

Laboratorio Química Analítica II

(Grado Química)

Lorenzo Sanjuan Navarro

Departamento Química Analítica

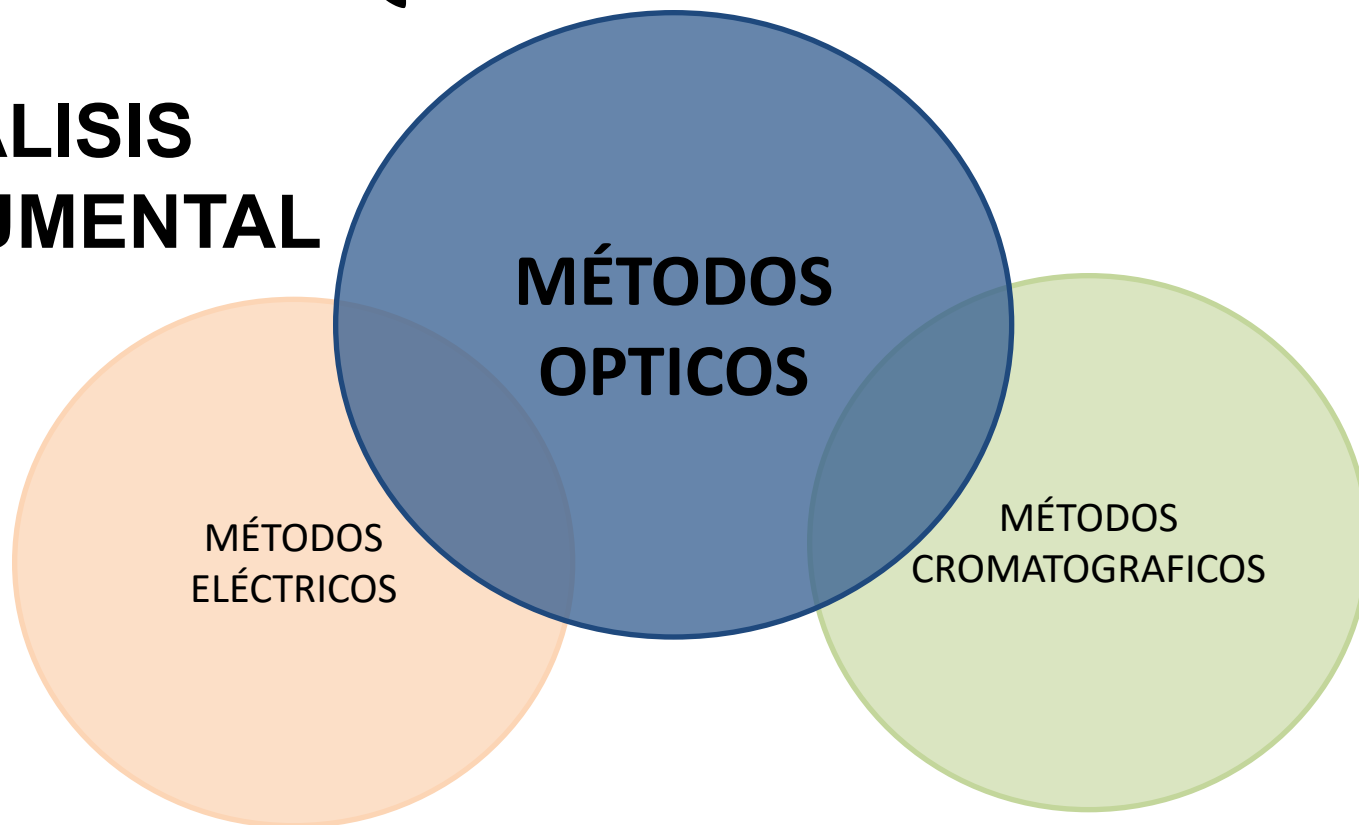
Correo: lorenzo.sanjuan@uv.es

Tutorías: enviar correo



Laboratorio Química Analítica II

ANÁLISIS INSTRUMENTAL



Estudio de variables experimentales (variables instrumentales)



Mejora de procedimientos existentes

MÉTODO DE ANÁLISIS

*Miniaturización de técnicas
Empleo de nuevos (nano)materiales
Desarrollo de sistemas de medida in-situ
....*

SEMINARIO

MÉTODOS ÓPTICOS

Práctica 1: Determinación de cafeína y paracetamol en productos farmacéuticos mediante espectroscopia derivada y regresión lineal múltiple.

Práctica 2: Optimización de variables en fluorescencia molecular.
Determinación de quinina en agua tónica.

Práctica 3: Análisis de leche condensada. Determinación polarimétrica de sacarosa.

Práctica 4: Análisis de leche. Determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica en llama.

Práctica 5: Determinación de litio mediante espectroscopia de emisión atómica con llama.

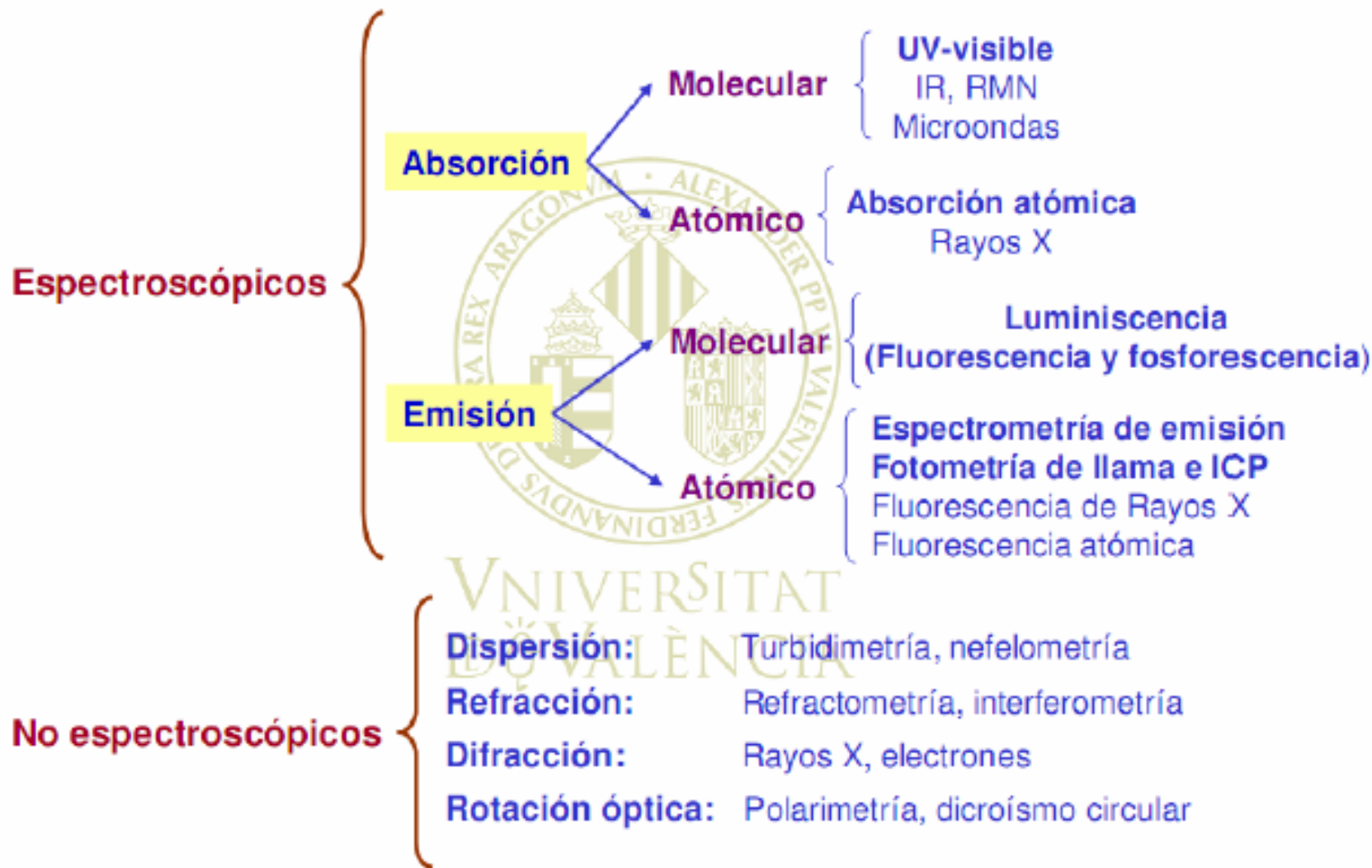
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

Los métodos ópticos son un conjunto de métodos instrumentales que están basados en la medida de una radiación electromagnética que interacciona con la muestra o que proviene de la muestra.

