

## Análisis cuantitativo mediante mediciones de absorción

**Aplicaciones en especies no absorbentes.** Numerosos reactivos reaccionan en forma selectiva con especies no absorbentes y generan productos de gran absorción en las regiones ultravioleta y visible. Por lo regular, la aplicación satisfactoria de tales reactivos en el análisis cuantitativo requiere que la reacción en que se forma el color sea casi completa. Si la cantidad de producto está limitada por el analito, la absorbancia del producto es proporcional a la concentración del analito. Los reactivos que generan color también se utilizan a menudo para determinar especies absorbentes, como los iones de metales de transición. Con frecuencia, la absorptividad molar del producto es varios órdenes de magnitud superior a la de la especie antes de la reacción. Una gran cantidad de agentes complejantes se usan para determinar especies inorgánicas. Entre los reactivos inorgánicos representativos están iones tiocianato para el hierro, cobalto y molibdeno; peróxido de hidrógeno para el titanio, vanadio y cromo; y el ion yoduro para el bismuto, paladio y telurio. Los agentes quelantes orgánicos, que forman complejos coloreados estables con los cationes, son incluso más importantes. Entre los ejemplos están el dietilditiocarbamato para la determinación de cobre, la difenilditiocarbazona para el plomo, 1,10-fenantrolina para la determinación de hierro y la dimetilglioxima para el níquel. En la aplicación de esta última reacción para determinar níquel por medios fotométricos, se extrae una solución acuosa del catión con una solución del agente quelante en un líquido orgánico inmiscible. La absorbancia de la capa orgánica rojo brillante resultante funciona como una medida de la concentración del metal.

El primer paso de cualquier análisis fotométrico o espectrofotométrico es el establecer las condiciones de trabajo que originan una relación reproducible, de preferencia lineal, entre la absorbancia y la concentración del analito.

**Selección de la longitud de onda.** Por lo regular, para obtener la mayor sensibilidad las medidas de absorbancia espectrofotométricas se hacen a una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción porque el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto. Además, las pequeñas incertidumbres que surgen por no reproducir con precisión los parámetros de longitud de onda del instrumento tienen menos influencia a una absorción máxima.

**Variables que influyen en la absorbancia.** Entre las variables comunes que influyen en el espectro de absorción de una sustancia están la naturaleza del solvente, el pH de la solución, la temperatura, las altas concentraciones del electrolito y la presencia de sustancias que interfieren. Los efectos de estas variables deben conocerse y se deben elegir las condiciones para el análisis de manera que las pequeñas e incontroladas variaciones en sus magnitudes no afecten la absorbancia.

**Determinación de la relación entre absorbancia y concentración.** El método de los patrones externos es el que se usa con frecuencia para establecer la relación entre absorbancia y concentración. Después de decidir las condiciones para el análisis, se prepara la curva de calibración a partir de una serie de soluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras. Rara vez es seguro suponer que se cumpla la ley de Beer y utilizar sólo un patrón para determinar la absorptividad molar. Los resultados de una análisis nunca se debe basar en los valores de absorptividad molar encontrado en las publicaciones especializadas.

Lo ideal es que los patrones de calibración tengan una composición parecida a la de las muestras por analizar, no sólo en cuanto a la concentración de las otras especies presentes en la matriz de la muestra. Esto puede reducir al mínimo los efectos de los distintos componentes de la muestra en la absorbancia medida. Por ejemplo, la absorbancia de muchos complejos de iones metálicos muy coloreados disminuye en distinto grado en presencia de iones sulfato o fosfato porque estos aniones forman complejos incoloros con los iones metálicos. Un efecto es que la reacción deseada es menos completa y el resultado son absorbancias menores. El efecto de matriz de sulfato y fosfato puede contrarrestarse añadiendo a los patrones cantidades de estas dos especies similares a las que se encuentran en las muestras. Por desgracia, cuando se analizan materiales complejos como suelos, minerales y plantas fósiles, la preparación de patrones semejantes a las muestras suele ser imposible o en extremo difícil. En estos casos, el método de adición estándar es útil para contrarrestar los efectos de la matriz que alteran la pendiente de la curva de calibración. No obstante, no hay compensación con dicho método si hay especies absorbentes extrañas, a menos que estén presentes en la misma concentración en la solución blanco.

**Método de adición estándar** puede adoptar varias formas. La que se selecciona con mayor frecuencia para los análisis fotométricos y espectrofotométricos requiere la adición de uno o más volúmenes iguales de solución patrón a alícuotas de la muestra. Después, cada solución se diluye hasta un volumen fijo antes de medir su absorbancia.

