

QUÍMICA ANALÍTICA INSTRUMENTAL



MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS



- ▶ Basados en la medida de propiedades químicas y físicas de los analitos con fines cualitativos y cuantitativos.
- ▶ La medida se realiza en un instrumento apropiado.

Propiedad medida	Método Instrumental	Método Instrumental
Absorción de radiación	Espectrofotometría de absorción	Óptico
Emisión de radiación	Espectroscopía de emisión	Óptico
Potencial eléctrico	Potenciometría	Electroanalítico
Corriente eléctrica	Voltamperometría	Electroanalítico
Resistencia eléctrica	Conductimetría	Electroanalítico

MÉTODOS ÓPTICOS



Métodos que miden alguna propiedad de la **radiación electromagnética (REM)** emitida por la materia o que interacciona con ella

CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS ÓPTICOS

Métodos de absorción
Métodos de emisión

ESPECTROSCÓPICOS

Existe intercambio de energía
entre la REM y la materia



NO ESPECTROSCÓPICOS

Se producen cambios en la dirección o en
las propiedades físicas de la REM

Dispersión

Refracción

Difracción

Polarización

ESPECTROSCÓPICOS

- Absorción { niveles moleculares UV-visible. IR, microondas
niveles atómicos: absorción atómica, rayos X
- Emisión { niveles moleculares: luminiscencia (fluorescencia, fosforescencia)
niveles atómicos: espectrometría de emisión, fotometría de llama
ICP, fluorescencia de rayos X, fluorescencia atómica

NO ESPECTROSCÓPICOS

- Dispersión: turbidimetría, nefelometría
- Refracción: refractometría, interferometría
- Difracción: rayos X, electrones
- Rotación óptica: polarimetría, dicroísmo circular

MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS



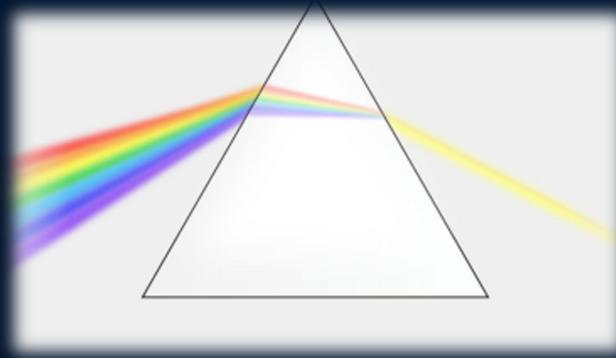
La *espectroscopia* es la ciencia que estudia **las interacciones de la radiación con la materia.**

- ▶ La *espectrometría* y los *métodos espectrometricos* se refieren a la **medición** de la intensidad de la radiación con un transductor fotoelectrico u otro tipo de dispositivo electronico.
- ▶ Los métodos espectrometricos mas utilizados se basan en la radiación electromagnetica, que es un tipo de energia que adopta varias formas; las mas reconocibles son la **luz** y el **calor radiante.**



ESPECTROSCOPIA

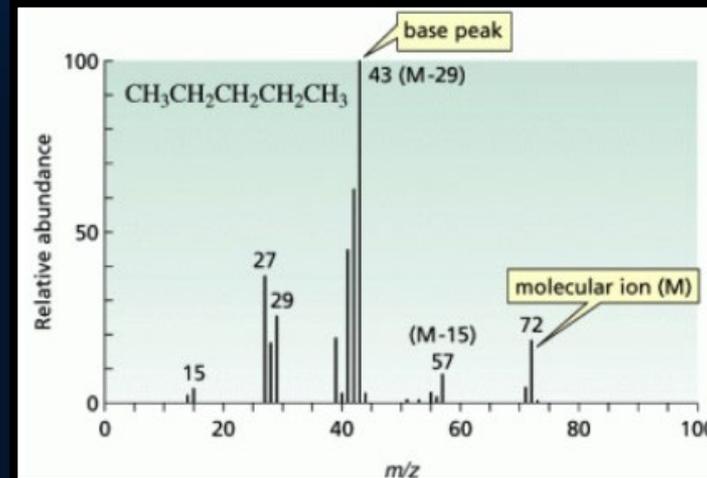
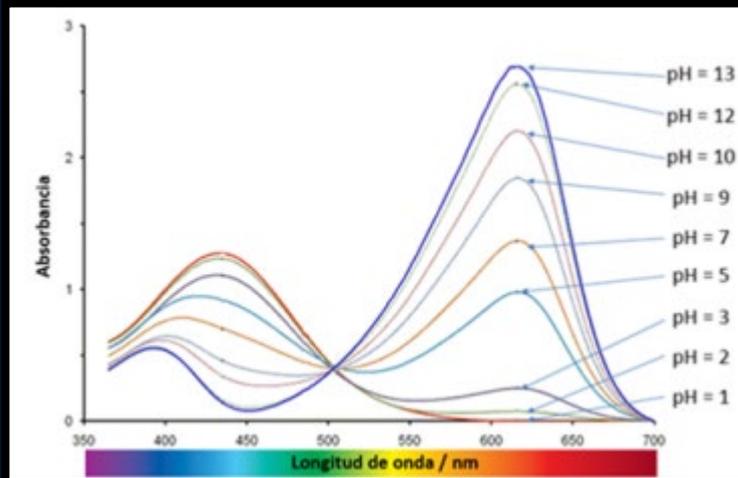
Históricamente, el término espectroscopia se refería a una rama de la ciencia en la que la luz, o radiación visible, se descomponía en sus longitudes de onda componentes, originándose así los espectros, que se usaban para los estudios teóricos de la estructura de la materia o para análisis cualitativos y cuantitativos.



Con el paso del tiempo, el significado se amplió para incluir la utilización de no solo la luz, sino todo el espectro de radiación.

Actualmente se incluyen estudios con otro tipos de radiación con iones (espectroscopia de masas), electrones (espectroscopia de electrones) y ondas de sonido (espectroscopia acústica).

Comprende el estudio, la producción e interpretación de espectros atómicos y moleculares.



ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

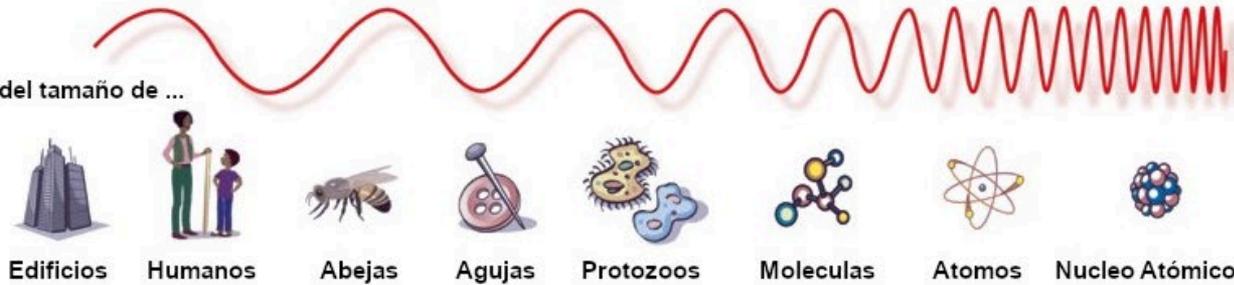
Penetra la
atmosfera de la
tierra?



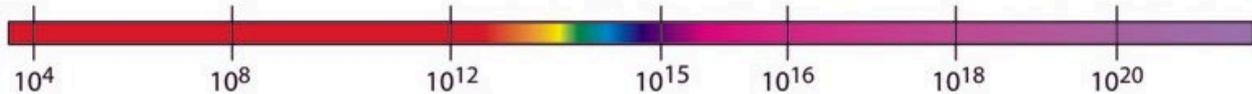
Longitud de
onda (metros)



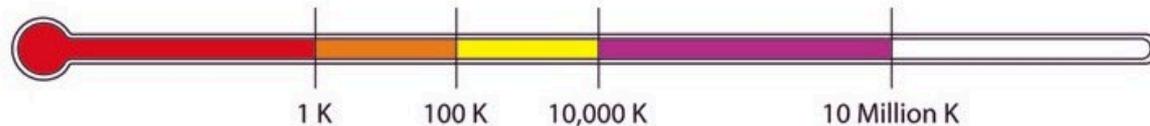
Como del tamaño de ...



Frecuencia
(Hz)



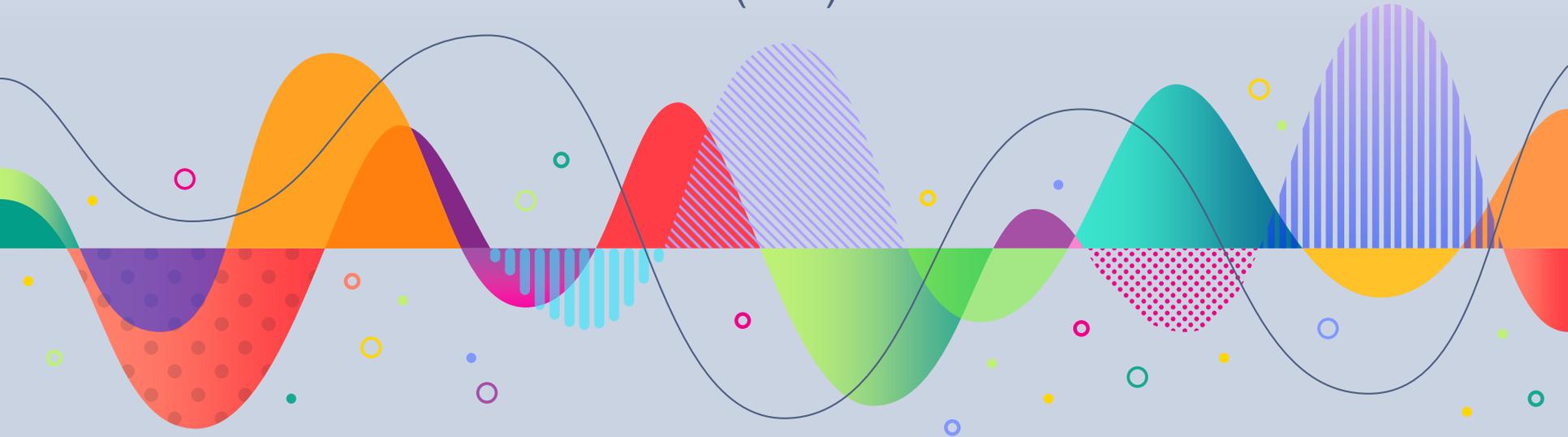
Temperatura de los
cuerpos que emiten
la longitud de onda
(K)



1.

PROPIEDADES DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

(REM)



DUALIDAD ONDA-PARTÍCULA

Muchas de las propiedades de la REM se describen por medio de un modelo ondulatorio.

El **modelo ondulatorio** no toma en cuenta los fenómenos relacionados con la absorción y emisión de energía radiante.

Para entender estos procesos, es necesario recurrir a un **modelo de partículas**.

Estos puntos de vista duales de la radiación como partículas y como ondas son complementarios.

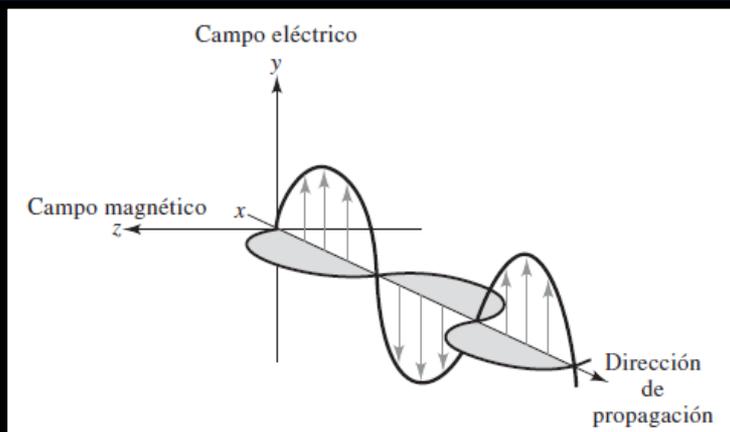


La REM es una onda en cuanto a su transmisión y es una partícula (fotón)
en cuanto a que tiene una energía asociada

Las propiedades de onda nos permite seguir su movimiento y ver como se transmite, y si es reflejada, si cambia de dirección o es refractada, si es interferida, si se produce una dispersión anómala o si es polarizada.

