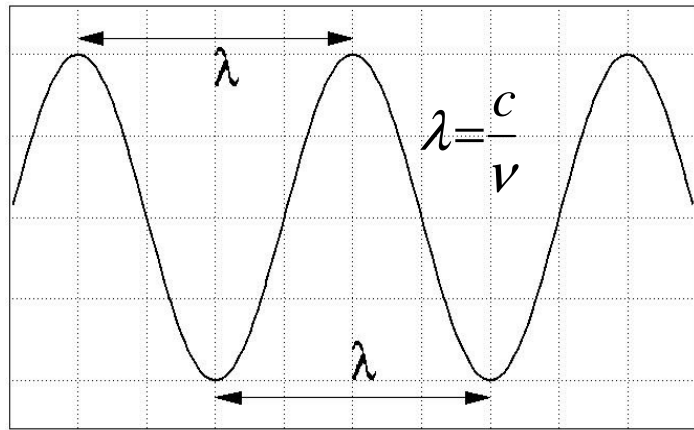


Anexo I: ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

Conceptos previos

Radiación electromagnética: es la propagación de energía a través del espacio sin soporte de materia, es decir, a través de *ondas* producidas por la oscilación o aceleración de una *carga eléctrica (dualidad onda-partícula)*.

Naturaleza ondulatoria: caracterizada por su frecuencia (ν) o longitud de onda (λ).

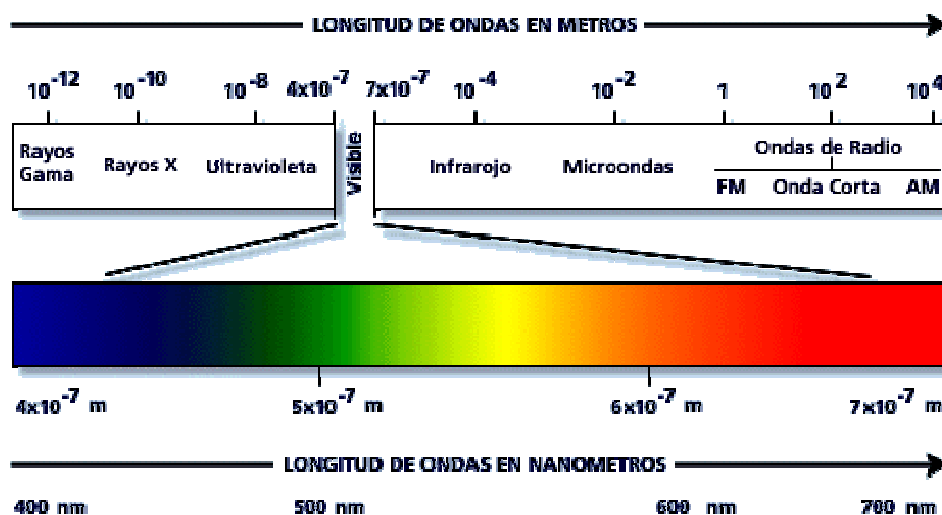


ν = número de ondas que pasan por un punto en la unidad de tiempo.

λ = distancia que hay entre dos puntos iguales de la onda, máximos, mínimos, etc.

Naturaleza corpuscular, partícula: formada por fotones con energía (E) $E = h \cdot \nu$, donde h es la constante de Planck.