Métodos espectroscópicos: están basados en medidas de la intensidad y longitud de onda de la radiación electromagnética que interacciona o que se produce debido a la muestra.

Métodos no espectroscópicos: están basados en el cambio de dirección o de las propiedades físicas de la radiación electromagnética que interacciona con la muestra.

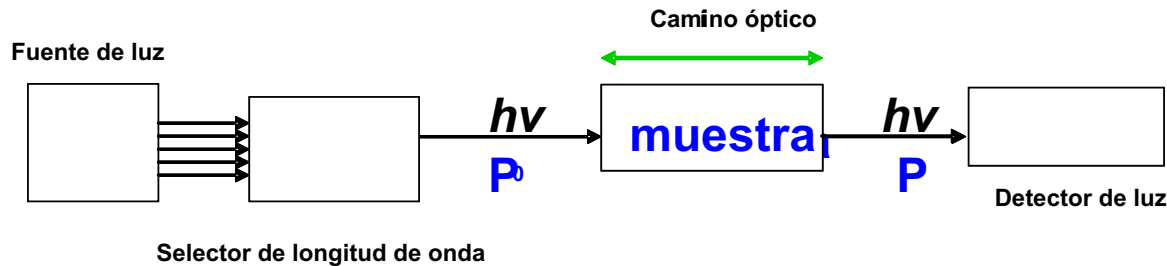
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

- **FUNDAMENTO:** Técnica basada en la medida de la cantidad de energía absorbida cuando se hace pasar a través de una muestra una radiación correspondiente a la zona UV-Vis del espectro (160-780 nm).
- La absorción de la radiación implica el paso de la molécula a estados excitados de los electrones de las capas más externas.



P: potencia, irradiancia, o intensidad de radiación

P_0 es la energía por segundo y unidad de área del haz que llega a la muestra

P es la energía por segundo y unidad de área después de pasar por la muestra

T: transmitancia, es la fracción de luz que pasa a través de la muestra

A: absorbancia

$$A = -\log T = \log\left(\frac{P_0}{P}\right)$$

$$T = \frac{P}{P_0}$$

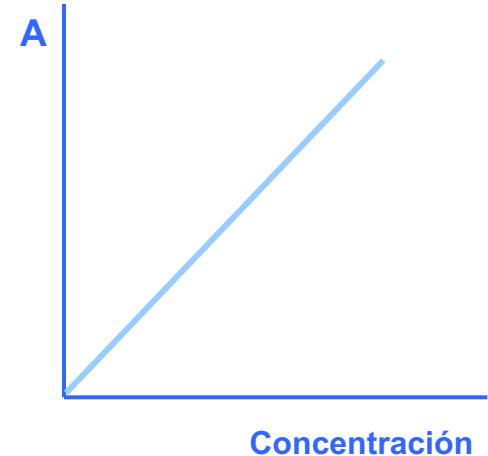
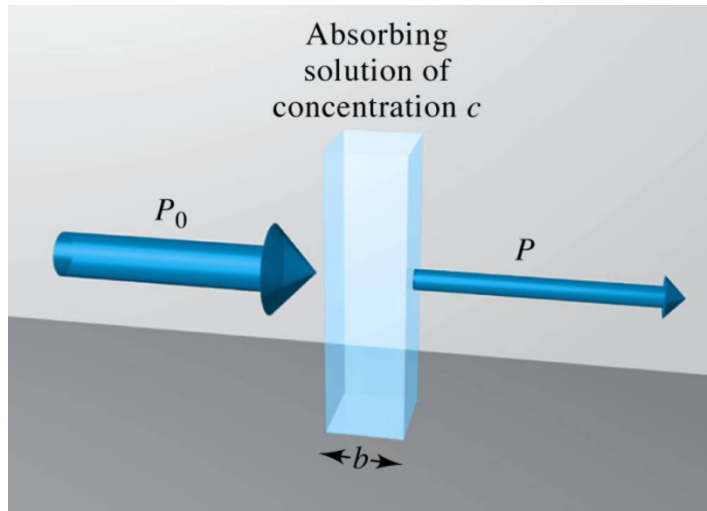
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

La absorción de fotones por un medio absorbente se rige por la Ley de Beer

Ley de Beer

$$A = \epsilon b c$$



A - absorbancia de una disolución (adimensional)

b - camino óptico, longitud de la trayectoria del eje a través de la disolución

ϵ - absorptividad molar a la longitud de onda de trabajo ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$); característica de cada especie absorbente y de la longitud de onda

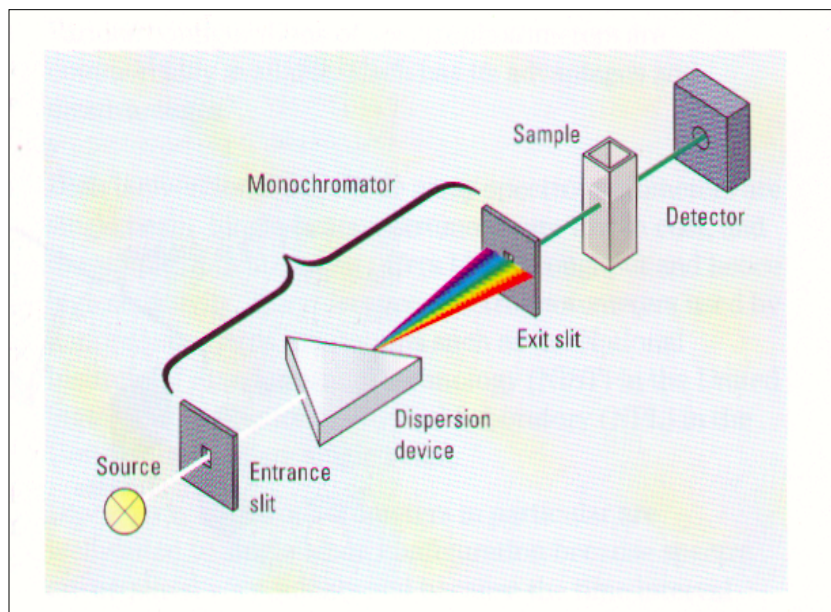
c - concentración de la especie absorbente

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Espectrofotómetros de haz simple

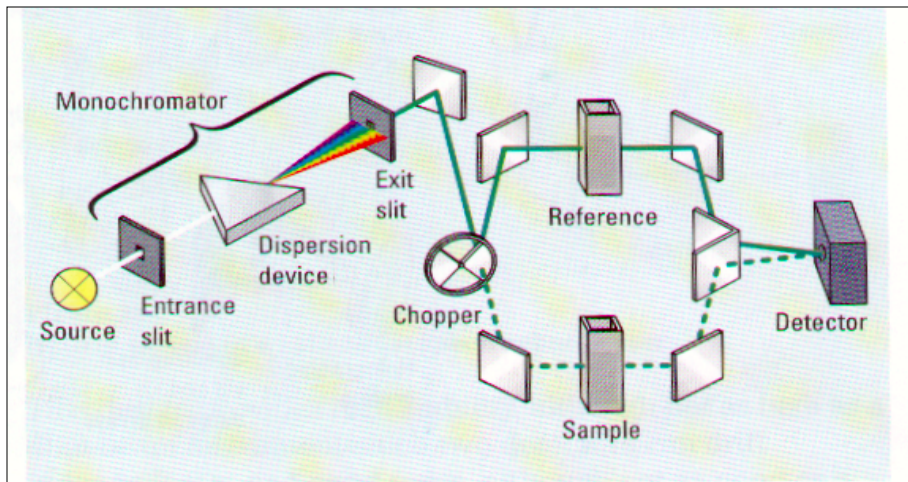
Trabaja con una único haz de radiación. En primer lugar se mide la absorbancia del blanco y a continuación las muestras (a las cuales se les resta automáticamente la señal del blanco)