Si se quiere ahorrar tiempo o muestra, es posible efectuar un análisis de adición estándar usando sólo dos incrementos de muestra. En este caso, una sola adición de  $V_s$  ml de patrón se añadiría a una de

las dos muestras. 
$$C_x = \frac{A_1 C_s V_s}{(A_2 - A_1) V_x}$$

**Análisis de mezclas de sustancias absorbentes.** La absorbancia total de una solución a una longitud de onda dada, es igual a la suma de las absorbancias de los componentes individuales en la solución.

$$A_m = A_1 + A_2 + A_3 + \dots = \epsilon_1 b c_1 + \epsilon_2 b c_2 + \epsilon_3 b c_3 + \dots$$

Esta relación hace posible en principio determinar las concentraciones de los constituyentes individuales de una mezcla, incluso si su espectro se superpone por completo. Considérese el caso de una solución

que contiene una mezcla de la de la especie M y N, la cual tiene espectros que no presentan una longitud de onda en la cual la absorbancia de esta mezcla se deba exclusivamente a uno de los componentes. Para analizar la mezcla, primero se determina la absorptividad molar para M y N a longitudes de onda  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  con concentraciones suficientes de las dos soluciones patrón para estar seguros de que se cumple con la ley de Beer en un intervalo de absorbancia que abarque la absorbancia de la muestra. Estas dos longitudes de onda se seleccionan de manera que las absorptividades molares de los componentes difieren de manera importante. Por consiguiente, a  $\lambda_1$ , la absorptividad molar del componente M es mucho mayor que la del componente N. Lo inverso se cumple para  $\lambda_2$ . Para terminar el análisis, la absorbancia de la muestra se determina a las mismas dos longitudes de onda. A partir de las absorptividades molares conocidas y la longitud de la trayectoria, se cumplen las siguientes ecuaciones:

$$A_1 = \varepsilon_{M_1}bc_M + \varepsilon_{N_1}bc_N$$

$$A_2 = \varepsilon_{M_2}bc_M + \varepsilon_{N_2}bc_N$$

donde el subíndice 1 indica medición a la longitud de onda  $\lambda_1$ , y el subíndice 2 quiere decir medición a la longitud de onda  $\lambda_2$ . Con los valores conocidos de  $\varepsilon$  y  $b$  se pueden conocer las incógnitas  $C_M$  y  $C_N$ . Las relaciones son válidas sólo si se cumple la ley de Beer en ambas longitudes de onda y los dos constituyentes se comportan de manera independiente uno del otro. La exactitud mayor se obtiene al elegir longitudes de onda a las cuales las diferencias en absorptividades molares son grandes.

## Titulaciones fotométricas y espectrofotométricas

Las mediciones fotométricas o espectrofotométricas son útiles para localizar el punto de equivalencia de una titulación, siempre que el analito, el reactivo o el producto de la titulación absorban radiación. Otra posibilidad es que un indicador absorbente proporcione el cambio de absorbancia necesario para localizar el punto de equivalencia.

Una curva de titulación o valoración fotométrica es una representación gráfica de la absorbancia, corregida por los cambios de volumen, en función del volumen del titulante. En muchas titulaciones, la curva consta de dos regiones lineales con diferentes pendiente: una tiene lugar al principio de la titulación y la otra se localiza más allá de la zona del punto de equivalencia. El punto final es la intersección de las porciones lineales extrapoladas de la curva.

Con el fin de obtener curvas de titulación con parte lineales que se puedan extrapolar, los sistemas absorbentes deben apegarse a la ley de Beer. Además, las absorbancias deben corregirse por los cambios de volumen, multiplicando la absorbancia observada por  $(V + v)/V$ , donde  $V$  es el volumen original de la solución y  $v$  es el volumen de titulante añadido. En muchos métodos se usan sólo los cambios en la absorbancia para localizar los puntos finales mediante varias técnicas. Con esto, no es necesario el cumplimiento riguroso de la ley de Beer.

Instrumentación. Por lo regular, las titulaciones fotométricas se llevan a cabo con un espectrofotómetro o un fotómetro modificado de tal modo que el recipiente de titulación esté estacionario en la trayectoria de la luz. Como opción se puede utilizar una celda tipo sonda.

Después de establecer los parámetros del instrumento a una longitud de onda conveniente, o de que se inserta un filtro aceptable, se efectúa de la manera usual el ajuste de 0% de T. Se deja pasar la radiación a través de la solución que contiene el analito hacia el transductor y el instrumento se ajusta a una lectura de absorbancia adecuada variando la intensidad de la fuente o la sensibilidad del transductor. Por lo general, es innecesario medir la verdadera absorbancia, porque los valores relativos son perfectamente válidos cuando el objetivo es detectar el punto final. Los datos de la titulación sin modificar el ajuste del instrumento. La potencia de la fuente de radiación y la respuesta del transductor deben ser constantes durante la titulación fotométrica. Es importante evitar cualquier movimiento de la celda para que la longitud de la trayectoria siga siendo constante.

Para las titulaciones fotométricas se usan tanto fotómetros de filtro como espectrofotómetros. Varias compañías que fabrican instrumentos producen en la actualidad equipos fotométricos para titulaciones.

Aplicaciones. Con frecuencia, las titulaciones fotométricas proporcionan resultados más exactos que el análisis fotométrico directo porque para determinar el punto final se usan los datos procedentes de varias mediciones. Además, la presencia de otras especies absorbentes puede no interferir, ya que sólo nos interesa un cambio en la absorbancia y no su valor.

Los puntos finales que se obtienen a partir de las curvas de titulación fotométrica en un segmento lineal poseen la ventaja de que los datos experimentales se toman bastante lejos de la región del punto de equivalencia, donde la absorbancia cambia de manera gradual. Por consiguiente, la constante de equilibrio de la reacción no requiere ser tan grande como la que se necesita para una curva de titulación sigmoidea que depende de observaciones cercanas al punto de equivalencia (por ejemplo, puntos finales obtenidos con un potenciómetro o con un indicador). Por la misma razón, se pueden titular soluciones más diluidas mediante detección fotométrica.