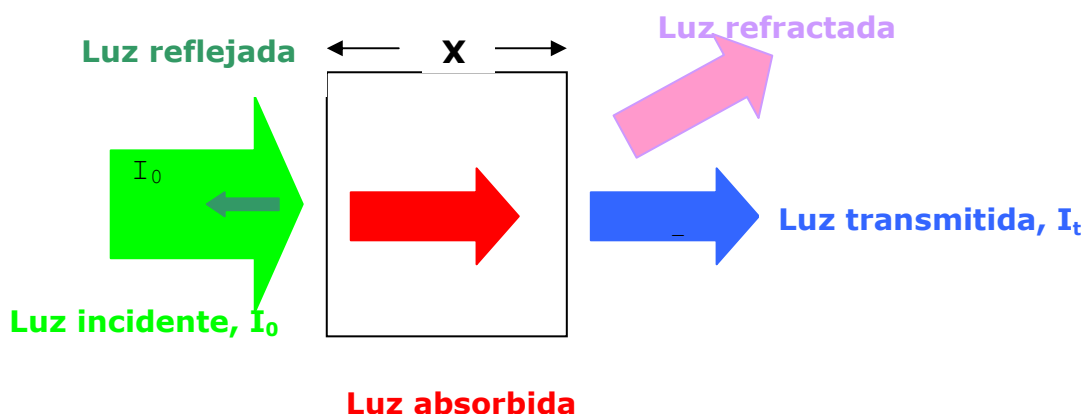
La radiación electromagnética se puede ordenar en un espectro que se extiende desde ondas de frecuencias muy elevadas ([longitudes de onda](#) pequeñas; rayos gamma) hasta frecuencias muy bajas (longitudes de onda altas; ondas de radio). La luz UV-visible es sólo una pequeña parte del espectro electromagnético, visible (780-380nm); UV (380-200nm).



Esta radiación puede ser emitida por sustancias bajo condiciones de gran excitación, como por ejemplo, altas temperaturas o descargas eléctricas. La

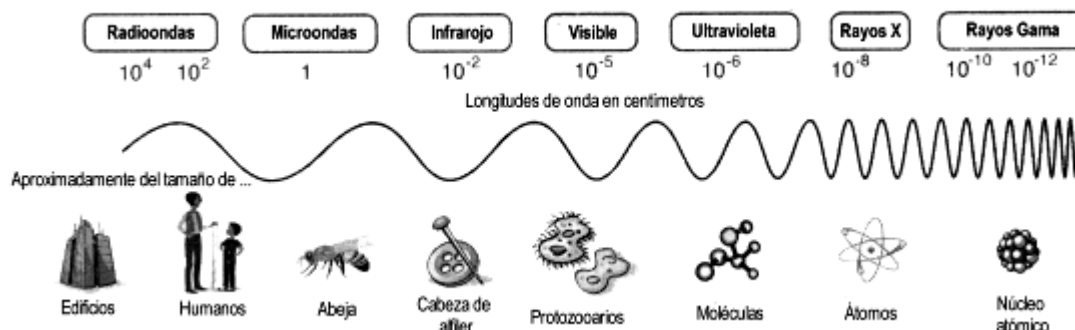
radiación electromagnética **al incidir** sobre la materia puede sufrir los siguientes procesos:

1. **Absorción**
2. **Transmisión**
3. **Reflexión**
4. **Refracción**
5. **Dispersión**



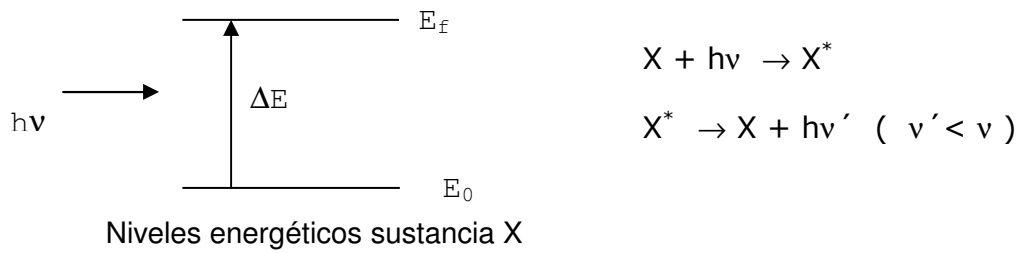
Espectroscopia UV-Visible

Para que la radiación electromagnética incidente, interaccione con la materia tiene que tener una λ del mismo tamaño o menor que las dimensiones del cuerpo irradiado. Es por ello que la radiación de la región del ultravioleta ($\approx 1-400$ nm) nos permite obtener información de las transiciones electrónicas de las moléculas.



La espectroscopia UV-Vis se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente.

Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia: átomo, molécula o ión, X, pasando esta al estado excitado, X^* , el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra.



$$\Delta E = E_f - E_0 = h\nu$$

ΔE es característico de cada sustancia, lo que nos proporciona un análisis cualitativo de un analito en una muestra. Además la cantidad de E absorbida o transmitida es proporcional a la concentración de X con lo que también podemos hacer un análisis cuantitativo.

La proporcionalidad ente intensidad de luz absorbida o transmitida y la concentración de analito viene definida por la ley de Lambert-Beer.

LEY DE LAMBERT-BEER

Es el resumen de dos leyes que nos permiten relacionar la fracción de radiación absorbida con la concentración del analito y el espesor del medio. Se cumple para cualquier proceso de absorción en cualquier zona del espectro y se basa en que cada unidad de longitud a través de la cual pasa la radiación absorbe la misma fracción de radiación.

Si tenemos un haz de luz monocromática, " I_0 ", que pasa a través de un material de espesor, " l ", la disminución de la intensidad de luz transmitida, " I_t ", será proporcional al camino recorrido y a la concentración de la sustancia absorbente, " c ".

$$I = I_0 e^{-\epsilon.l.c}$$

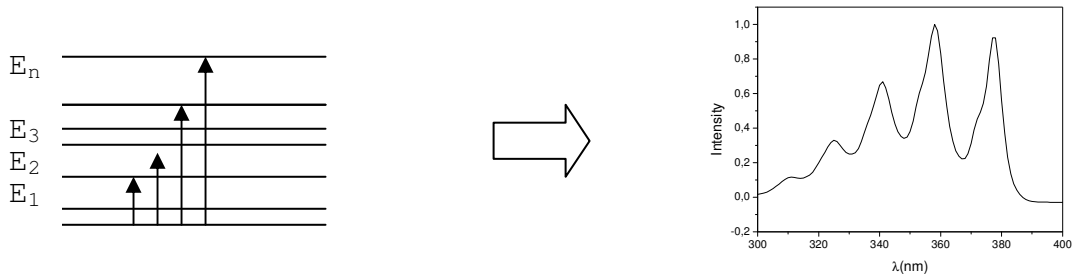
El factor de proporcionalidad, " ϵ ", se denomina absortividad molar y está relacionado con la probabilidad de absorción de radiación por parte de la sustancia en análisis.

Tomando logaritmos y reorganizando la ecuación tenemos:

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon l c$$

donde " $\log I_0/I$ " se denomina absorbancia (A).

Si tenemos una sustancia cualquiera, X, que absorbe en el rango ultravioleta visible, debido a su configuración electrónica no lo hará a una única energía sino que podrá absorber en un rango de energías con distinta eficiencia en cada una de ellas, esto da lugar al espectro de absorción de esta sustancia que indica la intensidad de luz absorbida de cada longitud de onda o energía.

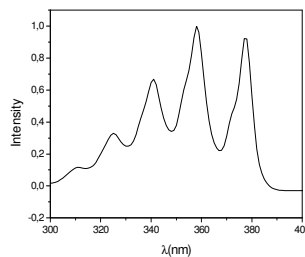
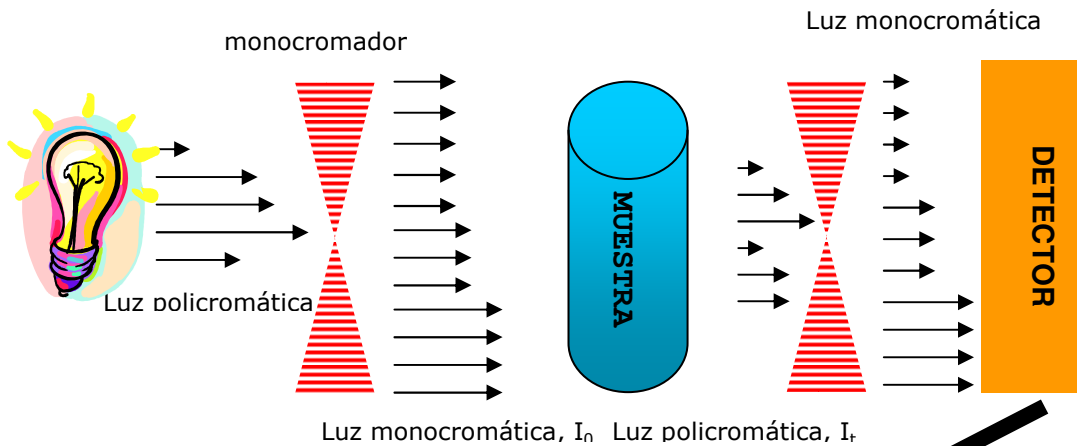