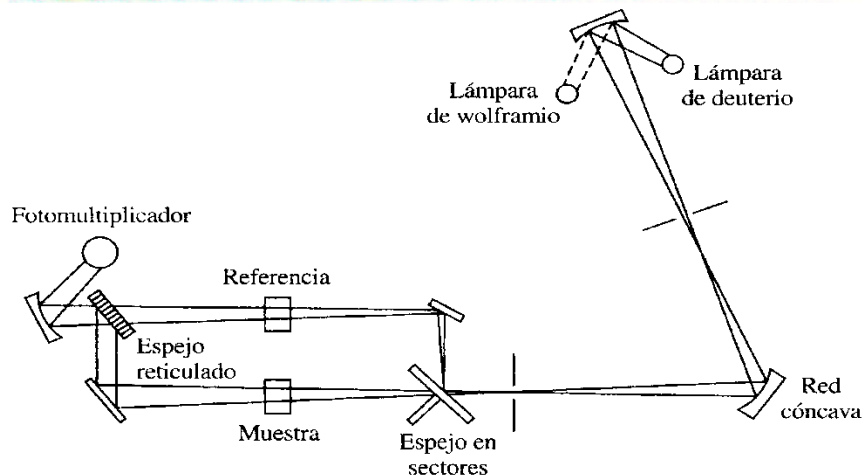
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Espectrofotómetros de doble haz



Esta configuración permite una corrección automática de los cambios de intensidad de la fuente y de respuesta del detector con el tiempo y longitud de onda, ya que la potencia que emerge desde las cubetas se compara continuamente.

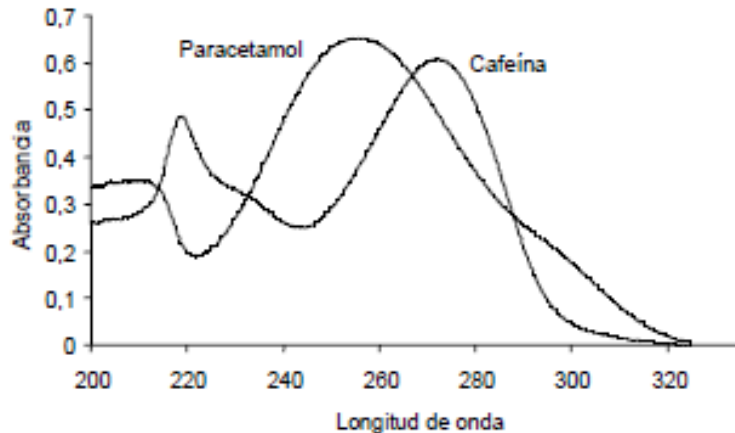


Compartimentos para las dos cubetas

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Práctica 1: Determinación de cafeína y paracetamol en productos farmacéuticos mediante espectroscopia derivada y regresión lineal múltiple



SOLAPAMIENTO DE BANDAS



REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE

ESPECTROSCOPIA DERIVADA

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Práctica 1: Determinación de cafeína y paracetamol en productos farmacéuticos mediante espectroscopia derivada y regresión lineal múltiple

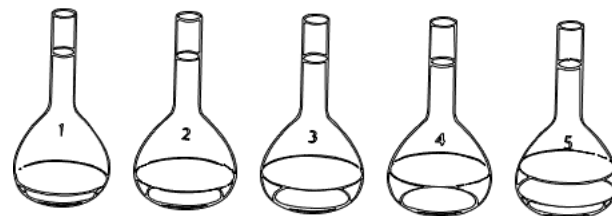
Suponiendo aditividad de las señales:

$$A_{\lambda_1} = (\varepsilon_P)_{\lambda_1} \cdot b \cdot C_P + (\varepsilon_C)_{\lambda_1} \cdot b \cdot C_C$$

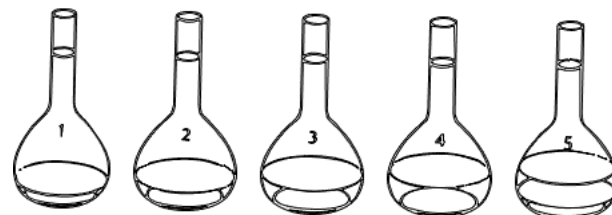
Pendientes de las
rectas de
calibrado

$$A_{\lambda_2} = (\varepsilon_P)_{\lambda_2} \cdot b \cdot C_P + (\varepsilon_C)_{\lambda_2} \cdot b \cdot C_C$$

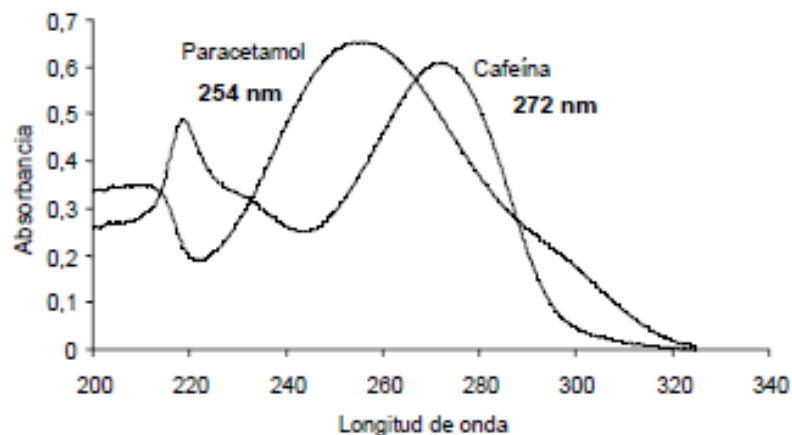
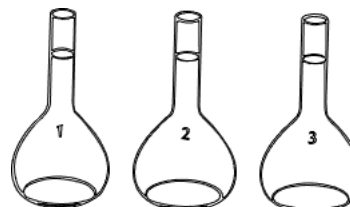
Calibrado analito M



Calibrado analito N



Muestras



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

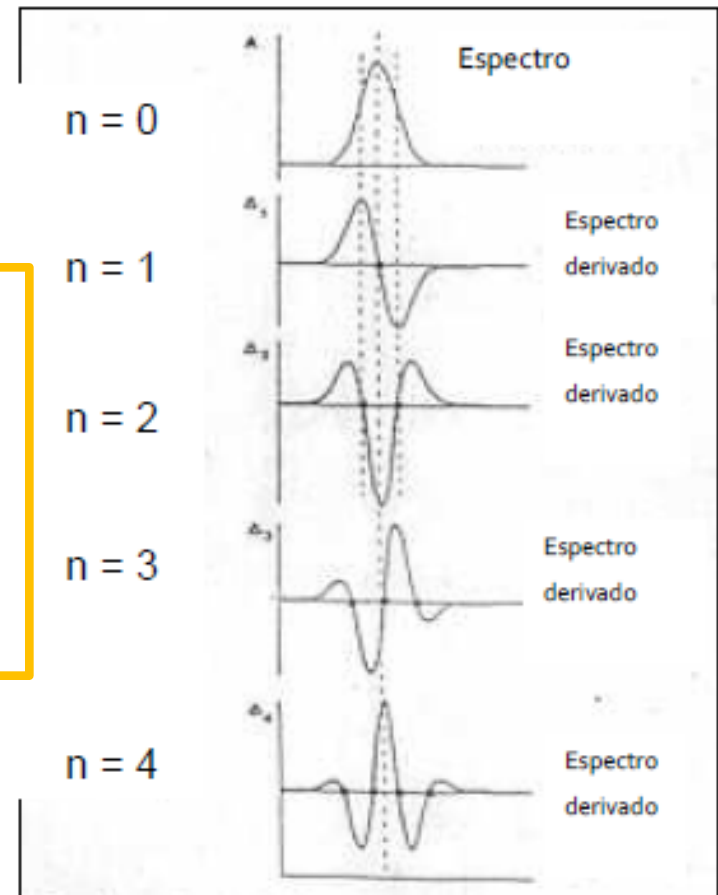
Práctica 1: Determinación de cafeína y paracetamol en productos farmacéuticos mediante espectroscopia derivada y regresión lineal múltiple