Las propiedades de partícula nos indican cuál es su energía (con la que puede interactuar con la materia).

PROPIEDADES ONDULATORIAS



La REM se presenta como ondas consistentes en campos eléctricos y magnéticos que están en fase y que oscilan sinusoidalmente de manera perpendicular entre sí y respecto a la dirección de propagación.

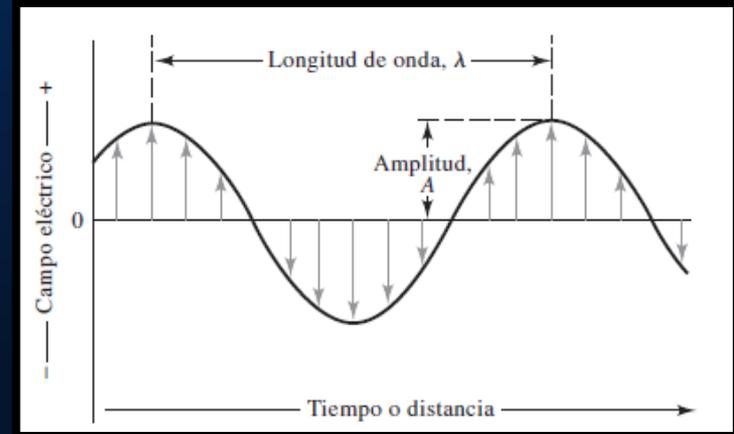
LONGITUD DE ONDA (λ)



Distancia entre dos puntos de la onda que han pasado un ciclo completo (entre 2 máximos o entre 2 mínimos).

Unidades de longitud (nm).

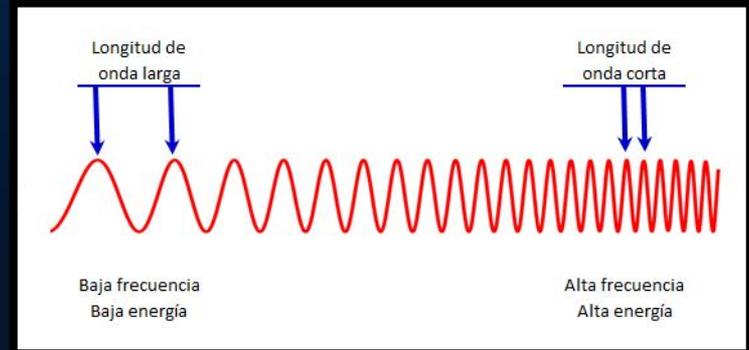
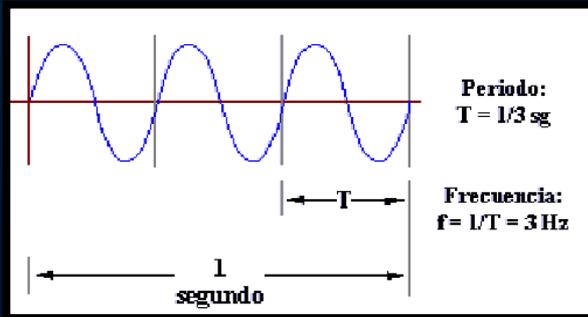
1 angstrom (Å) = 10^{-10} m
1 nanometro (nm) = 10^{-9} m
1 micrometro (μm) = 10^{-6} m



FRECUENCIA (ν)



Número de ciclos por unidad de tiempo
Unidad: s⁻¹ o Hertz (Hz)



VELOCIDAD DE PROPAGACIÓN DE UNA ONDA

$$V = \frac{\text{distancia}}{\text{tiempo}} = \frac{\lambda}{T} = \lambda \cdot f$$

V: velocidad de propagación ($\frac{m}{s}$)

λ : longitud de onda (m)

f: frecuencia (Hz)

VELOCIDAD DE LA LUZ (c)

La velocidad de la luz cambia según el medio.

En el vacío (c):

$$c = \lambda \cdot f$$

$$c = 3 \times 10^8 \left[\frac{m}{s} \right]$$

En cualquier otro medio (v) la luz se mueve mas lentamente que en el vacío.

La relación es:

$$n = \frac{c}{v}$$

Índice de refracción

El *índice de refracción* de un medio es una medida de la interacción de la materia con la radiación.

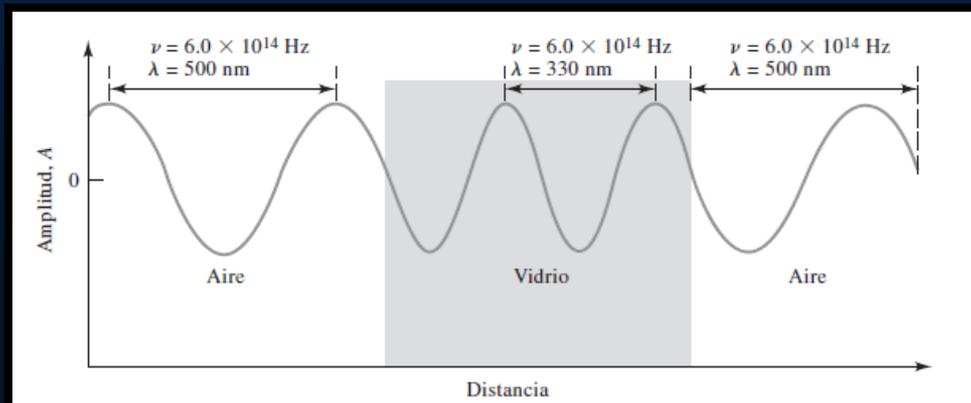
TRANSMISIÓN DE LA RADIACIÓN

Se deduce que la radiación tiene que interactuar de alguna manera con la materia.

Sin embargo, como no se observa un cambio de frecuencia, la interacción *no puede* involucrar una transferencia permanente de energía.

La transmisión a través de un medio se puede considerar como un proceso en el que intervienen átomos polarizados, iones o moléculas como intermediarios.

Quando la radiación pasa del vacío a cualquier otro medio material, su longitud de onda debe disminuir, debido a que su frecuencia es constante.



PROPIEDADES CORPUSCULARES

Quando la REM es emitida o absorbida, se establece una transferencia de energía desde el objeto emisor o hacia el medio absorbente.

Para poder explicar estos fenomenos se requiere tratar la REM no como un conjunto de ondas, sino como una corriente o flujo de partículas discretas llamadas *fotones* o *cuantos* (paquetes de Energía).

Un fotón es una partícula de rem con masa cero y energía Eproporcional a la frecuencia de la radiación.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = h c \bar{\nu}$$

donde h es la constante de Planck (6.63×10^{-34} J.s).

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = h c \bar{\nu}$$



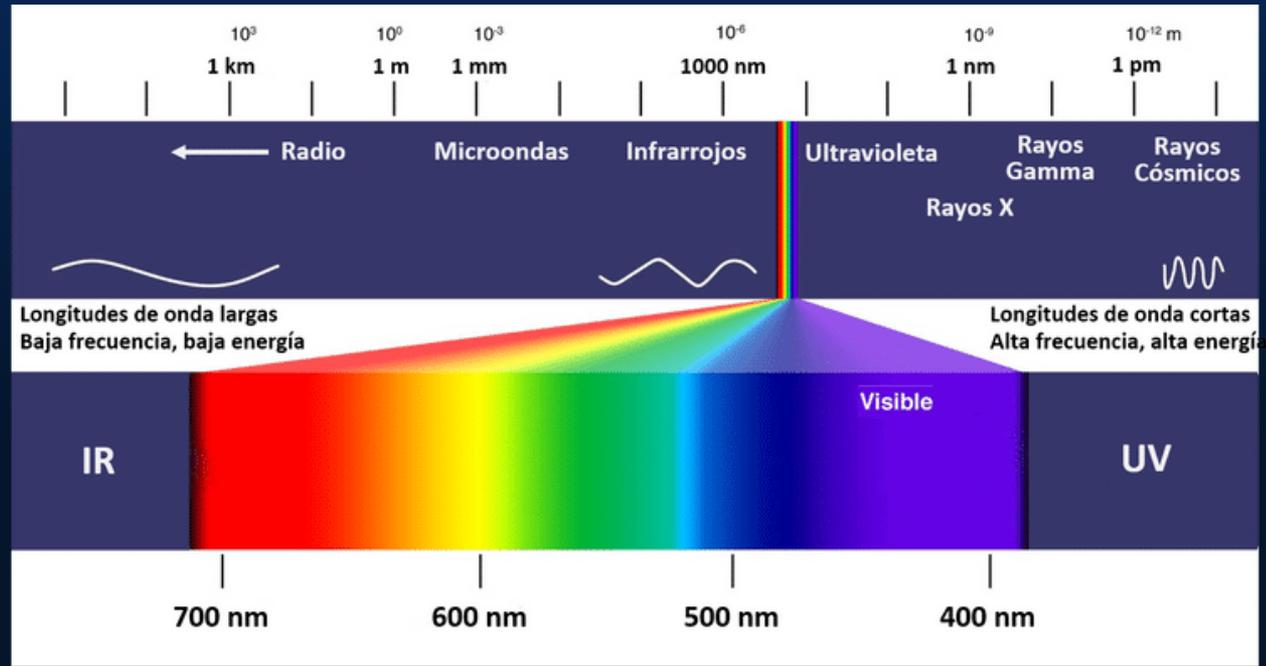
LONGITUD DE ONDA



FRECUENCIA



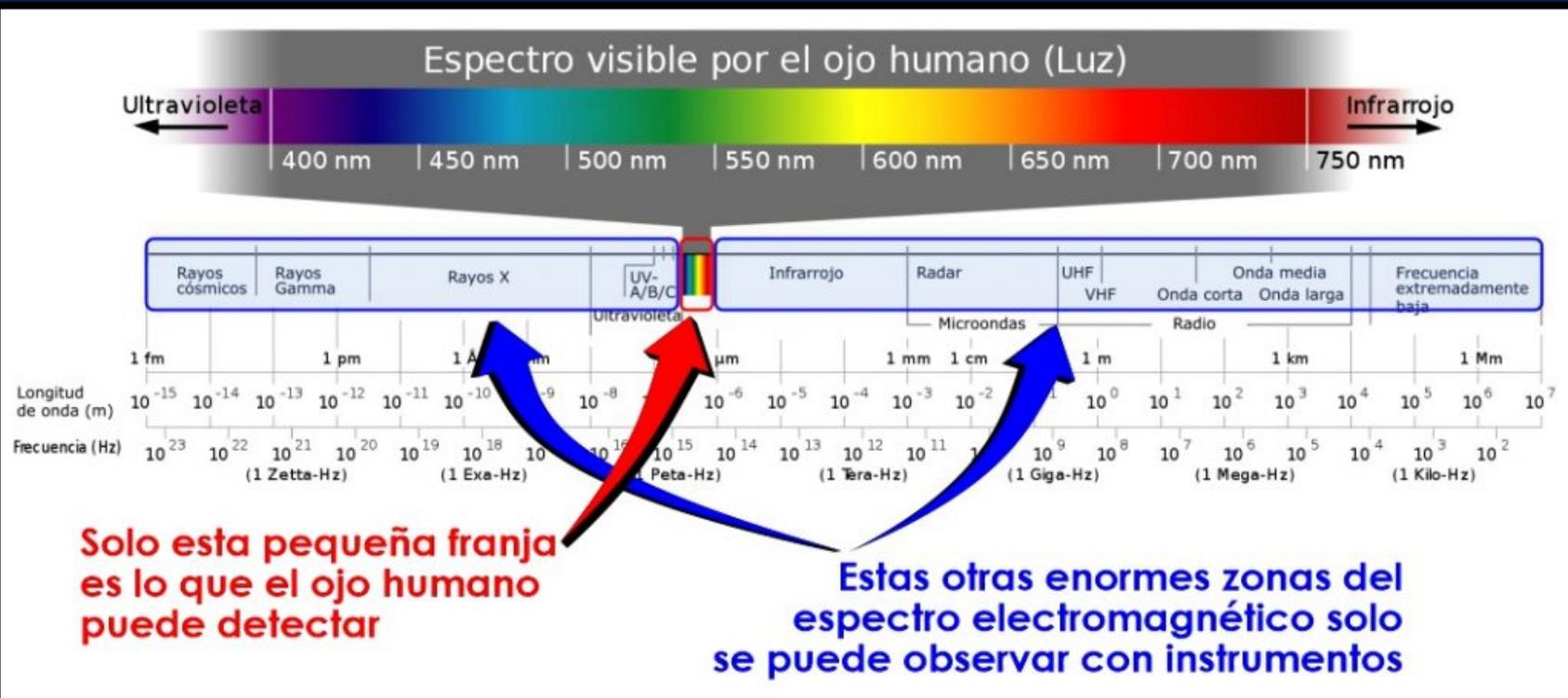
ENERGIA



Espectroscopía IR

Espectroscopía UV-Vis

EL ESPECTRO VISIBLE



EL ESPECTRO VISIBLE

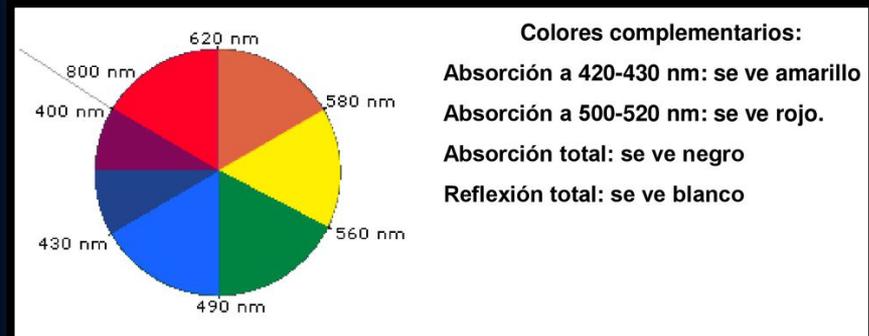
Las longitudes de onda (λ) asociadas con la luz visible son capaces de afectar la retina del ojo humano, creando la impresión subjetiva de la visión y el color.

