que era mas adecuado que las partículas fuesen muy pequeñas para reducir el tiempo en el que se alcanza el equilibrio entre la fase estacionaria y la fase móvil, pero cuanto más pequeñas sean las partículas mas presión debemos utilizar para forzar la fase móvil de la columna.

Fase estacionaria:

Las propiedades que deberá tener la fase liquida inmovilizada en una columna son:

- Debe ser químicamente inerte
- Debe presentar estabilidad térmica.
- Debe presentar adecuadas propiedades de disolvente, puesto que como sabemos es la interacción entre los componentes y la fase estacionaria lo que posibilita la separación.

El tiempo de retención de un componente en una columna depende de su relación de reparto, que a su vez está relacionada con la naturaleza de la fase estacionaria.

Está claro que para que un líquido inmovilizado sea útil como fase estacionaria debe generar diferencias entre las relaciones de reparto de los distintos componentes de la muestra. Para que una especie permanezca en la columna un tiempo razonable, debe de existir cierta compatibilidad con la fase estacionaria. En cromatografía siempre es aplicable el principio de que semejante disuelve a semejante, refiriéndose aquí como semejante a la polaridad, que se mide con el momento dipolar. Existen fases estacionarias de distinta polaridad; así tenemos las fases estacionarias de tipo hidrocarburo y de tipo alquilsilosano que no son polares, mientras que las fases estacionarias de tipo poliéster son polares. Entre los solutos polares encontramos los alcoholes, ácidos y aminas. Solutos de polaridad intermedia son los éteres, aldehidos y cetonas, y los hidrocarburos saturados son no polares.

Por lo general, se elige la fase estacionaria con un carácter polar que esté en concordancia con la polaridad de los componentes de la muestra. Si el ajuste es el adecuado, el orden de elución viene dado por los puntos de ebullición de los componentes.

Fases estacionarias enlazadas y entrelazadas

La finalidad de éstas fases es evitar el denominado sangrado de la columna, que consiste en perder pequeñas cantidades de la fase estacionaria durante la elución de los componentes, y además hacer más duraderas las columnas o fases estacionarias, permitiendo lavarlas con un disolvente cuando se contaminen. El enlazado consiste en unir una película monomolecular de fase estacionaria molecular con la superficie de sílice de la columna mediante una reacción química.

Gráficamente estas reacciones químicas están patentadas por los fabricantes de las columnas. El entrelazado se puede llevar a cabo in situ. Después de recubrir la columna con algún poliéster que actúe como fase estacionaria, se añade un peróxido. Cuando la columna empieza a calentarse se inicia una reacción entre los grupos metidos del polímero que actúa como fase estacionaria, uniéndose así las moléculas de la fase estacionaria mediante enlaces C-C. La fase estacionaria resultante es menos soluble y es mucho más estable térmicamente.

Termostacización de la columna

La temperatura de la columna es un parámetro muy importante que se debe de mantener constante. Por eso fundamentalmente la columna se encuentra en un horno termostaticado. La temperatura de trabajo óptima depende de los puntos de ebullición de los componentes de la muestra y del grado de separación. De forma aproximada, se puede decir que una temperatura igual al punto de ebullición medio de los componentes de la muestra es la apropiada, dando de esta forma tiempos de análisis comprendidos entre 2 y 20 minutos. Si el

intervalo de temperatura que comprende los puntos de ebullición de los componentes de la muestra es grande es recomendable utilizar un programa de temperaturas, es decir, aumentar la temperatura de forma escalonada durante el análisis. Es lo que se conoce como trabajar en gradiente. (Fotocopia 7, d) y e))

(Ver fotocopia 7, d)). Los componentes bastante volátiles no se llegan a separar bien y los menos volátiles se quedan retenidos en la columna (después de pasarse 25 minutos). Sin embargo, si comenzamos a trabajar a una temperatura de 50° y la vamos aumentando 8° por minuto, tenemos e), donde los componentes se encuentran separados y resueltos.

Detectores

Existen varios tipos, pero sólo vamos a ver dos:

Detector de ionización de llama

Conocido como FID. Es un detector universal (sirve para cualquier tipo de muestra). La corriente eluida de la columna se mezcla con aire o con nitrógeno, permitiendo la combustión de la mayor parte de los componentes. Las especies iónicas producidas en la combustión facilitan el paso de corriente eléctrica entre dos electrodos que están en contacto con la llama. A mayor potencia eléctrica, mayor cantidad de compuesto eluido por la columna. Se caracteriza por ser bastante sensible. No responde al agua, carbono, oxígeno y otras impurezas que pudiera contener el gas portador. Por lo tanto, en ausencia de componentes eluidos la señal es cero. La línea base es bastante buena, puesto que no está influida por la temperatura ni por el caudal o el flujo del gas portador.