Cada sustancia tiene un espectro de absorción característico que dependerá de la configuración electrónica de la molécula, átomo o ión y de los posibles tránsitos electrónicos que se puedan producir con la radiación que incide sobre ella.

ESPECTOFOTÓMETRO

Es el equipo que utilizamos para medir la absorción o transmisión de luz por parte de una muestra. Consta de los siguientes partes:

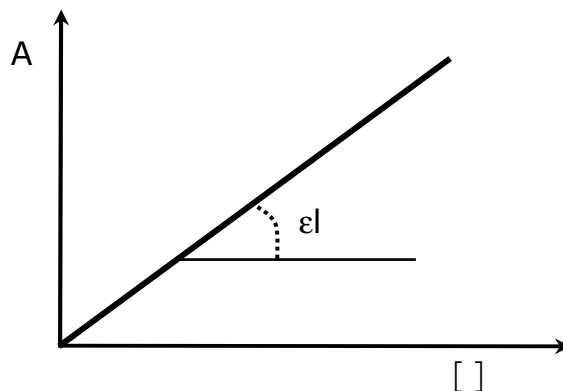
- Fuente de luz: suele ser una lámpara que emite una luz (por incandescencia de un filamento) policromática, es decir que contiene distintas longitudes de onda con distintas intensidades, I_0 .
- Sistema óptico: a través de filtros, lentes y redes de difracción se focaliza el haz de luz y se selecciona una longitud de onda fija.
- Compartimiento muestra: es donde se coloca la muestra, con un espesor conocido, normalmente disuelta y en una cubeta de 1cm de paso óptico, sobre la que se hace incidir el haz de luz monocromática
- Sistema óptico: recibe la luz transmitida por la muestra, la focaliza y selecciona por longitudes de onda
- Detector: recibe la señal de la intensidad de la luz transmitida a cada longitud de onda y la transforma en señal eléctrica que un ordenador pueda procesar.



Para realizar un espectro de una muestra determinada se conecta la fuente de luz que como ya hemos dicho emite luz policromática, a través del sistema óptico voy irradiando la muestra con luz en un intervalo de λ y detectando cuanta de esa luz incidente I_0 , es transmitida, I , por la muestra a cada λ .

Recta de calibrado

Seleccionando la longitud de onda máxima a la que absorbe mi sustancia y utilizando unas muestras patrón, de concentración conocida puedo obtener los datos de absorbancia frente a concentración, A vs $[]$, que debidamente representados dan lugar una recta (Ec. Lambert-Beer) de calibrado. A través de una recta de calibrado este método nos sirve como análisis cuantitativo de una sustancia determinada.



Para una muestra de concentración desconocida tan solo hay que medir su absorbancia a la longitud de onda del máximo y extrapolar en la curva de calibrado el valor de la concentración.

DETERMINACIÓN DE LA ABSORBANCIA

Pasos a efectuar al inicio de la sesión por el profesor responsable.

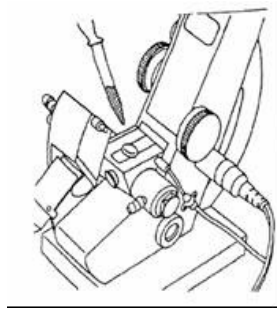
1. Se efectúa el "background" del equipo poniendo sendas cubetas de metacrilato llenas de agua del grifo, tanto en el compartimiento de muestra como en el de referencia.
2. Se aprieta la tecla "MODE" "Modification parameters" "YES", "Nº" "1" "611" "←"
3. Autozero.
4. Se retira la cubeta de la cámara de muestra, pudiéndose realizar las medidas a continuación.