Nosotros “vemos” los objetos por medio de la luz que ellos emiten o reflejan.

Cuando la “luz blanca” (que contiene todas las longitudes de onda) pasa a través de un objeto que es transparente a ciertas λ , pero que absorbe otras, el medio aparece coloreado.

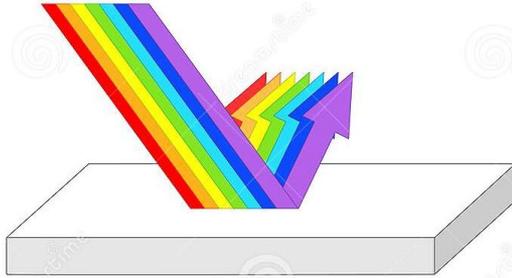
Dado que solo las λ transmitidas llegan al ojo, éstas indican el color del objeto. Este color es **complementario a la luz que absorbe el objeto.**

λ (nm)	Color	Color complementario
400-435	Violeta	Amarillo-verde
435-480	Azul	Amarillo
480-490	Verde-azul	Anaranjado
490-500	Azul-verde	Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarillo-verde	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-610	Anaranjado	Verde-azul
610-750	Rojo	Azul-verde

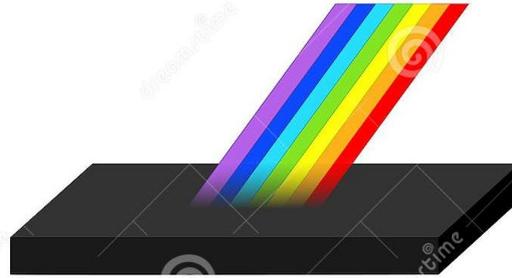




A red object reflects red and absorbs others colors of white light

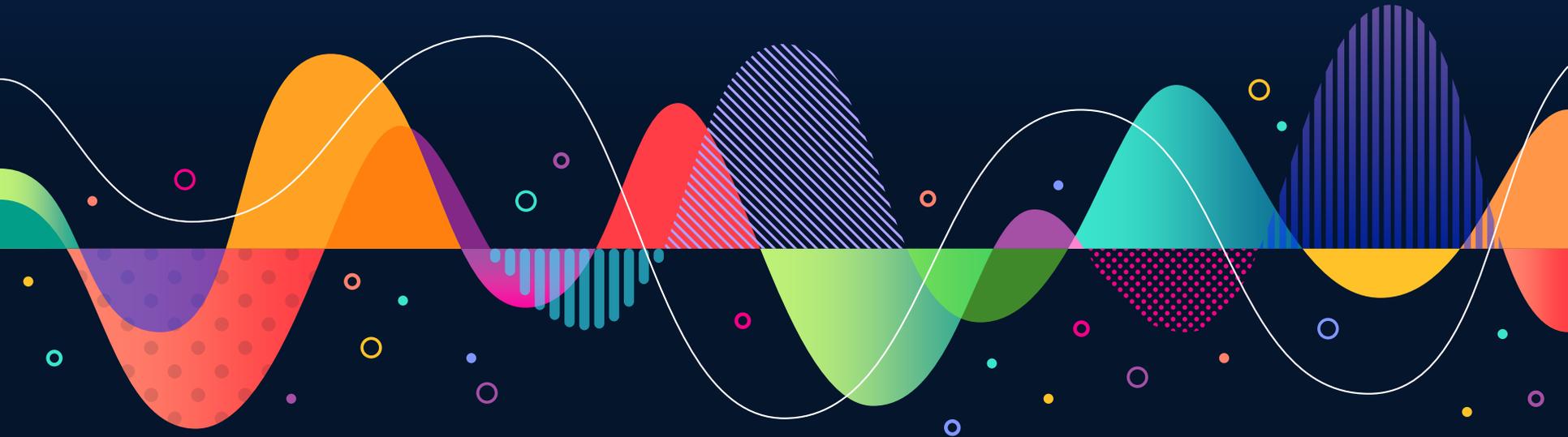


A white object reflects all colors of white light equally



An object is seen as black if it absorbs all colors of white light

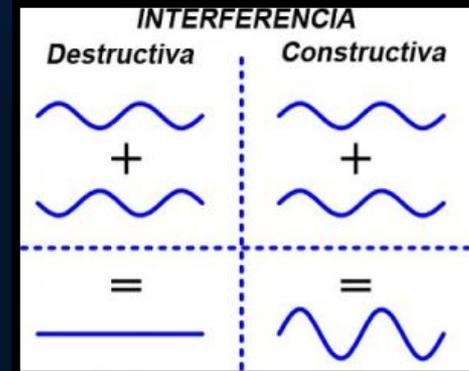
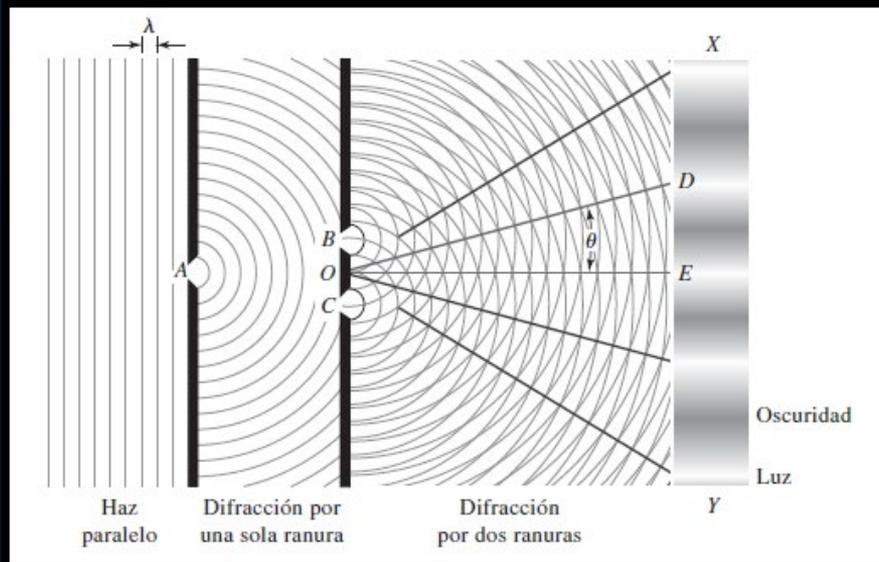
MÉTODOS NO ESPECTROSCÓPICOS



DIFRACCIÓN

Es la desviación de la radiación al encontrar un obstáculo o al atravesar una rendija.

La difracción es una consecuencia del fenómeno de *interferencia*, en el cual dos o más ondas se superponen para formar una onda resultante de mayor, menor o igual amplitud

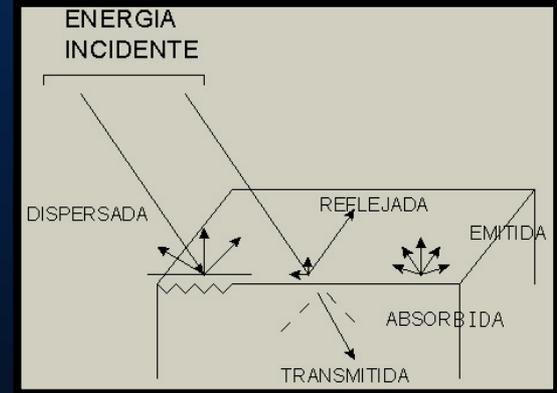


INTERACCIÓN RADIACIÓN-MATERIA

Quando incide REM sobre la materia:

- Puede ser absorbida por ella (generalmente de forma parcial)
- Parte de la radiación puede ser dispersada o re-emitida, con o sin cambio en la longitud de onda.
- Se puede originar un cambio en las propiedades de la radiación, sin necesidad de producirse absorción ni emisión.

Además, la materia puede emitir REM si se excita bajo determinadas condiciones.

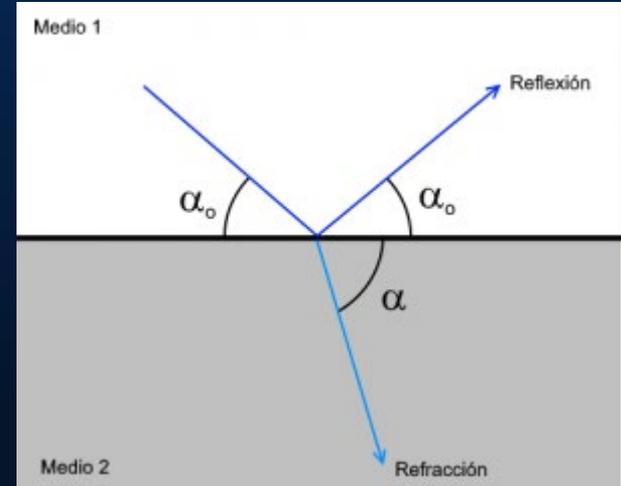


REFRACCIÓN Y REFLEXIÓN



La **refracción de la luz** es el cambio de dirección de los rayos de luz que ocurre tras pasar estos de un medio a otro en el que la luz se propaga con distinta velocidad

La **reflexión de la luz** es el cambio de dirección de los rayos de luz que ocurre en un mismo medio después de incidir sobre la superficie de un medio distinto. El ángulo del rayo incidente es igual al de rayo reflejado

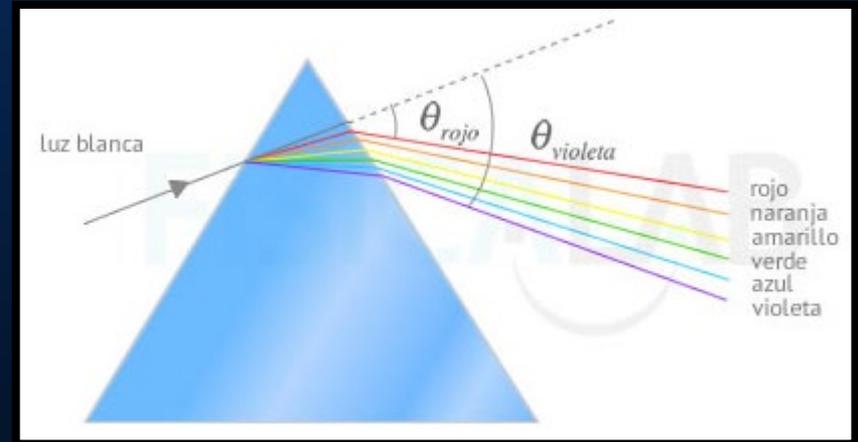


DISPERSIÓN



La dispersión de la luz es el fenómeno por el cual distintas longitudes de onda se refractan con ángulos distintos al atravesar medios materiales.