Detector de captura electrónica

Es muy selectivo. Electrones de alta energía (partículas) procedentes de una fuente radiactiva se usan para ionizar la corriente de gas portador, de forma que en ausencia del componente eluido fluye una gran corriente eléctrica entre dos electrodos. Cuando se eluye un componente que es electronegativo captura los electrones reduciéndose el flujo de corriente y produciendo una señal en el cromatograma. En este caso es necesario utilizar como gas portador mezclas de He-CH₄, nitrógeno de calcio o Ar-CH₄, es decir, sólo detecta las especies electronegativas: halógenos, peróxidos y grupos nitrogenados. En la actualidad podemos decir que la mayoría de los cromatógrafos de gases se encuentran acoplados a otros sistemas electroscópicos o electroquímicos, dando lugar así a lo que se denomina sistemas acoplados. Las máximas corrientes son el acoplamiento entre el cromatógrafo de gases acoplado con un espectrógrafo de masas (gases-masas) y el cromatógrafo de gases y un espectrofotómetro infrarrojo. De esta forma, se pueden identificar rápidamente muestras bastante complejas.

La cromatografía de gases tiene tanto aplicación cuantitativa como cualitativa. Gráficamente es útil para la separación de componentes de una muestra que sea volátil. Puede ser por ejemplo análisis de alimentos, drogas, etc.

La utilidad más importante es el análisis cualitativo, puesto que en el cuantitativo se cometen todavía bastantes errores (ejemplo- inyección de la muestra).

Cromatografía líquida:

La cromatografía líquida es aquella que describe cualquier proceso cromatográfico en el que la fase móvil es un líquido. Además de la cromatografía líquida en columna es importante destacar la cromatografía plana y la de papel.

La cromatografía líquida clásica consiste en pasar una fase móvil líquida mediante la acción de la gravedad a

través de una columna que contenía una fase estacionaria en forma de grandes partículas.

La velocidad de emigración (separación) depende del grado de distribución entre la fase estacionaria y la móvil. En este caso los componentes de la muestra interactúan con las dos fases. Esta cromatografía tiene las siguientes desventajas:

- El empaquetado de columnas se prepara manualmente, siendo bastante laborioso, y cada columna es válida para muy pocos análisis.
- Se obtiene baja eficacia, puesto que las partículas de la fase estacionaria son demasiado grandes.
- El tiempo de elución suele ser elevado incluso para muestras sencillas.
- La detección de los compuestos se obtiene por análisis manual de distintas reacciones, por lo que es bastante laborioso.

El principal factor que limita la eficacia de esta cromatografía es el valor pequeño que tiene la velocidad de difusión de las moléculas de soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil cuando ésta es un líquido. De la ecuación de Van Deemter, a menor velocidad de difusión mayor es la altura, y, por tanto, la anchura del pico y la eficacia es menor. La clave para mejorar esto consiste en aumentar la velocidad de transferencia de masa y el equilibrio de las moléculas de soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil, lo que se consigue utilizando empaquetamientos con partículas mucho menores, pero ello hace necesarias altas presiones para forzar la fase móvil a través de la columna. Esto dio lugar a lo que se conoce como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y por tanto al equipo que es necesario para llevarla a cabo y que contiene bombas, columnas y accesorios capaces de distribuir y mantener esas altas presiones.

Ventajas

- Las columnas ya no son de uso restringido, es decir, se pueden usar continuamente.
- La introducción de la muestra puede ser automatizada.
- La detección y cuantificación de los componentes eluidos puede llevarse a cabo con detectores de flujo continuo. Todo ello hace que la exactitud y precisión del método se mejore en gran medida.
- La cromatografía de líquidos tiene de ventaja con respecto a la de gases en que puede separar compuestos de naturaleza muy variable. Pueden ser compuestos iónicos, polímeros, polares, compuestos térmicamente inestables, etc. y no se limita a compuestos volátiles. Además, se obtienen eficacias semejantes a las de gases e incluso mayores, puesto que tenemos un mayor control de la fase móvil y estacionaria de la que depende la separación.
- La cromatografía líquida de alta resolución usa detectores no destructivos, por lo que pueden analizarse posteriormente mediante otras técnicas (en gases destruíamos la muestra).