Pasos a efectuar por los alumnos con cada medida.

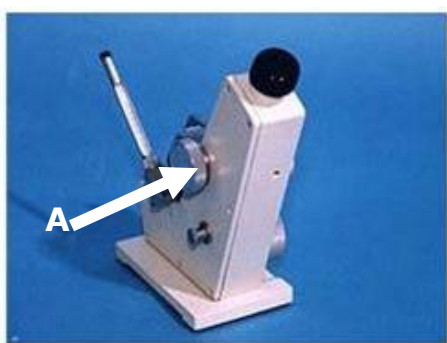
5. Cada vez que los alumnos vayan a realizar una medida deberán introducir la cubeta de agua en la cámara de muestra, apretando la tecla de "Autozero" a continuación. Posteriormente retirarán dicha cubeta sustituyéndola por la de su muestra, tomando como absorbancia la medida que les suministra la pantalla.

Anexo II: MANEJO REFRACTÓMETRO

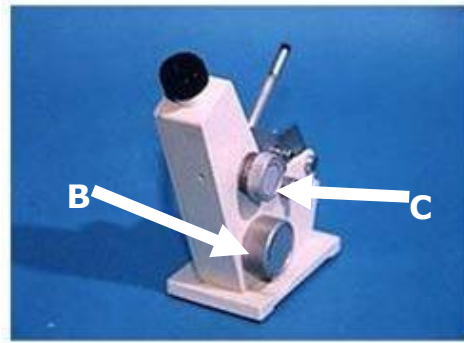
1. Se colocan unas gotas del líquido a medir encima del cristal del portamuestras.



2. Se cierra el portamuestras con la rueda de la izquierda (rueda A).
3. Se ajusta con la rueda inferior derecha (rueda B) hasta que se observe



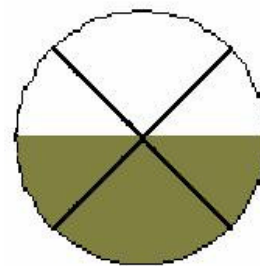
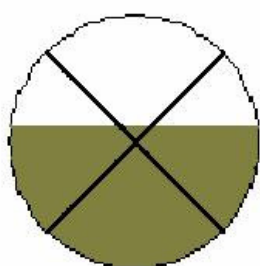
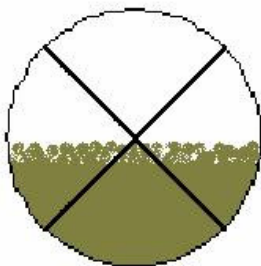
a)



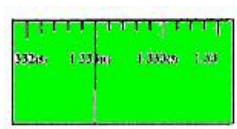
b)

c)

una zona clara y otra oscura en el visor circular del objetivo (imagen a)



4. Se ajusta con la rueda superior derecha (rueda C) hasta que la línea de separación claro/oscura se aprecie nítidamente (imagen b).
5. Se ajusta de nuevo con la rueda B hasta que la línea clara/oscura se sitúe en el centro del visor circular (imagen c). Una vez centrado, se lee en la escala verde inferior al valor de índice de refracción.
6. Una vez efectuada la medida se elimina el líquido del cristal portamuestras con un algodón.