El fenómeno fue explicado por primera vez por Newton, quien demostró que, en contra de la creencia de la época, los **colores** de las sustancias no provenían del interior de las mismas, sino que se debían a la **descomposición de la luz blanca**.



Prisma de Newton

Al incidir luz blanca sobre el prisma, las longitudes de onda más cortas (el violeta) se desviará más que las más largas (el rojo).

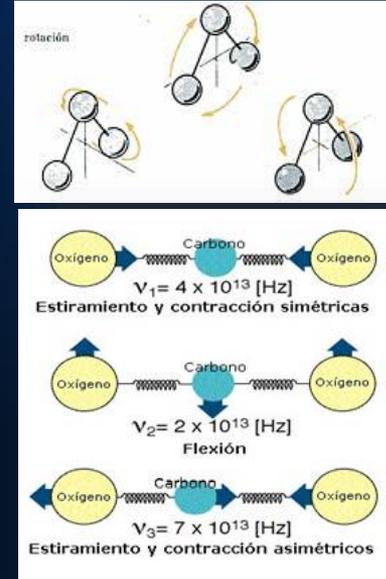
NIVELES DE ENERGÍA DE UNA MOLÉCULA



- ▶ Una molécula no puede poseer una cantidad arbitraria de E_{int} , sólo puede existir en ciertos estados de energía permitidos.

$$E_{\text{int}} = E_{\text{elec}} + E_{\text{vibr}} + E_{\text{rot}}$$

- ▶ A T ambiente las especies se encuentran en su nivel energético mas bajo → ESTADO FUNDAMENTAL

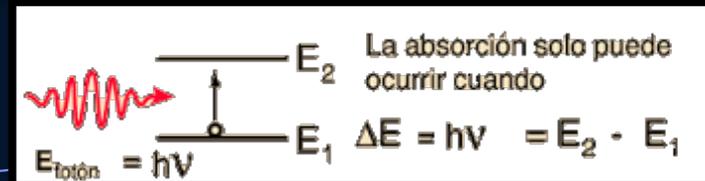
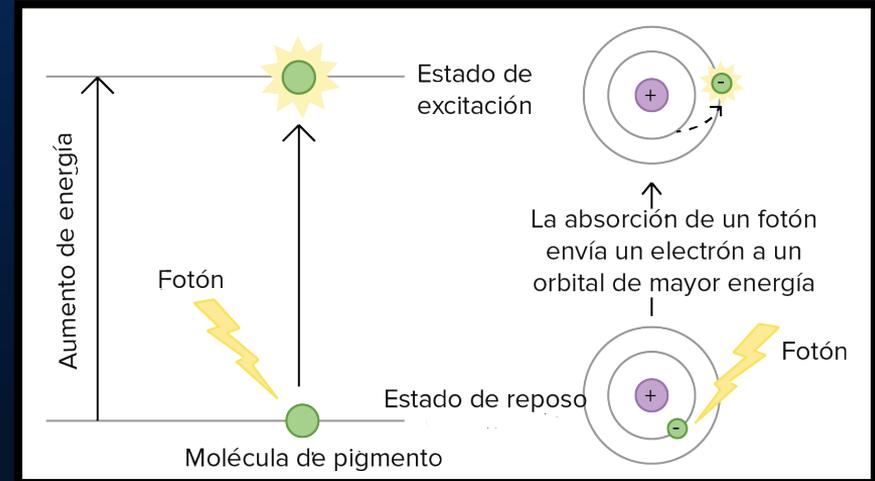


CUANTIZACIÓN DE LA ENERGÍA

Si una molécula va a absorber energía para pasar a un estado energético superior, debe **absorber la cantidad definida** para la transición.

Esta cuantización establece la selectividad que poseen las moléculas para absorber energía radiante.

Al irradiar una molécula con un haz de radiación policromático, las **moléculas sólo absorberán aquellas λ que correspondan a la diferencia de energía entre dos estados permitidos de la molécula.**



ABSORCIÓN DE REM

Proceso por el cual una especie capta selectivamente ciertas frecuencias de la REM.

El fotón absorbido hace pasar a la especie de su estado fundamental a un estado excitado de energía M^* :



La energía del fotón incidente debe satisfacer exactamente los requerimientos de la energía cuantizada de la sustancia.

$$h\nu = E_j - E_i$$

ESPECTROS ROTACIONALES

Los niveles de **energía rotacional** están muy cercanos entre sí.

Las transiciones rotacionales requieren muy poca energía (λ largas), correspondiendo al IR lejano y las microondas ($100\ \mu\text{m} - 10\ \text{cm}$).

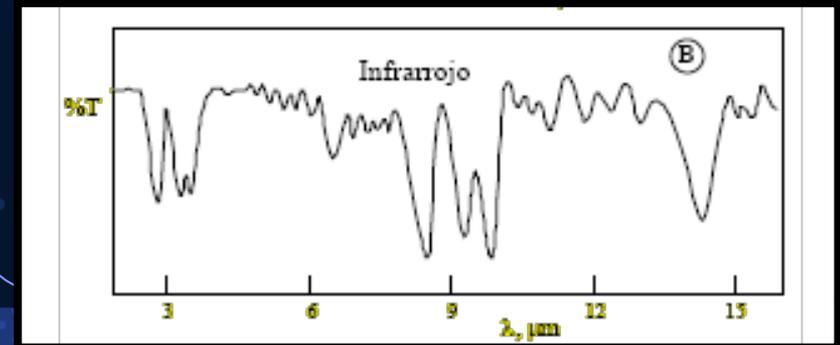
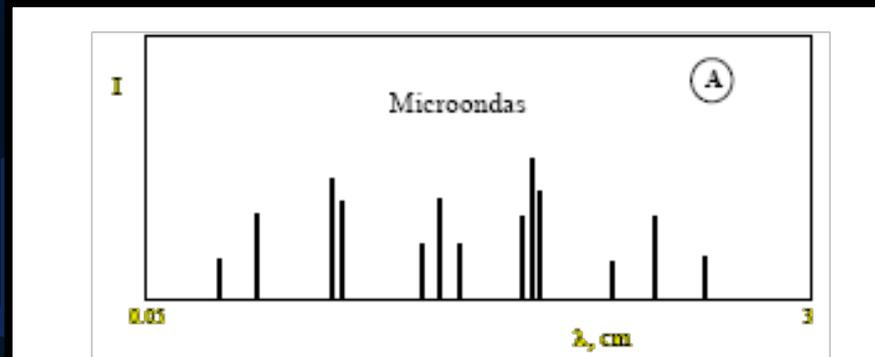
Los estudios de absorción en esta región se utilizan en la determinación de estructuras moleculares.

TRANSICIONES VIBRACIONALES-ROTACIONALES

Los niveles de **energía de vibración**, están algo más separados.

Para producir una transición vibracional se requieren fotones más energéticos, de la zona del IR ($2 - 100\ \mu\text{m}$).

No se observan transiciones vibracionales puras, porque los cambios rotacionales estarán siempre presentes.

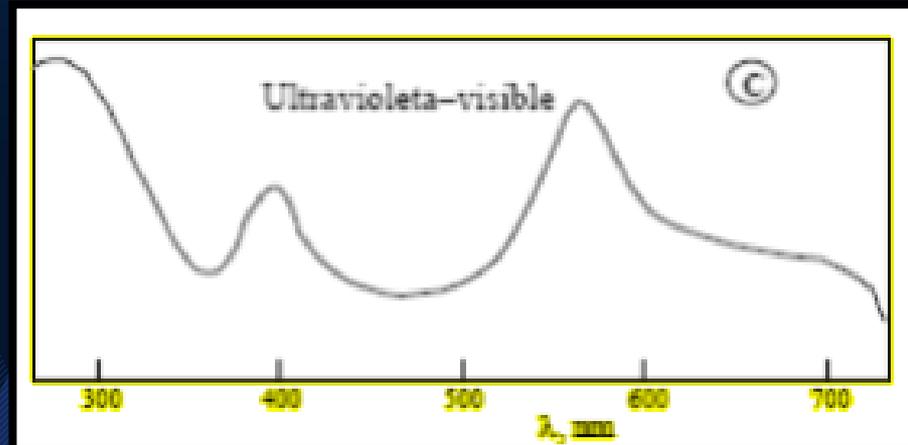


TRANSICIONES ELECTRÓNICAS

La absorción de radiación VIS y UV provoca transiciones electrónicas en las moléculas.

La región de absorción está determinada por la diferencia entre los niveles electrónicos.

Los efectos rotacionales y vibracionales están presentes en un espectro electrónico, dando la “estructura fina”.



2. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN UV-Vis



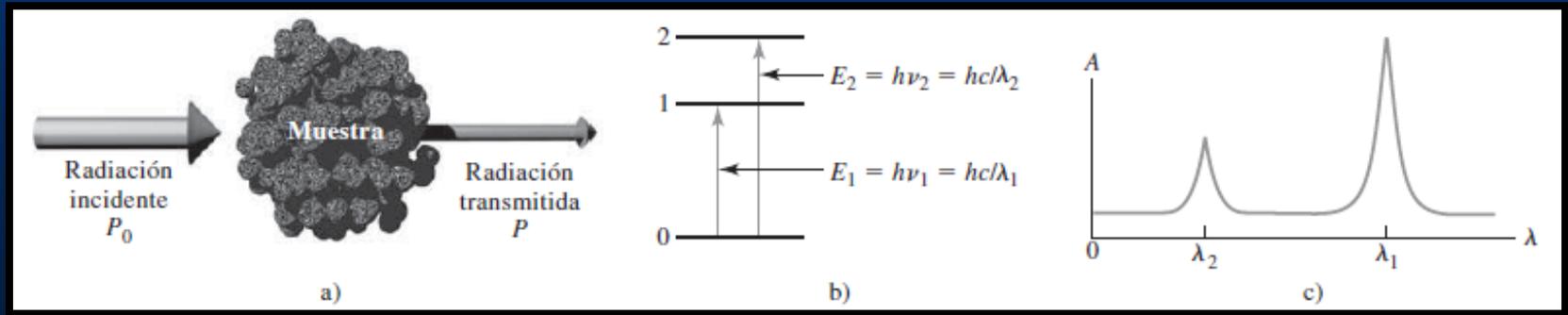
FUNDAMENTO DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN UV-Visible

Método instrumental óptico basado en la medida directa de la absorción de REM UV-Vis, por las moléculas del analito contenido en la muestra.

Las radiaciones UV y Vis tienen en común el hecho de que la absorción de ambas regiones por moléculas, provoca la excitación de e⁻ de enlace a niveles de E superiores, posteriormente elimina su exceso de energía en forma de calor.

Los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de la especie absorbente, base de su aplicación cualitativa.





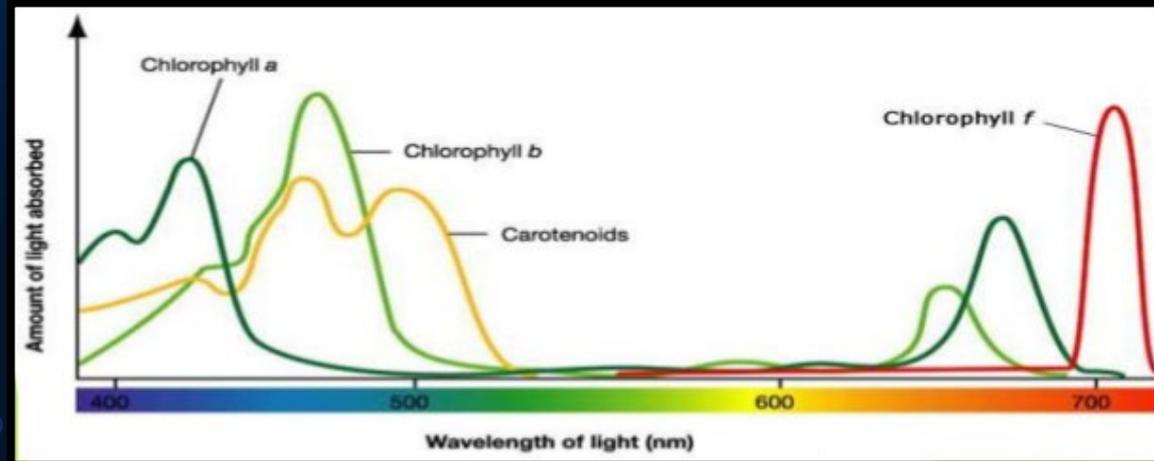
La radiación de la energía radiante incidente P_0 puede ser absorbida por el analito, lo que resulta en la transmisión de un haz de potencia radiante baja P .