Actualmente la separación en cromatografía líquida de alta resolución tiene lugar utilizando fases estacionarias de pequeño tamaño de partícula y por lo tanto de altas áreas de superficie, empaquetadas en columnas de 20 cm de longitud aproximadamente. Con la fase móvil bombeada a altas presiones se pueden conseguir complejas separaciones en uno o pocos minutos. Antes de ser bombeada la fase móvil hacia la columna deben eliminarse los gases que puedan contener disueltos para impedir la formación de burbujas debido a la alta presión a la que se va a someter en el cromatógrafo. Esto se hace mediante una corriente de He que se pasa por la fase móvil durante unos minutos.

Instrumentación para la cromatografía líquida de alta resolución

Consta de un sistema de bombeo, de un sistema de inyección, de una columna y de un detector. El sistema de bombeo impulsa la fase móvil a través de la columna, donde tiene lugar la separación de los componentes de la muestra que han sido previamente introducidos mediante un sistema de inyección. Los componentes eluidos ya separados son detectables dando como resultado una cromatografía.

Sistema de bombeo

Las bombas más utilizadas son las bombas de un pistón de bajo volumen que succionan alternativamente volúmenes de fase móvil de un recipiente a baja presión, desplazándolo a la columna a alta presión.

Existen dos tipos: Las que proporcionan presión de entrada constante y las que proporcionan velocidades de salida constantes.

Una buena bomba debe proporcionar caudales constantes, debe ser químicamente inerte, debe trabajar a altas presiones, no debe originar pulsaciones y debe proporcionar flujos adecuados a los diámetros de la columna.

La bomba puede estar impulsando una fase móvil idéntica durante todo el análisis, lo que se conoce como trabajar en condiciones isocráticas, pero también puede estar impulsando fases móviles cuya composición cambie durante todo el análisis, que es lo que se conoce como trabajar en gradiente. Por ello es necesario que la bomba disponga de varios canales que permitan ir variando la composición de la fase móvil.

Sistema de inyección

Un sistema de inyección debe cumplir los siguientes requisitos:

- Debe de introducir en la columna la muestra en una estrecha banda.
- Debe de ser reproducible
- Debe poder trabajar a altas temperaturas
- Deben ser químicamente inertes
- Deben ser de fácil manejo.

Existen varios tipos, como son las de tipo jeringa, las de válvulas multivías y los sistemas automáticos. Las más utilizadas son las válvulas de 6 vías. En ésta válvula multivía se introduce la muestra en un bucle y mientras tanto la fase móvil pasa por el bucle arrastrando la muestra a la columna. El giro de la anilla puede hacerse manual o mecánicamente. Para análisis de rutina es recomendable utilizar sistemas de inyección automáticos.

Columnas

Las columnas se preparan a partir de acero inoxidable para aguantar las altas presiones. Su interior se recubre con vidrio para evitar la catálisis del metal en posibles reacciones entre los componentes de la muestra y la fase móvil.

La mayoría de las columnas tienen una longitud comprendida entre 10 y 30 cm, un diámetro interno entre 4 y 10 mm y un empaquetamiento con un tamaño de partículas comprendido entre 5 y 10 μm , proporcionando estas columnas un número de platos por m^2 de alrededor de 60000. Existen también columnas de alta resolución, cuya longitud está comprendida entre 3 y 7.5 cm, diámetro interno entre 1 y 4.6 mm y tamaño de partículas entre 3 y 5 μm , proporcionando un número de platos aproximado a 100000. Éstas últimas tienen la ventaja de necesitar menos cantidades de disolvente y un tiempo de análisis mucho menor.

Detectores

Se usan para medir las sustancias que salen de la columna, monitorizando continuamente la presencia de componentes a la salida de la columna. La señal eléctrica que produce es proporcional a la cantidad del componente eluido. Si esta señal se registra frente al volumen de retención o al tiempo de retención obtenemos el cromatograma.

El detector usado va a depender de la naturaleza química de la muestra y la sensibilidad requerida para el análisis. Para su elección vamos a tener en cuenta el ruido, la linealidad y el límite de detección que presenta. Los más normales son los detectores de absorbancia, los de fluorescencia, los de índice de refracción y los electroquímicos. De todos ellos, los más comunes son los de absorbancia. Si necesitamos un método más sensible utilizaremos el de fluorescencia, pero sabiendo que éste es más selectivo.