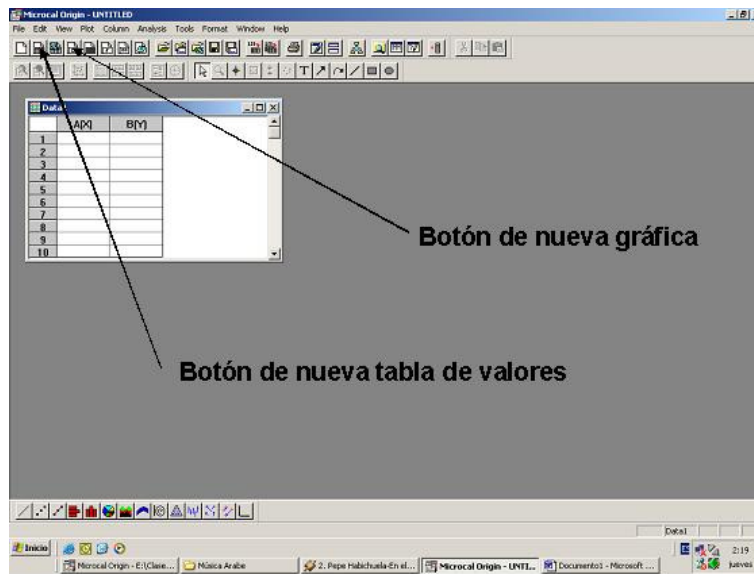


Anexo III: Manual de uso de Origin 6.0®

Pinchar en el icono Origin6.0® que aparece en el escritorio de Windows.

Nada más entrar en la aplicación Origin6.0®, nos aparecerá una ventana llamada Data1 que nos permitirá introducir los valores a representar en las columnas A(X) y B(Y). Para añadir nuevas columnas pinchamos en la tabla de datos y en **Column**, se desplegará un menú en que elegiremos **Add New Columns** indicando el nº de columnas que queremos añadir y **OK**. Para operar seleccionaremos una columna y en el menú **Column**, **Set Column Values** operando en la ventana abierta –ej. $\ln(1/\text{column}(b))$ – indicando de que casilla a que otra queremos que realice el cálculo (“for row **X** to **Y**”).

Figura 1



Para representar los datos en una gráfica es necesario abrirla haciendo **Click** con el botón izquierdo en el icono de **New Graph** según la **Figura 1** o en **Plot**, **Scater** seleccionando que columna queremos que sean las “x” –la pasamos a la parte derecha de la ventana con el botón **=>**- y cual la “y”. Si queremos representar otro conjunto de valores tendremos que crear una nueva tabla que recibirá el nombre de “Data2” o seguir añadiendo columnas en la ya existente. En caso de tener seleccionada una columna en la tabla de datos –como se aprecia en la figura 2 con la columna B(Y)- será esta la que se represente en ordenadas y la columna A(X) en abscisas.

Si queremos representar más curvas en una misma gráfica será necesario hacer **Click** con el botón izquierdo en el número **1** que aparece en la parte superior izquierda de esta ventana según **Figura 2**. Después de esto se desplegará otra ventana que nos permitirá hacer la asignación de datos a representar. Para ello se hace clic en “Data1_b” y después en el botón **=>** (**Figura 2**). Inmediatamente aparecerá en el otro lado de la ventana la tabla de datos a representar “Data1_b”. Llegados a este punto se hará **Click** en **OK** para aceptar.