Para que haya absorción, la energía del haz incidente tiene que corresponder a una de las diferencias de energía que se muestran en *b*) (Niveles de Energía permitidos).

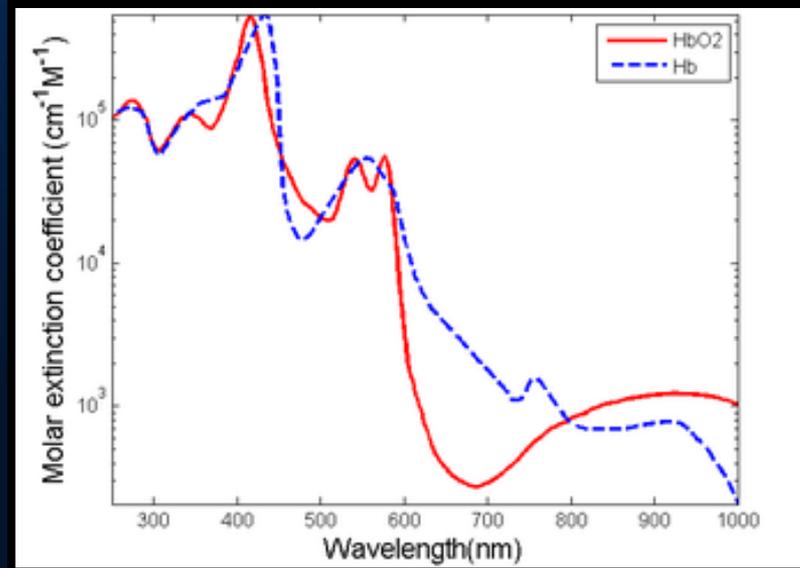
El espectro de absorción resultante se muestra en *c*).

ESPECTRO DE ABSORCIÓN

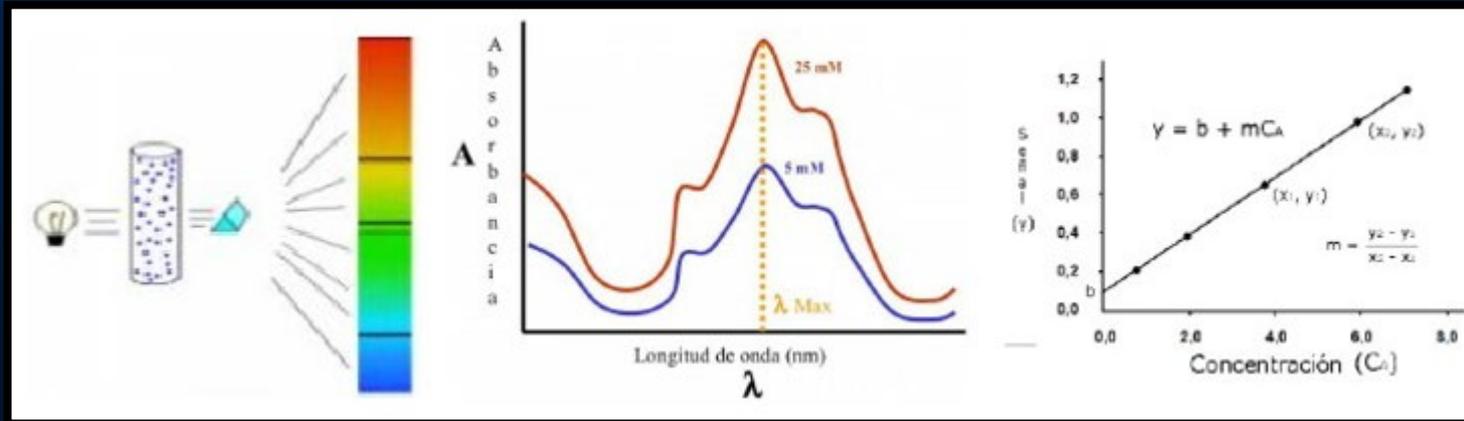
Es una representación gráfica de la absorbancia de un analito (o de otra magnitud equivalente) en función de la longitud de onda de la radiación (o de otro parámetro relacionado con la energía de la radiación utilizada).



ESPECTRO DE ABSORCIÓN HEMOGLOBINA



El máximo de absorbancia obtenido en el espectro de absorción de un analito, nos dará la longitud de onda que proporciona la mayor sensibilidad posible, y por tanto será la que se utilizará en el análisis espectrofotométrico de dicho analito.



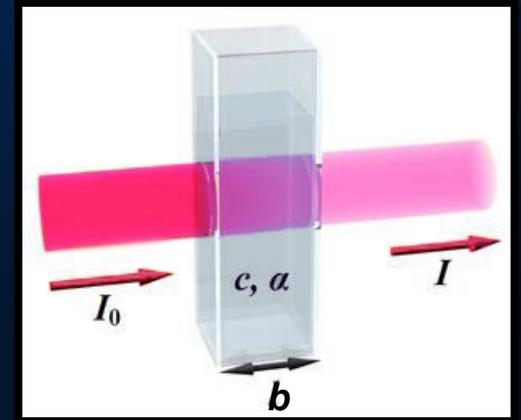
LEY DE BEER

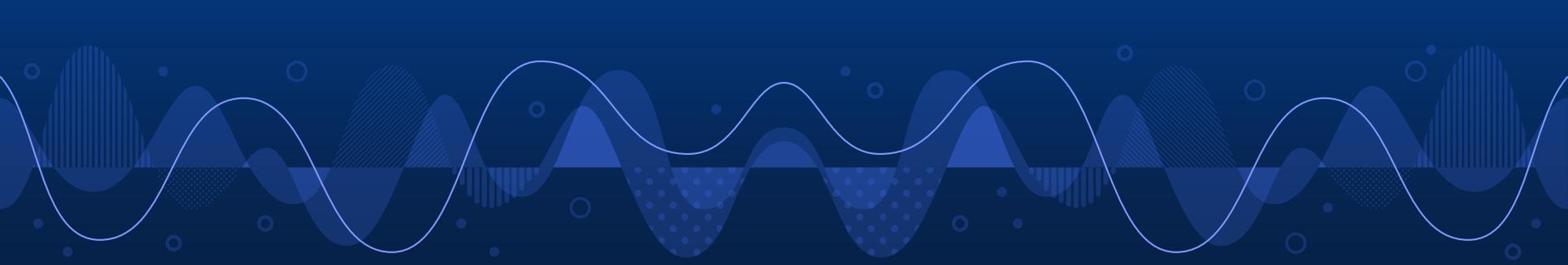


La **absorbancia** es directamente proporcional a la **longitud b** de la **trayectoria** a través de un medio y la **concentración c** de la **especie absorbente**. Esta relación se representa con:

$$A = abc$$

Donde a es una constante de proporcionalidad que se llama *absortividad*. La ley de Beer sienta las bases del análisis cuantitativo tanto para las mediciones de la absorción atómica como de la molecular.



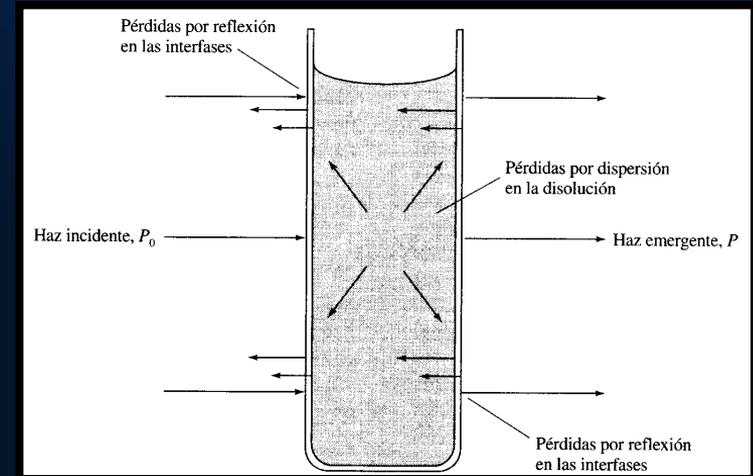


Se considera que:

- ▶ el único mecanismo de interacción entre radiación y materia es la **ABSORCIÓN**
- ▶ la radiación utilizada es **MONOCROMÁTICA**
- ▶ los centros absorbentes son **INDEPENDIENTES**
- ▶ la sección transversal es **UNIFORME**

MEDIDAS DE A y T: PÉRDIDAS POR REFLEXIÓN Y DISPERSIÓN

Normalmente, T y A no pueden medirse directamente ya que la solución que contiene al analito debe colocarse en una cubeta. En cada interfase que separe medios de diferentes valor de **n (índice de refracción)** habrá pérdidas por reflexión de radiación. Aproximadamente un 8.5% de la radiación se pierde cuando atraviesa una cubeta llena de agua. Además hay pérdidas de radiación cuando la presencia de ciertas moléculas grandes dispersan la radiación.



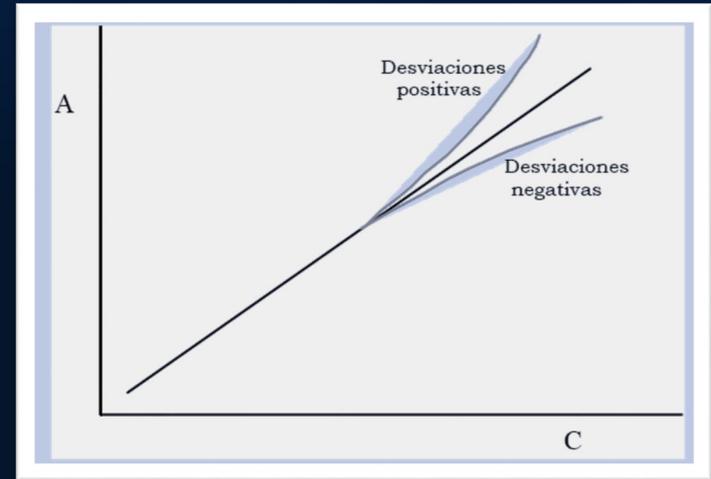
Para compensar estos efectos, se compara la *potencia del haz transmitido por la solución del analito* con la *potencia del haz transmitido por una cubeta idéntica que sólo contiene solvente*.



DESVIACIONES DE LA LEY DE BEER

De acuerdo con la expresión $A = a \cdot b \cdot c$, una **gráfica de Absorbancia versus Concentración** debería ser una **recta de pendiente ab** .

Frecuentemente se encuentran desviaciones a este comportamiento, es por este motivo que se debe corroborar el cumplimiento de la ley antes de hacer un análisis cuantitativo.