Espectroscopia derivada

➤ Mezcla de analitos: se supone constituida por un analito y un interferente

➤ A longitud de onda de anulación de la cafeína:
- obtención de las señales derivadas del paracetamol
- construcción del correspondiente calibrado
- obtención de la concentración de paracetamol mediante interpolación

➤ A la longitud de onda de anulación del paracetamol: procedemos de igual modo

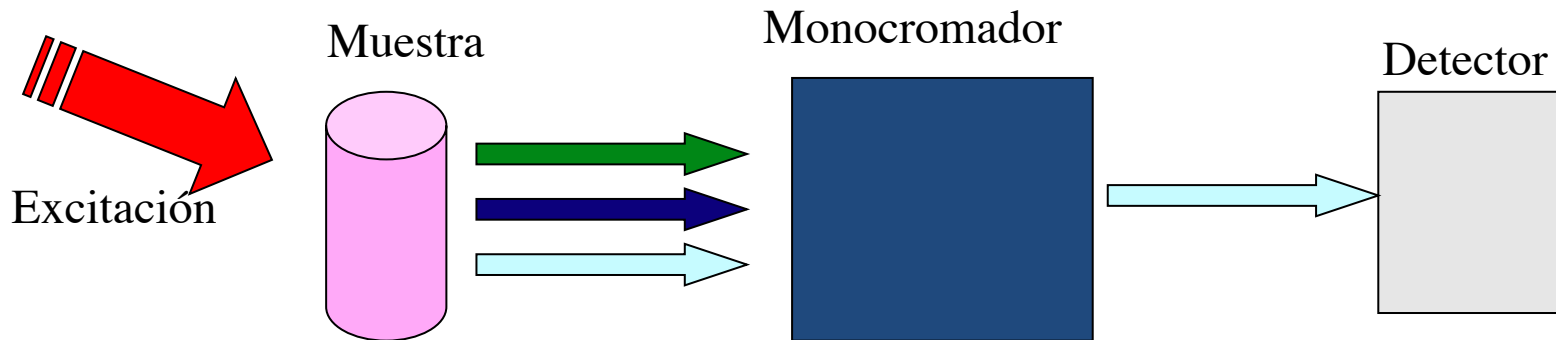


MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR

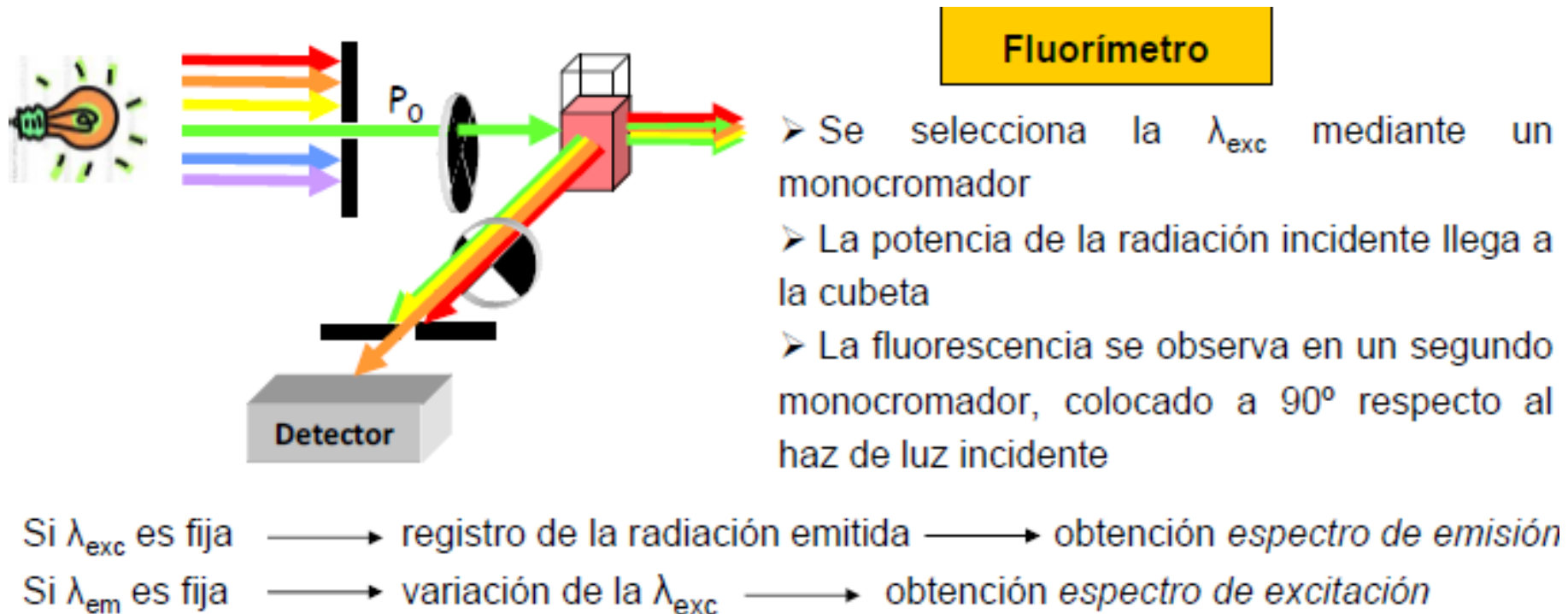
○ FUNDAMENTO

La **fluorescencia** es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones.



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

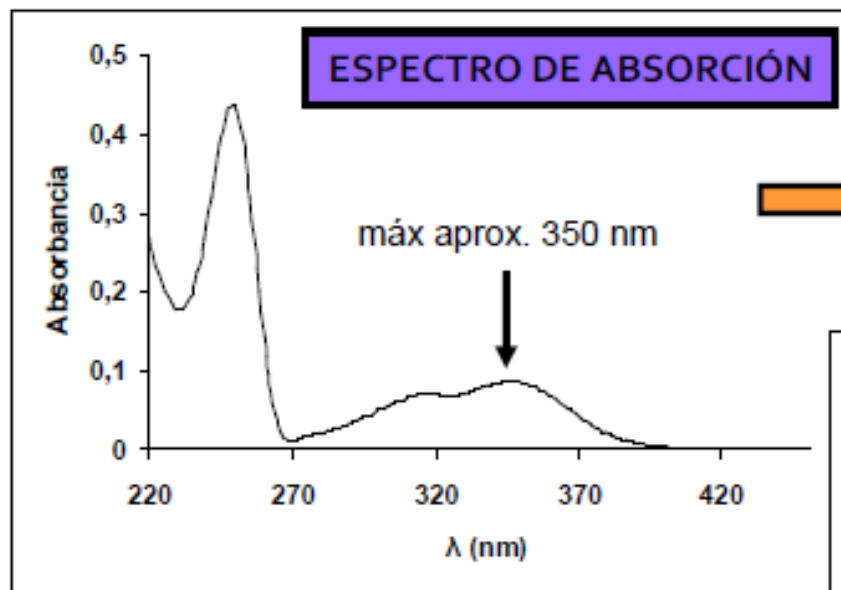
ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR



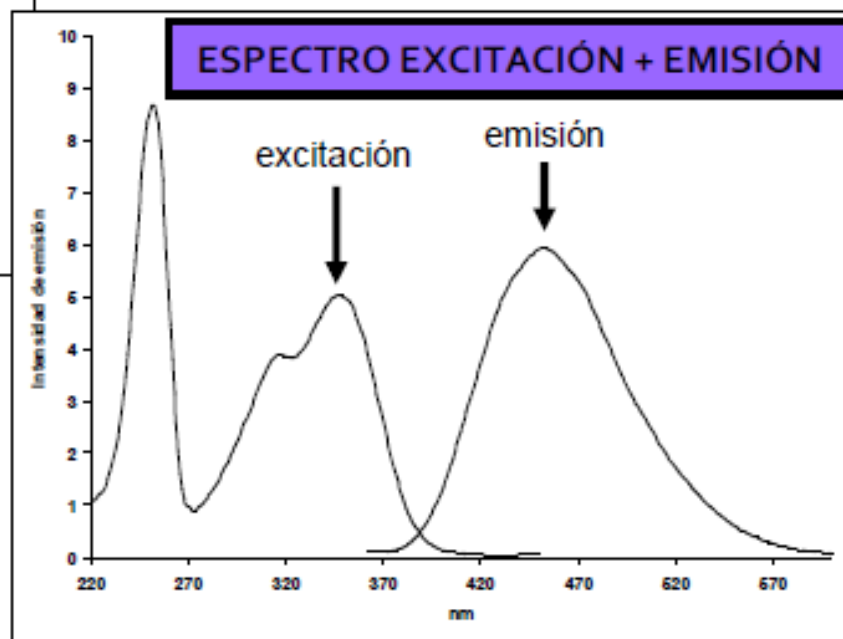
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR

Práctica 2: Fluorescencia molecular: Determinación de quinina



1) Obtención del espectro de emisión: uso el máximo de absorción (350 nm) como λ_{exc} $\longrightarrow$ obtención de λ de máxima emisión



2) Obtención del espectro de excitación: uso de la λ de máxima emisión $\longrightarrow$ obtención de λ de máxima excitación

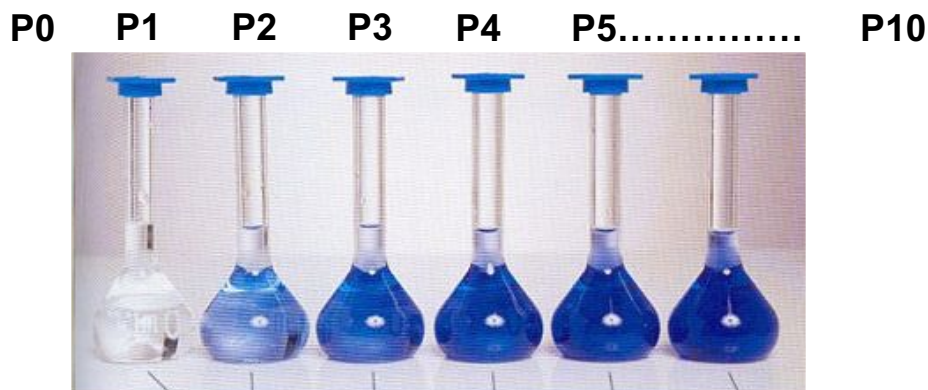
Intensidad de emisión vs conc quinina

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR

Práctica 2: Fluorescencia molecular: Determinación de quinina

Estudio de la linealidad



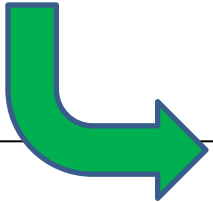
Establecer los LOD y LOQs

ANÁLISIS DE MUESTRA: agua tónica (50-100 ppm de quinina)

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

POLARIMETRIA

POLARIMETRÍA: Técnica basada en la medida de la rotación de la luz cuando esta se hace incidir sobre sustancias ópticamente activas



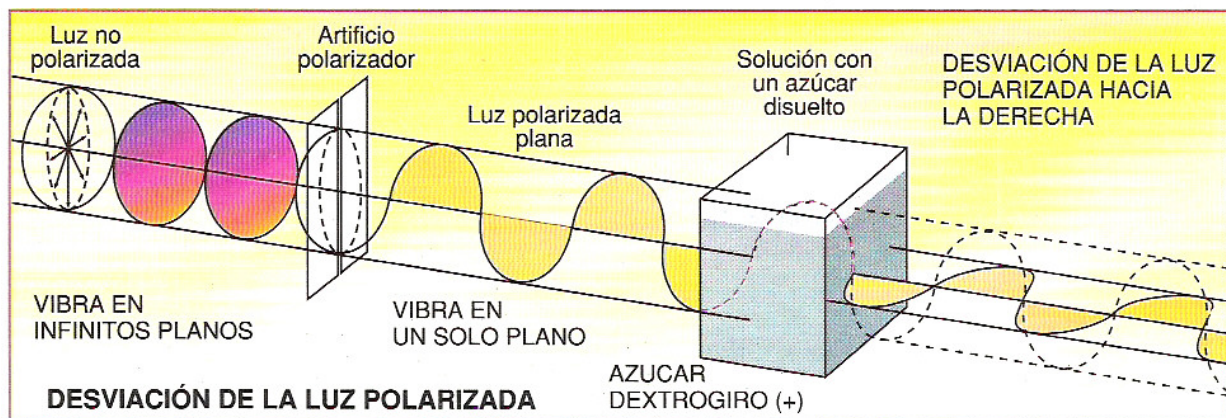
La luz polarizada se hace pasar a través de un polarizador que obliga a las ondas electromagnéticas a que vibren en un plano.

Cuando la luz polarizada en un plano pasa a través de una sustancia ópticamente activa, el plano de polarización cambia en un ángulo que es característico de dicha sustancia.

Los polarímetros miden la posición del plano y la comparan con la posición original, calculando la diferencia existente, denominada rotación.

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

POLARIMETRIA



La rotación óptica se debe a la asimetría molecular

Poder rotatorio
(ángulo rotación)

$$P = [\alpha]_d^T dc \quad \left\{ \begin{array}{l} [\alpha] = \text{poder rotatorio específico de la sustancia} \\ d = \text{paso óptico} \\ C = \text{concentración} \end{array} \right.$$

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

POLARIMETRIA

Práctica 3: Análisis de leche condensada. Determinación de sacarosa

Muestra leche condensada

- Sacarosa (SAC)
- Lactosa (LAC): azúcar natural de la leche
- Glucosa + fructosa (azúcar invertido) (SUIN): provienen de la hidrólisis natural de la SAC

Tratamiento de la muestra

- Necesidad de obtener un líquido claro y transparente luego:
 - Precipitación o coagulación de las proteínas y otras sustancias presentes
 - Aceleración de la mutarrotación de la lactosa → adición de amoníaco
-  fenómeno que provoca variaciones en el poder rotatorio