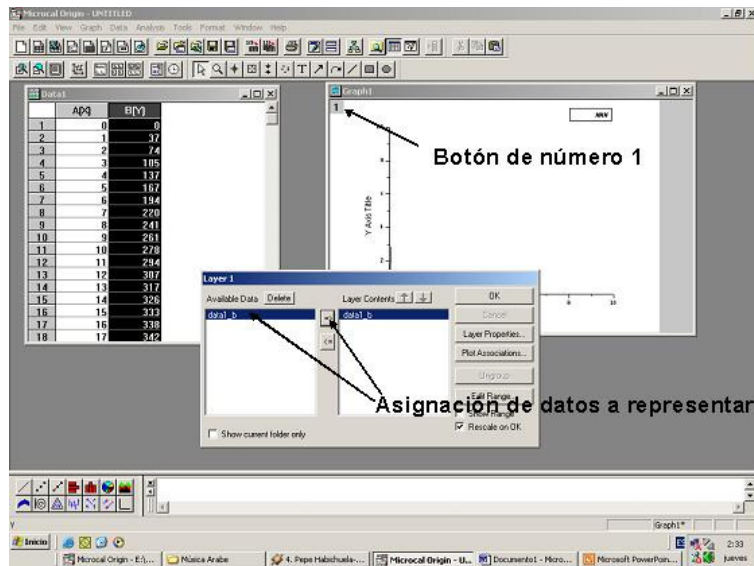


Figura 2

En caso de que queramos modificar el tipo de representación (línea continua, puntos, etc.) situaremos la flecha del ratón sobre la línea de la gráfica y se hará **Clic** dos veces consecutivas con el botón izquierdo (**Figura 3**). Se desplegará otra ventana en la que se nos permitirá cambiar de **Line** a **Scatter** (**Figura 3**) y aceptaremos con **OK**. Para efectuar cambios en los ejes se actúa de manera análoga situándose sobre el eje y haciendo **Clic** dos veces con el botón izquierdo y seleccionando de entre las posibilidades que nos indica la nueva ventana que se abre –podemos cambiar casi todo, aspecto, orientación, límites, etc.-.

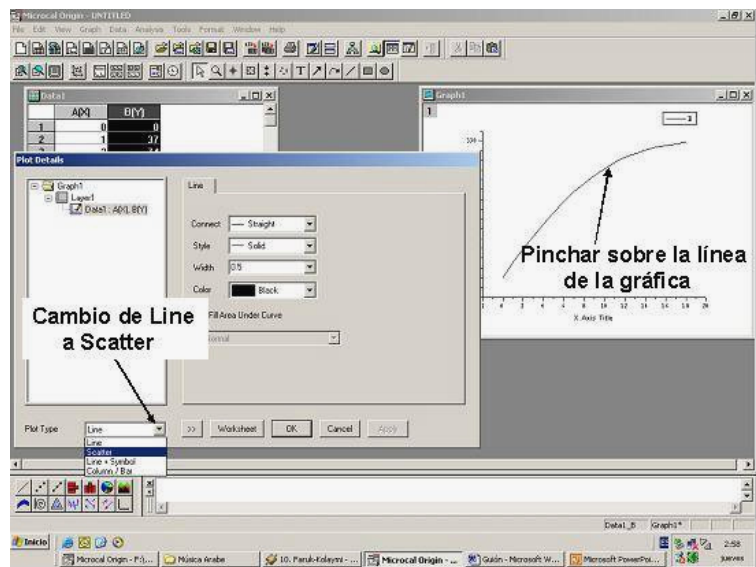


Figura 3

Una vez que tenemos los datos de la forma en la que nos interesa pasaremos a la realización de un ajuste de éstos a una función dada. Para ello debemos pinchar con el ratón en la grafica en la que deseamos realizar el ajuste y a continuación pinchar en la opción **Analysis** que aparece en el menú superior (**Figura 4**). En ese momento se desplegará una ventana en cuya mitad inferior se nos presentan diferentes tipos de funciones a las que podemos ajustar nuestros datos (véase **Fit Linear**, **Fit Polynomial**, **Fit**

Gaussian, etc). Al elegir cualquiera de ellas aparecerá una ventana (**Result Log**) en la que se nos expone la expresión matemática ($F(x)$) a la que se han ajustado los datos, los parámetros a ajustar en dicha expresión, la incertidumbre de éstos y los parámetros " R^2 " y " χ^2 " que nos dan una idea cuantitativa de la bondad del ajuste. A su vez, en la gráfica aparecerá dibujada la curva que ha sido calculada (**Figura 4**). Si algunos puntos no se ajustan debidamente –sobre todo al principio y fin de la toma de datos- podremos no tomarlos en cuenta a la hora del cálculo del ajuste sin más que modificar los límites de la regresión; para ello haremos **Clic** sobre el icono desplazando con el "ratón" los límites hasta donde deseemos, efectuando el resto de los pasos para el ajuste como se ha indicado anteriormente.

En caso de que queramos eliminar una curva de una gráfica será necesario hacer **Clic** con el botón izquierdo en el número **1** que aparece en la parte superior izquierda de esta ventana según **Figura 2**. Después de esto se desplegará otra ventana que nos permitirá eliminar la asignación de datos a representar. Para ello se hace clic en el botón **<=** (**Figura 2**). Inmediatamente aparecerá en el otro lado de la ventana el nombre de la columna que hemos eliminado del gráfico, si además queremos eliminarla del todo pincharemos en **Delete** y los datos se eliminarán definitivamente.

Figura 4