DESVIACIONES DE LA LEY DE BEER



Reales

Instrumentales { Radiación no monocromática
Radiación parásita
Errores de lectura

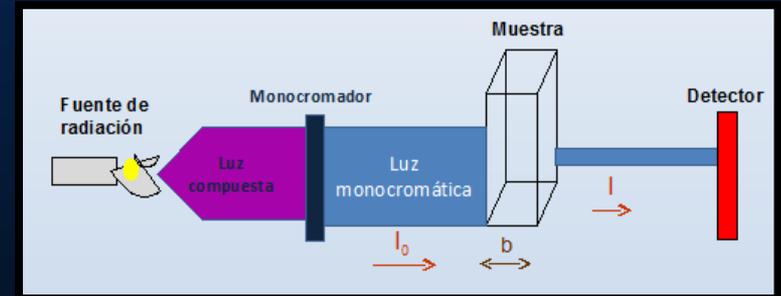
Químicas { Influencia del equilibrio { Dimerizaciones
Acido-base
Complejos
Influencia del disolvente
Influencia de la temperatura
Impurezas en los reactivos
Interacción entre especies absorbentes

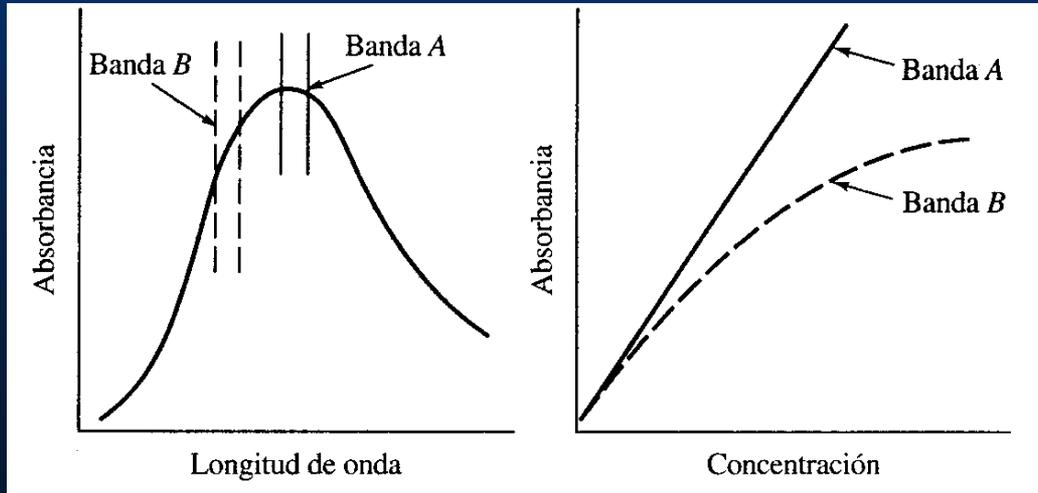
Personales

USO DE RADIACIÓN NO MONOCROMÁTICA



- ▶ El cumplimiento estricto de la ley de Beer sólo se observa cuando la radiación empleada es monocromática.
- ▶ En la práctica es raro el uso de radiación de una única λ (Se utilizan fuentes policromáticas).
- ▶ Los dispositivos empleados para seleccionar la λ de trabajo (filtros o monocromadores) generan una banda más o menos estrecha de longitudes de onda.



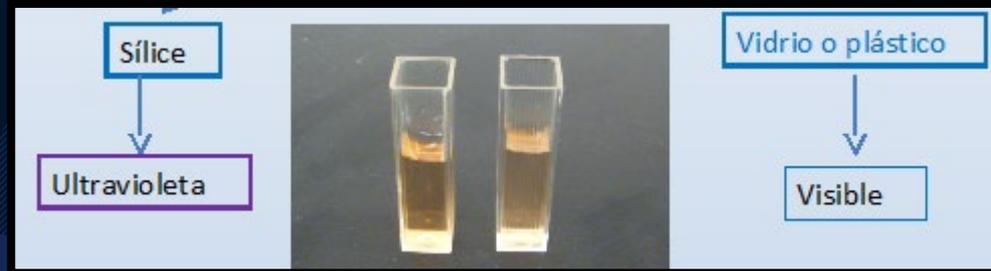
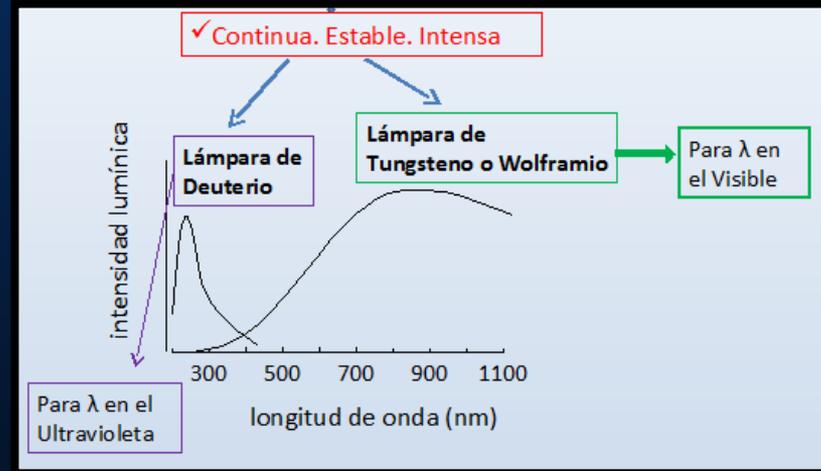
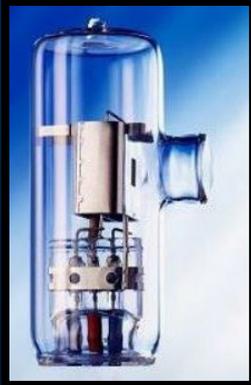


Para evitar desviaciones se elige una banda de longitud de onda cercana a la longitud de onda máxima de absorción.

IZQ: la absorbancia del analito es casi constante en la banda A con la variación de la longitud de onda, mientras que en la banda B coincide con una región donde cambia la absorbancia del analito.

DER: El uso de la banda A, permite obtener una relación lineal, pero hay una variación de la ley de Beer en el uso de la banda B.

FUENTES DE ENERGIA - CUBETAS





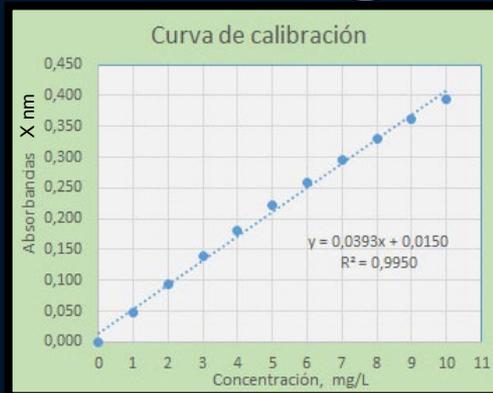
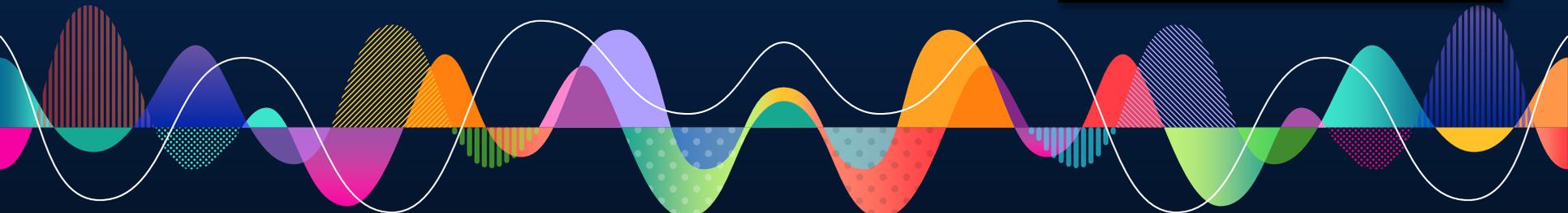
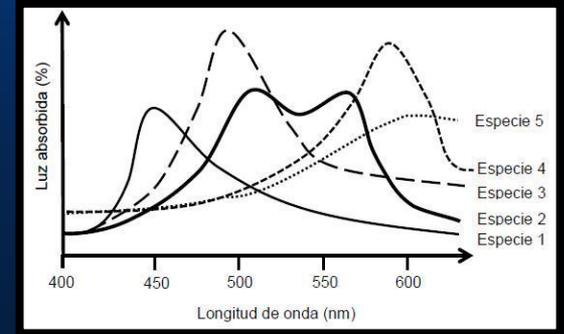
APLICACIONES ANALÍTICAS

DE LA

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR

ANÁLISIS CUALITATIVO

El espectro de absorción de la muestra se compara con los de los correspondientes estándares, con el fin de identificar las bandas de absorción coincidentes. Este tipo de análisis es más frecuente en UV e IR para identificar compuestos orgánicos y rara vez se utiliza en Vis.



ANÁLISIS CUANTITATIVO

Basado en la ley de Beer, en el intervalo de concentraciones de cumplimiento de la ley. Se establece la curva de calibrado usando estándares y la absorbancia de la muestra de concentración desconocida se remite a la curva (a veces basta con un solo estándar).

3.

ESPECTROMETRÍA INFRARROJA

IR



La radiación infrarroja **no tiene la suficiente energía para producir la clase de transiciones electrónicas** que se encuentran en las radiaciones ultravioleta y visible;

La absorción de radiación infrarroja se limita a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energías entre los distintos estados

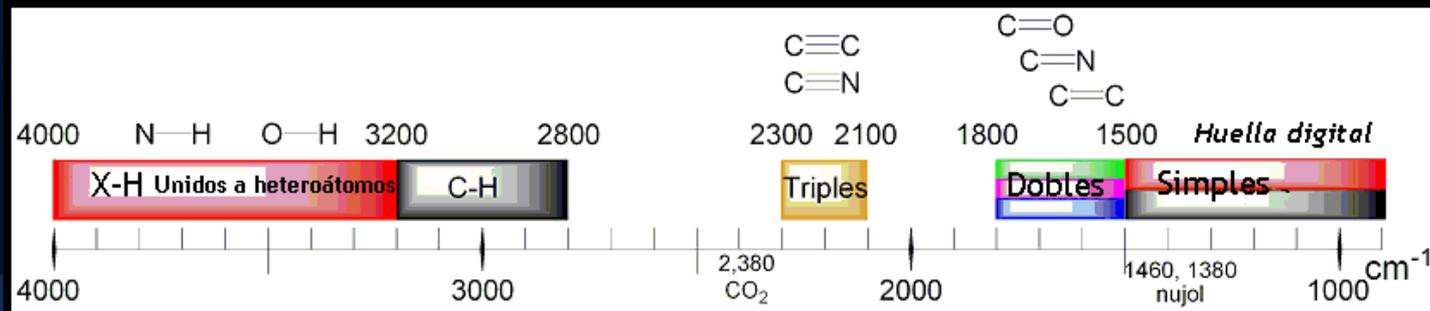
vibracionales y rotacionales.

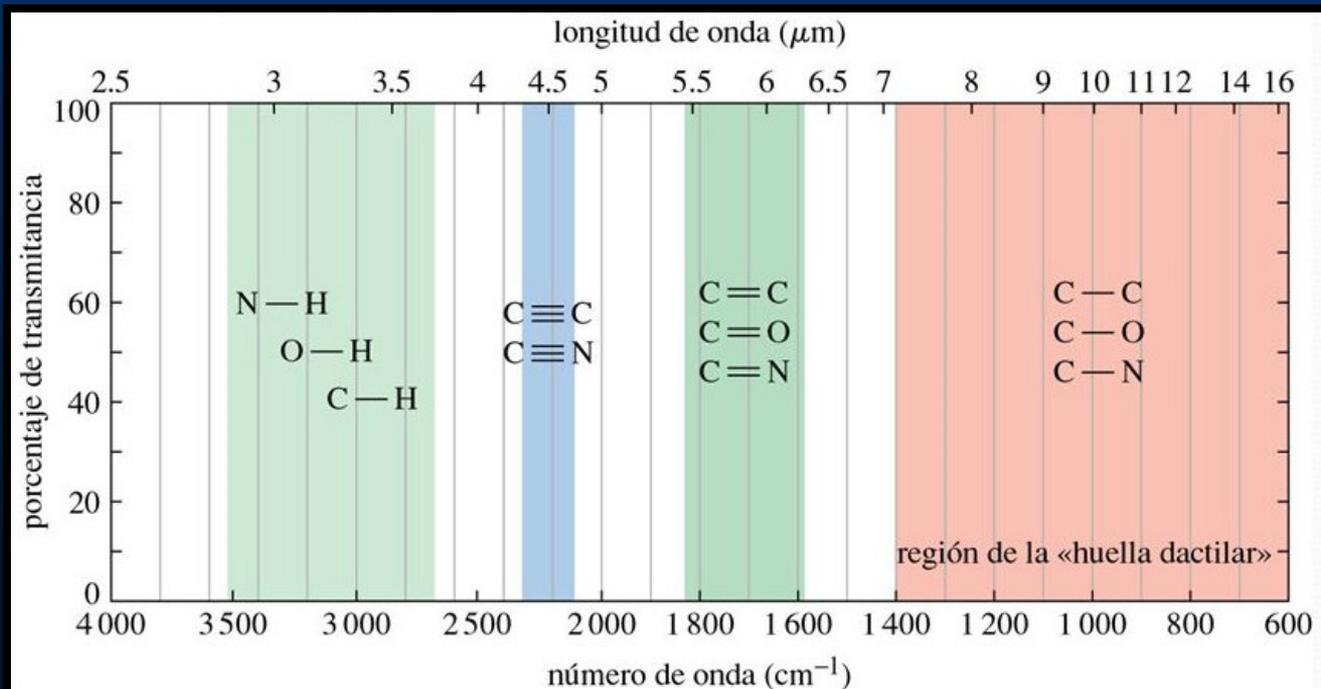
Existen dos categorías de **vibración**:
Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos.
Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces. En la siguiente figura se representan los diferentes tipos de vibraciones moleculares.