En el líquido del filtrado se encuentran los azúcares

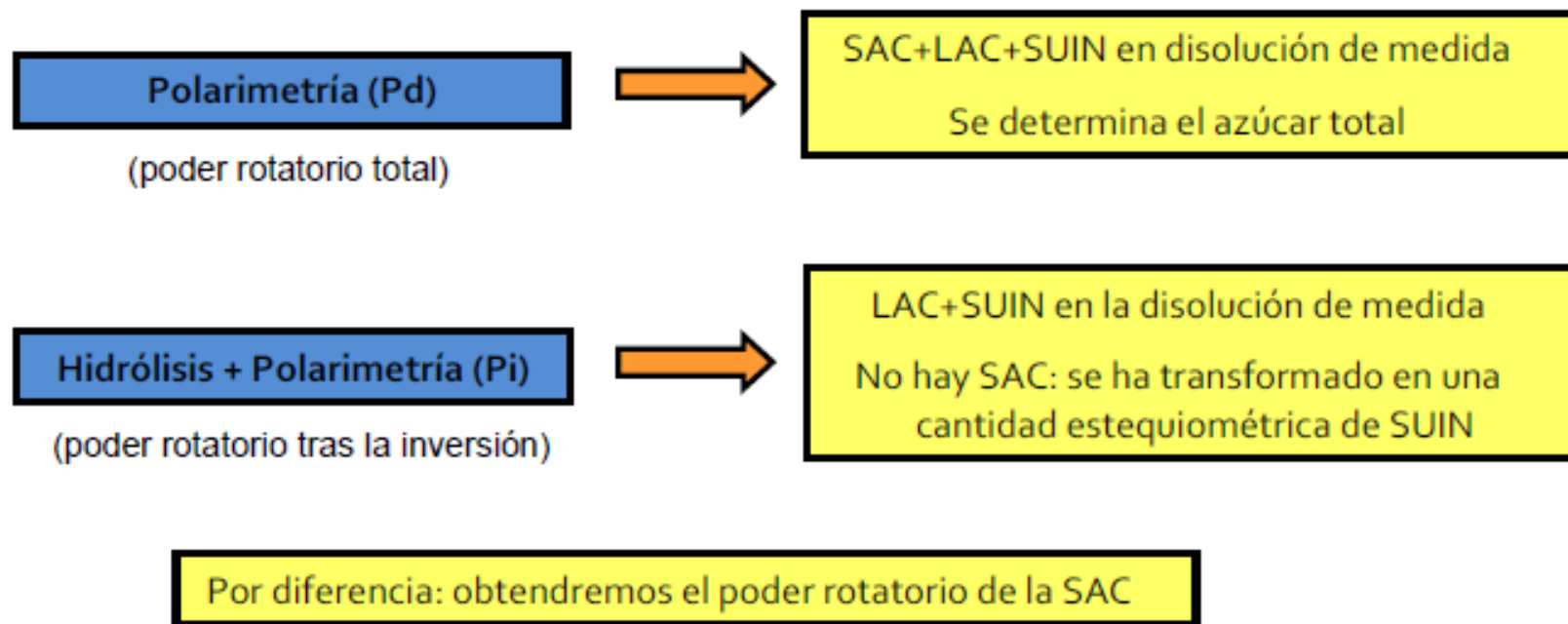
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

POLARIMETRÍA

Práctica 3: Análisis de leche condensada. Determinación de sacarosa

Determinación polarimétrica de la sacarosa

- Se basa en el método de Clerget o de doble polarización (ver guión laboratorio)



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

POLARIMETRIA

Práctica 3: Análisis de leche condensada. Determinación de sacarosa

FÓRMULA DE
CLERGET

$$P = [\alpha]_D^T dc$$

$$P_D = 0.665 m \cdot d \cdot x/V + 0.525 m \cdot d \cdot y/V - 0.202 m \cdot d \cdot z/V$$

$$P_I = 1.053 (-0.202) m \cdot d \cdot x/V + 0.525 m \cdot d \cdot y/V - 0.202 m \cdot d \cdot z/V$$

$$\text{Sacarosa}(\%) = \frac{(V - \Delta V)(P_D - f \cdot P_I)}{0.878 d \cdot m}$$

$$\Delta V = \frac{m}{100} (1.08 G + 1.55 P)$$

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

FUNDAMENTO: Conjunto de técnicas basadas en la medida de la radiación absorbida o emitida por átomos o iones elementales.

La energía de las transiciones implicadas corresponde a las regiones del Rayos X o UV-vis del espectro

La obtención de información sobre transiciones electrónicas de átomos e iones elementales en la región UV-vis implica la conversión de los analitos en vapor atómico, a este proceso se le llama **atomización**. En el caso de los rayos X no es necesaria la atomización, ya que la respuesta es independiente de la forma en la que se encuentre el analito.

La atomización requiere un calentamiento de la muestra a temperatura elevadas (2000-8000 K). Hay diversas formas de conseguir la atomización, por ejemplo introducir la muestra en una llama, en un horno calentado eléctricamente o en un plasma.

Según se produzca la atomización: **LLAMA**

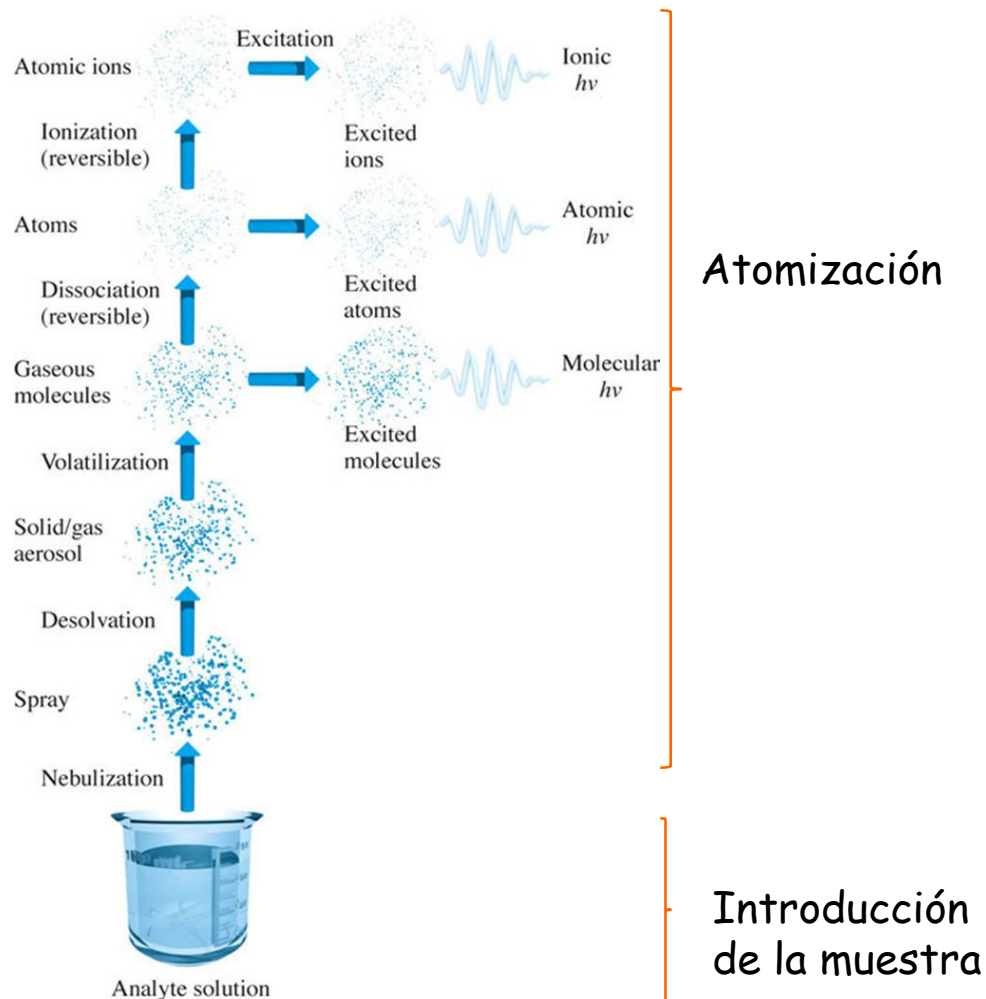
Según el fenómeno implicado en la medida: **ABSORCIÓN Y EMISION**

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ATOMIZACIÓN EN LLAMA

La muestra se introduce en la llama por aspiración de un tubo capilar, donde se produce la atomización.