En cuanto al detector de índice de refracción (naturaleza química) es muy universal, pero es poco sensible.

Dentro de la cromatografía líquida de alta resolución distinguimos varios tipos:

- Cromatografía de reparto o partición, también llamada cromatografía líquido-líquido.
- Cromatografía de absorción, o líquido-sólido.
- Cromatografía iónica.
- Cromatografía de exclusión molecular.
- Cromatografía de afinidad.

La diferencia entre ellos está en la naturaleza de la fase estacionaria y en el mecanismo en que se basa la separación. Así, por ejemplo, la cromatografía de absorción se denomina líquido-sólido porque su estado es un sólido y el tiempo de absorción es en la fase estacionaria.

En la cromatografía de exclusión molecular los componentes se separan en función de su tamaño. La fase estacionaria tiene unos poros donde quedarán retenidos los componentes más pequeños de la muestra, y los de mayor tamaño, como no pueden interactuar con la fase estacionaria eluyen los primeros.

De todos ellos, el más utilizado es la cromatografía de repartos o partición (o líquido-líquido porque la fase estacionaria es también un líquido). Se distinguen en ésta dos tipos: líquido-líquido y de reparto de fase enlazada. La diferencia entre ellas radica en el tipo de unión entre la fase estacionaria y el empaquetamiento. En la de líquido-líquido la unión es por absorción física y en la segunda es por enlace químico covalente.

Cromatografía de reparto de fase enlazada:

Gráficamente el empaquetamiento de la columna para éste tipo de cromatografías es de sílice fundida. La superficie de las partículas de sílice se hidroliza fácilmente en medio HCl, dando lugar a grupos silanol: "SiOH, que son químicamente muy reactivos.

Estos grupos "SiOH pueden reaccionar con organoclorosilanos para dar lugar a organosilanos:

[P1]

R suelen ser hidrocarburos o radicales del tipo octil (C_8H_{17}) u octoclorocilo ($C_8H_7Cl_7$). Otros grupos funcionales orgánicos se pueden unir a la superficie de las partículas como son aminas alifáticas, éteres, nitrilos e hidrocarburos aromáticos, disponiendo así de una amplia gama de fases estacionarias enlazadas de distinta polaridad.

Se distinguen dos tipos dentro de este tipo de cromatografía: de fase inversa y de fase normal. En la fase inversa el recubrimiento de las partículas tiene carácter apolar, mientras que en la de fase normal los grupos funcionales unidos al empaquetamiento son de carácter polar, es decir, en la cromatografía líquida en fase inversa. La fase estacionaria es apolar y la fase móvil es polar. Por lo tanto, los primeros en eluir serán los compuestos más polares.

Al aumentar la polaridad de la fase móvil aumentamos el tiempo de retención. Del mismo modo, en la cromatografía en fase normal la fase estacionaria es polar y la fase móvil es apolar.

Actualmente mas de las tres cuartas partes de las separaciones son realizadas por cromatografía líquida de reparto en fase inversa utilizando como empaquetamiento el octil o el octocilicilosano. En estos empaquetamientos los hidrocarburos de cadena lineal se alinean unos junto a otros, y en perpendicular a la superficie de la partícula, dando lugar a estructuras parecidas a una brocha. La longitud de estas cadenas va a influir en la resolución, de forma que gráficamente a mayor longitud de la cadena mayor es el tiempo de retención y gráficamente mejor es la resolución. La longitud de estas cadenas se puede optimizar.

Para la separación de compuestos polares es más adecuado utilizar fases estacionarias de cadena corta, y para los apolares son mas adecuados las fases largas.

La fase móvil utilizada es este tipo de cromatografía suele consistir en una disolución acuosa con un contenido variable de un disolvente, como puede ser el metanol, el acetonitrilo o el tetrahidrofurano.

Gráficamente debemos adaptar la polaridad de la fase estacionaria con la polaridad de la muestra y utilizar una fase móvil que presenta una polaridad considerablemente diferente a la de la muestra.

Las características de la fase móvil es un parámetro muy importante en este tipo de cromatografía y además es fácil de modificar para conseguir mejores separaciones. La aplicación de esta cromatografía es muy amplia.

Química analítica *Química II*

Primer Curso Ingeniería Industrial

Página 59