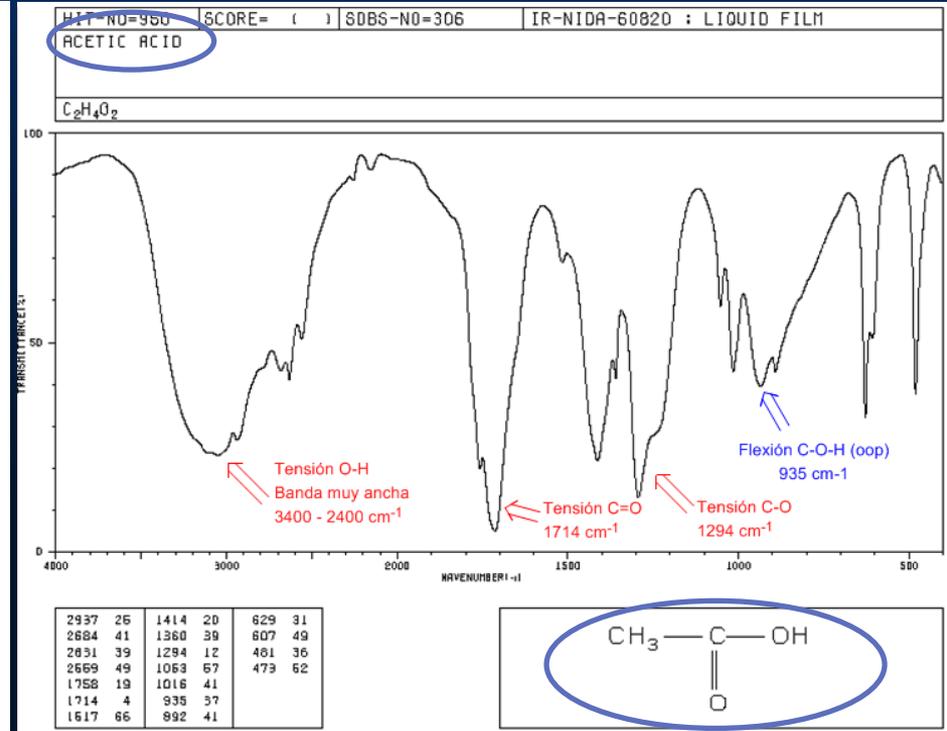
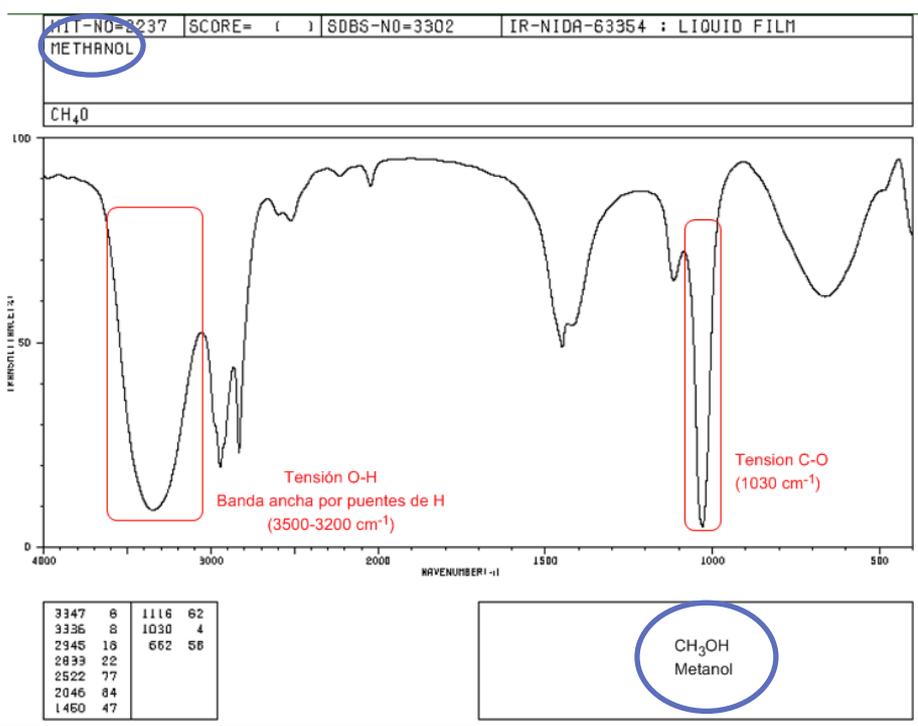


¿Qué información nos da la espectroscopía IR?

La aplicación es el análisis **cualitativo**: detección de las moléculas presentes en la muestra. En la zona del espectro electromagnético IR con longitudes de onda comprendidas **entre 1300 y 400 cm^{-1}** (infrarrojo lejano), es la denominada **zona de la huella dactilar** (flexión de enlaces CH, CO, CN, CC, etc.). En esta zona de longitudes de onda, pequeñas diferencias en la estructura y constitución de las moléculas dan lugar a variaciones importantes en los máximos de absorción.

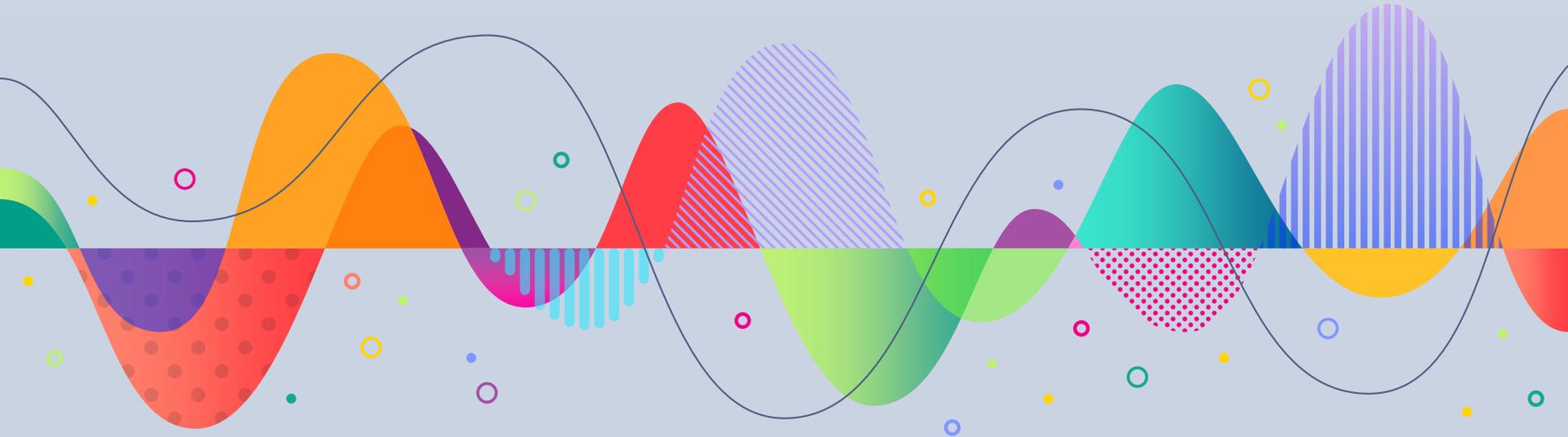


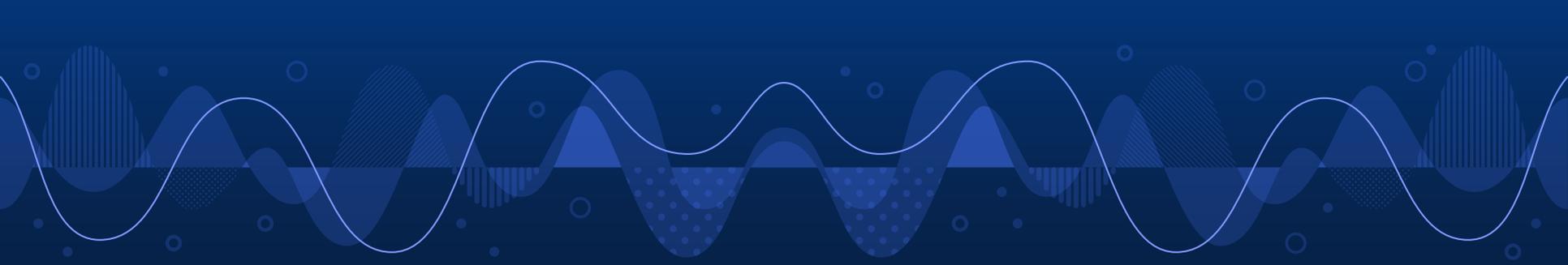




4.

ESPECTROMETRÍA DE MASAS





Es una técnica de análisis para la determinación de estructuras orgánicas, que puede combinarse con otras técnicas.

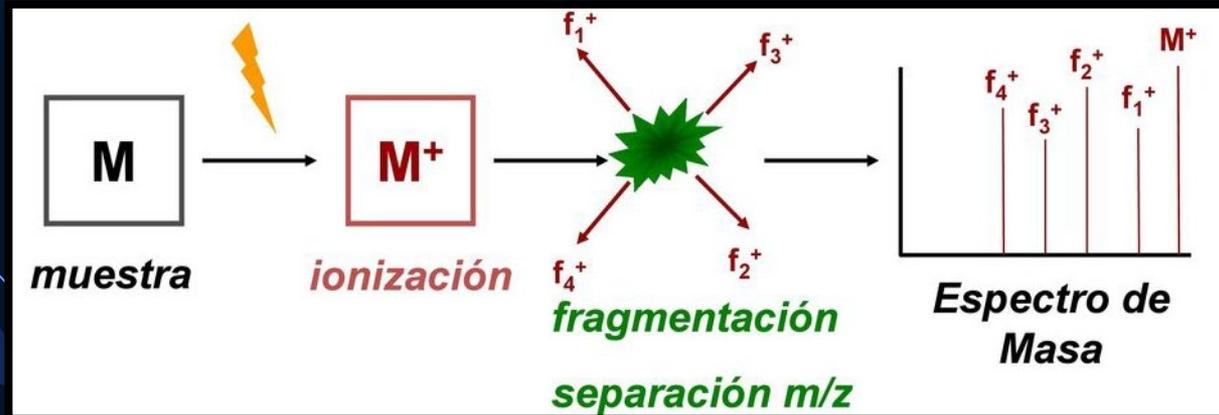
No se utiliza radiación por lo que no es una técnica espectroscópica.