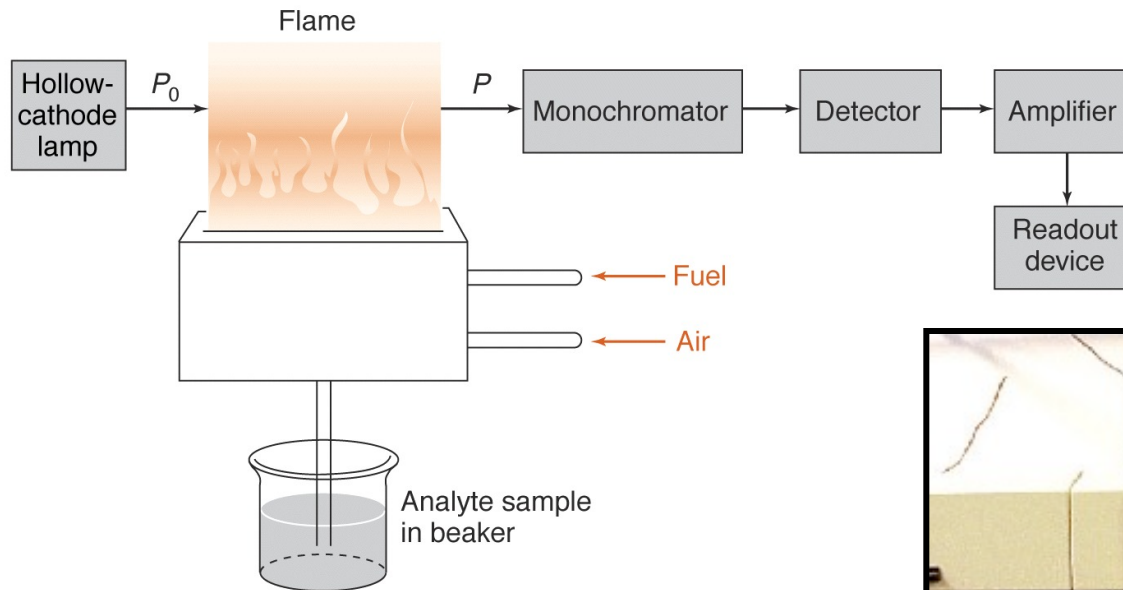
Procesos que se producen en la llama



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Se basa en la medida de la absorbancia, propiedad que puede relacionarse con la concentración de átomos de analito mediante la ley de Beer.



$$A = -\log T = \log\left(\frac{P_0}{P}\right)$$

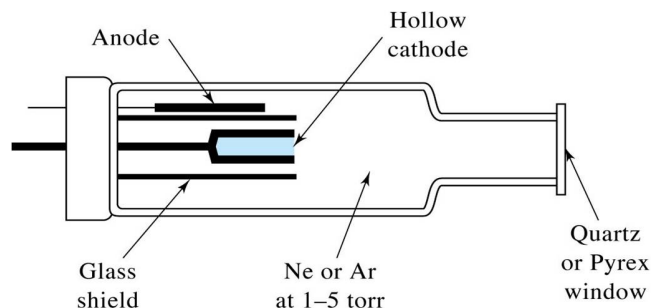
$$A = k C$$



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

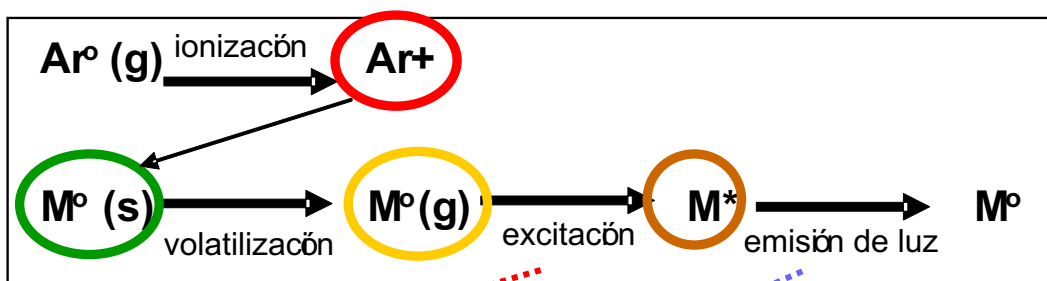
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Lámparas de cátodo hueco

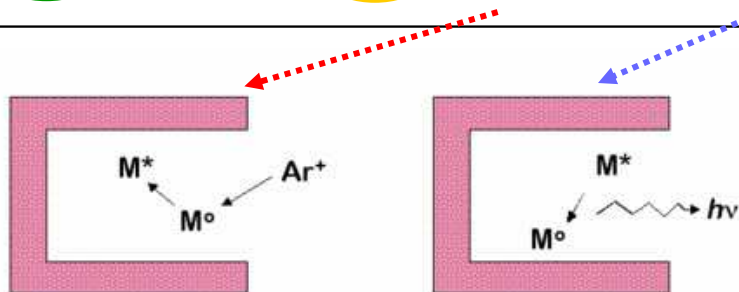


La lámpara contiene un gas noble Ar a baja presión. Consta de un ánodo de W y un cátodo cilíndrico del mismo elemento que se quiere analizar.

Al conectar la lámpara se produce una corriente que ioniza el Ar. Los iones de Ar acelerados bombardean el cátodo y volatilizan los átomos de metal que se excitan y emiten luz.



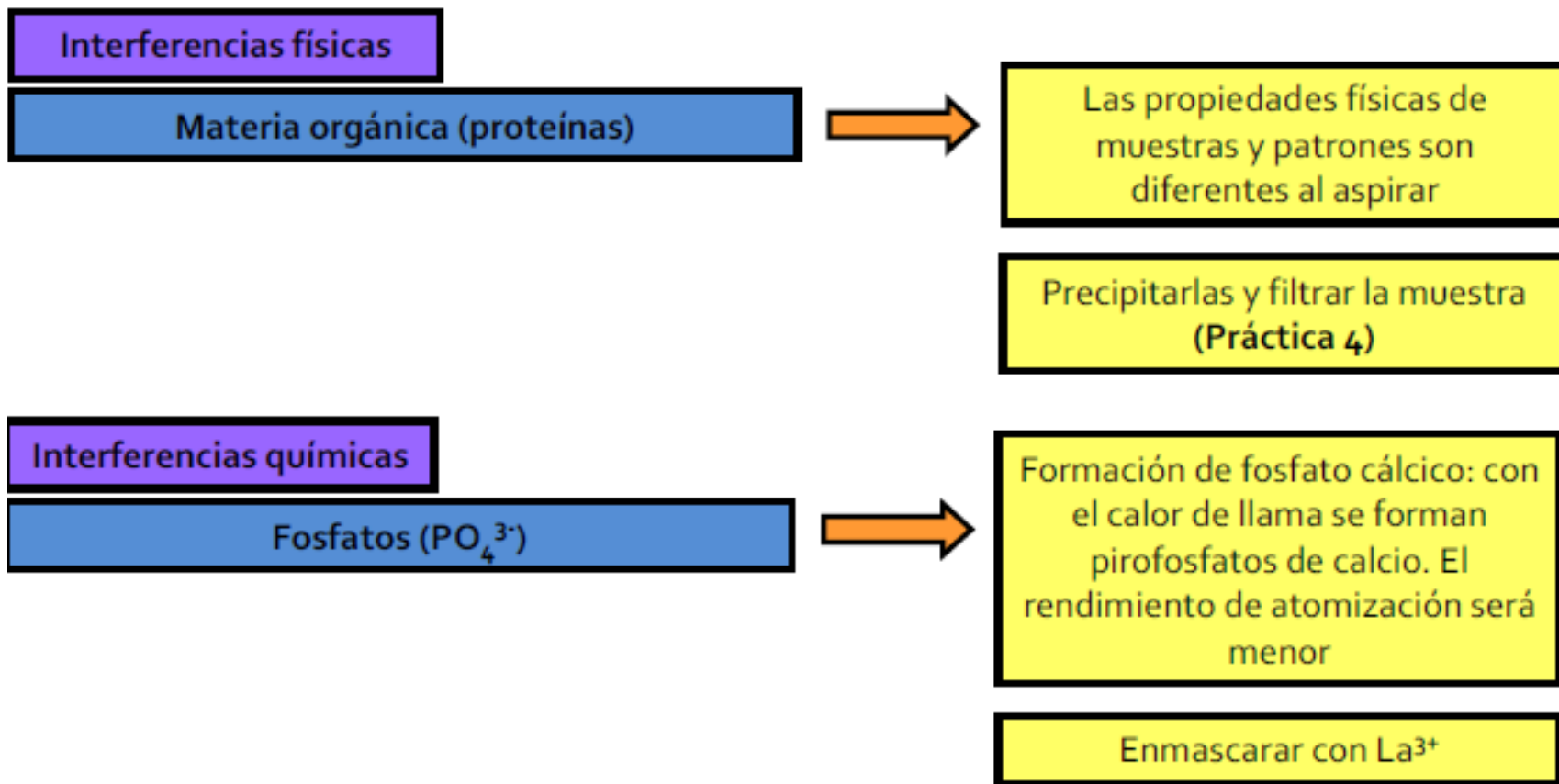
La intensidad de la fuente es una variable a optimizar por el operador.