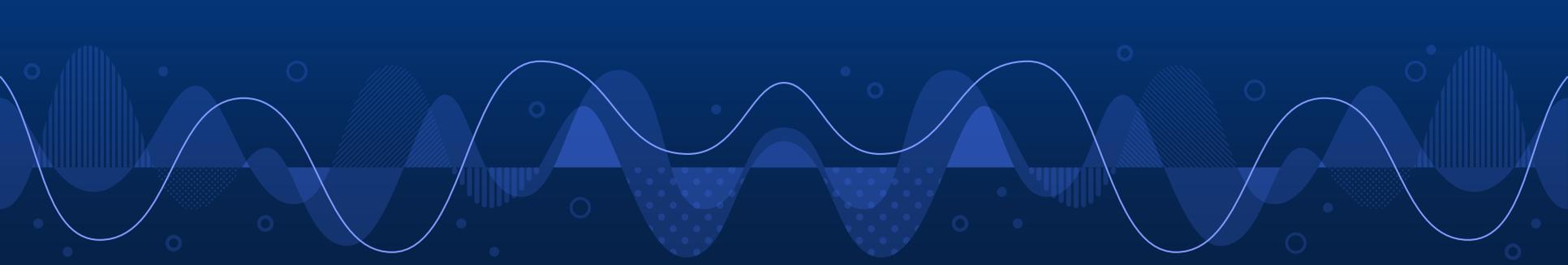
Durante la obtención del espectro tienen lugar procesos químicos, con lo que la muestra utilizada se destruye y no puede recuperarse

FUNDAMENTO



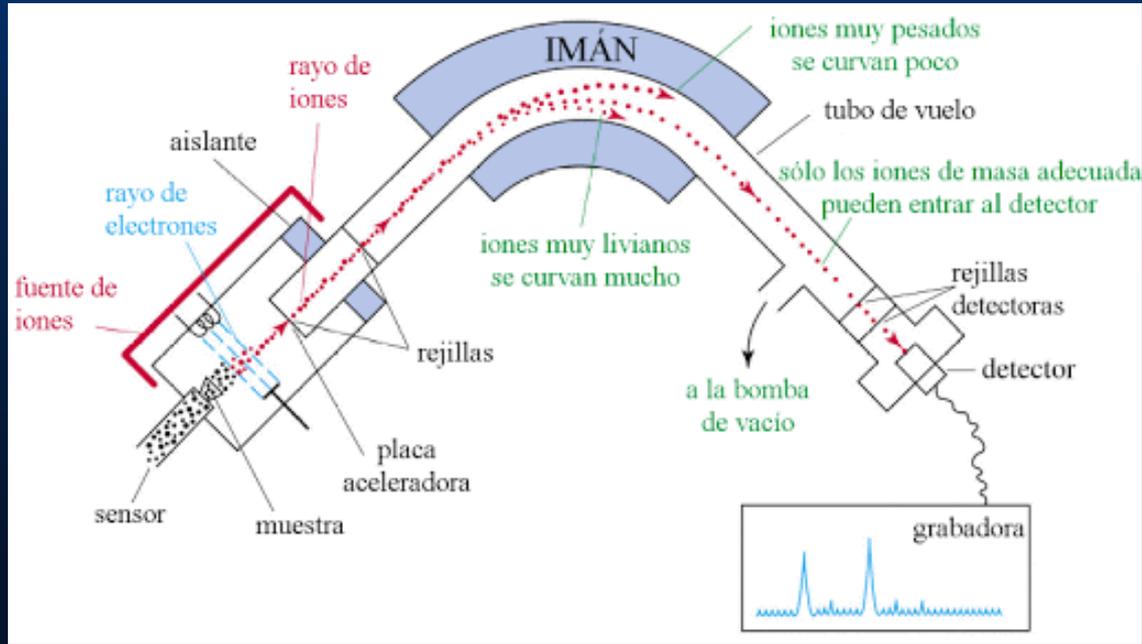
- ▶ Técnica basada en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa. Una vez obtenidos los iones, se separan y se miden atendiendo a su relación masa/carga.
- ▶ Tras el proceso de ionización se separan los diferentes fragmentos iónicos y se detectan, representando su abundancia en un gráfico que recibe el nombre de espectro de masas. En él se puede observar la abundancia relativa de cada ion y la masa molecular de los mismos.





EL ESPECTRÓMETRO DE MASAS DEBE SER CAPAZ DE REALIZAR CUATRO
FUNCIONES:

- 1- Vaporizar sustancias de volatilidades muy diferentes.
- 2- Originar iones a partir de las moléculas neutras en fase gaseosa.
- 3- Capacidad para separar los iones en función de su relación masa/ carga (m/z).
- 4- Detectar los iones formados y registrar la información.

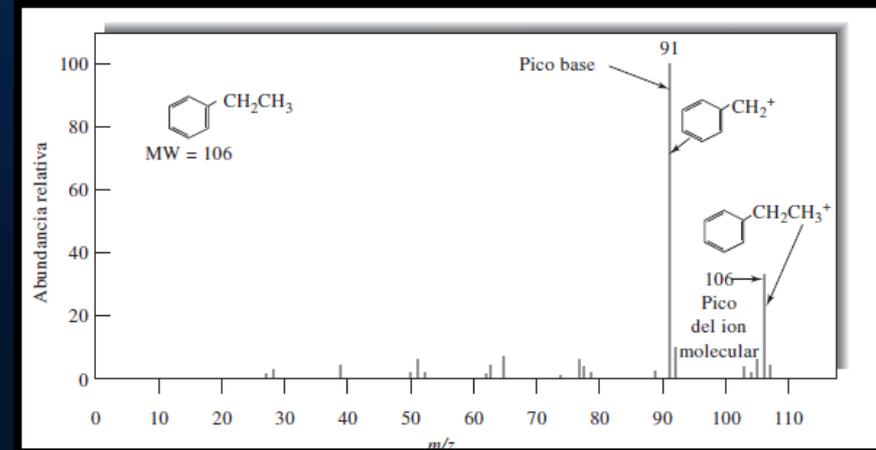
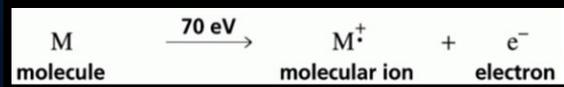


- 1-Sistema de introducción de muestras.
- 2-Fuente de iones.
- 3-Analizador, para la separación de iones.
- 4-Detector

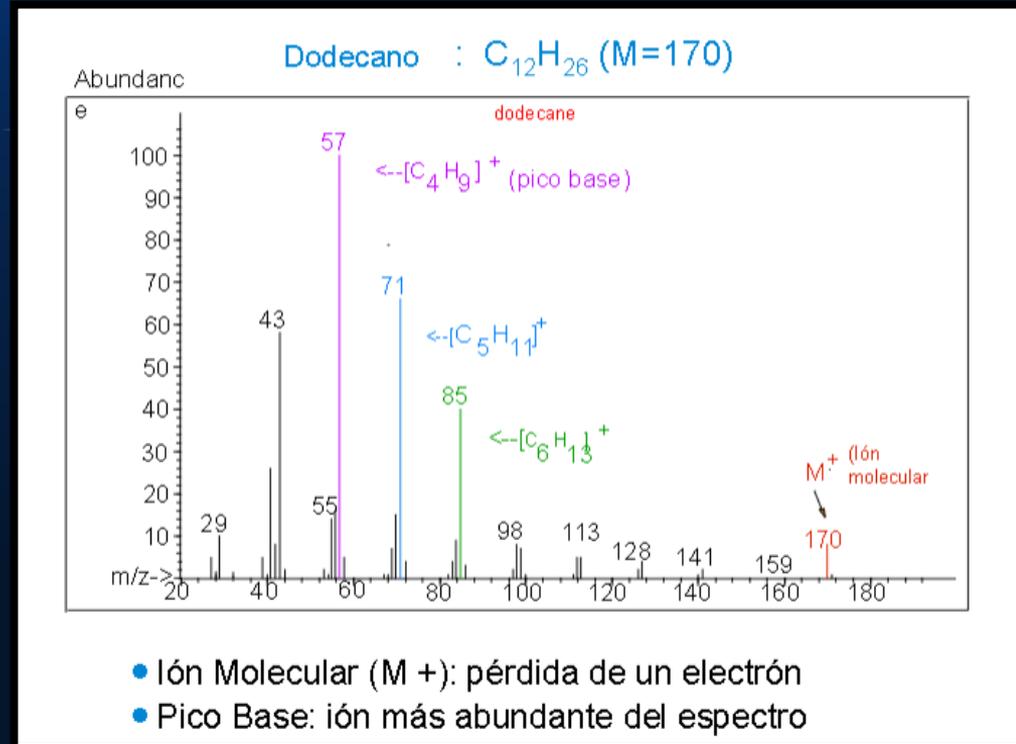
ESPECTRO DE MASAS

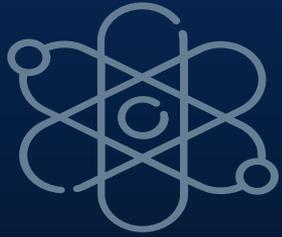


Para obtener el espectro, se bombardea el vapor de la molécula con un haz de electrones, lo cual origina la pérdida de un electrón del analito y la formación de un **ion molecular M** como se muestra en la reacción:



- ▶ El **ión molecular** tiene el mismo PM que la molécula que le dio origen.
- ▶ El pico mas alto, se denomina **Pico base**. Es el pico correspondiente al **ión/fragmento mas abundante** y se le asigna el valor de **100%** (se considera la altura de los otros picos como porcentaje del pico base).





APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS



- A)- Identificación y determinación estructural de compuestos puros.
- B)- Análisis de compuestos orgánicos en muestras complejas:
acoplamiento a cromatografía de gases (GC-MS)

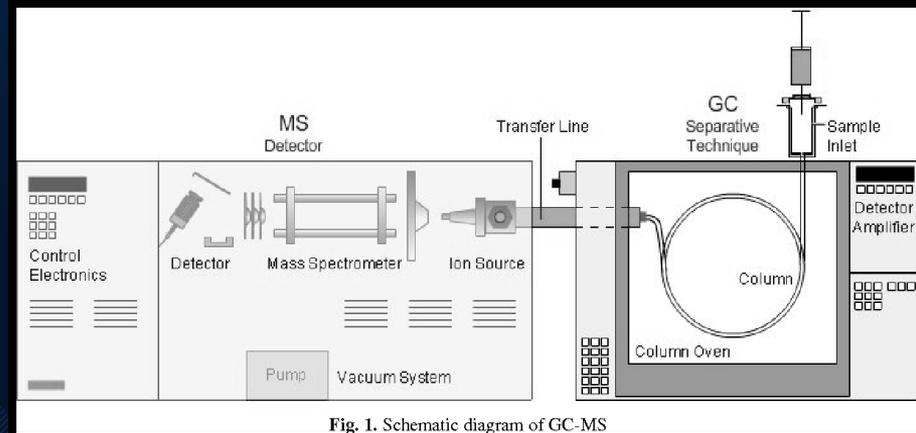
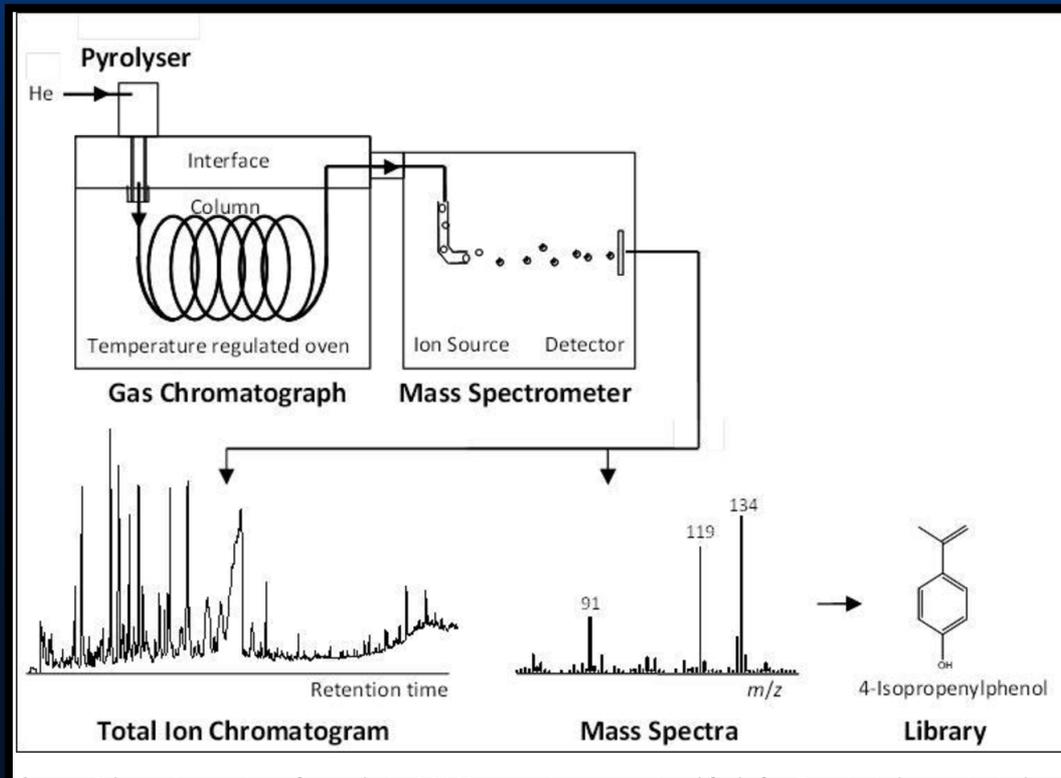


Fig. 1. Schematic diagram of GC-MS



https://www.youtube.com/watch?v=bVKASwadjQY&ab_channel=NFSTCatFIUNFSTCatFIU

GRACIAS!