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Práctica 4: Determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

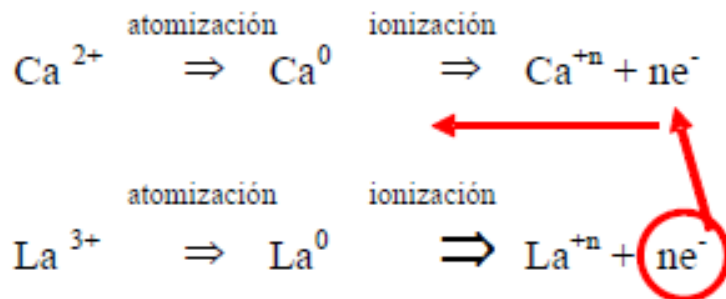
Práctica 4: Determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica

Interferencias de
ionización

Iones de calcio

Una fracción de los átomos de
calcio se pueden ionizar en la
llama

Añadir La^{3+} . El La^0 Se ioniza más
fácilmente que el Ca^0



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Práctica 4: Determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica

CALIBRADO ADICIÓN DE PATRÓN

- Preparación de un patrón de Ca a partir de CaCO_3 (50 ppm)
- Intervalo lineal: 0-10 ppm. Preparar los patrones de 1-5 ppm

Preparación

- 1 mL muestra
- Volúmenes conocidos patrón Ca 50 ppm
- La (III) 0.1%
- Enrasar con Agua

CALIBRADO CONVENCIONAL

- Preparar los patrones de 1-10 ppm, en presencia de La (III) 0.1 %.
(enrasar con agua)

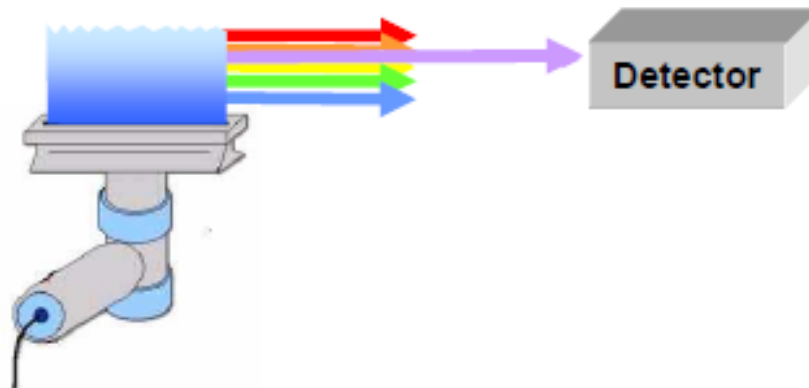
MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Emisión:

No se usan lámparas de cátodo hueco ya que:

- se producen colisiones de los átomos en la llama, debido a su alta temperatura
- estos átomos se elevan a estados electrónicos excitados, desde donde emiten fotones espontáneamente al volver a su estado fundamental
- la intensidad de emisión producida es proporcional a la concentración de analito



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

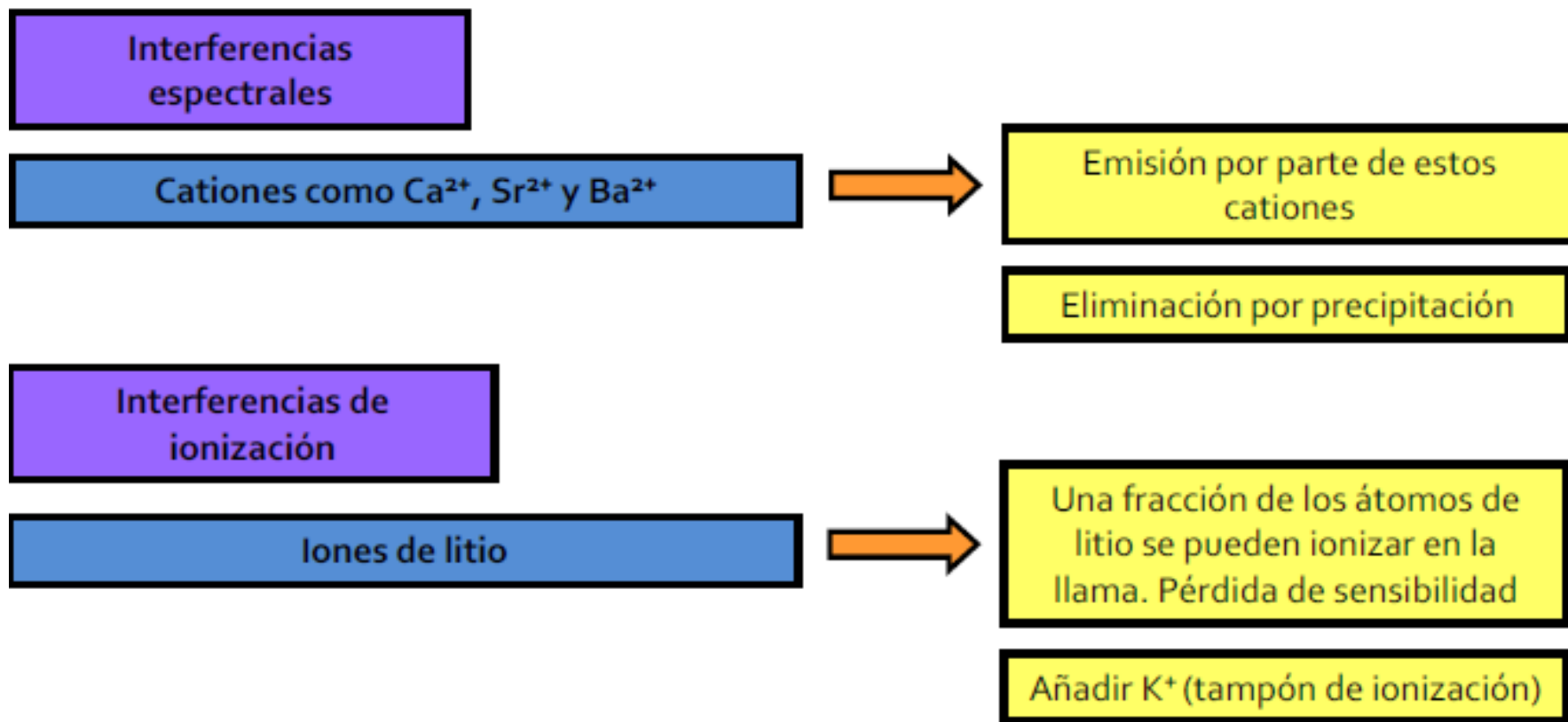
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

INSTRUMENTACION	AA llama	EA llama
Aspiración	SI	SI
Nebulización	SI	SI
Volatilización, secado, atomización	SI (llama)	SI (llama)
Fuente de radiación	SI (lámpara)	NO (calor)
Obturador giratorio	SI	NO
Monocromador	SI	SI
Detector (fotomultiplicador)	SI	SI

MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Práctica 5: Determinación de litio en aguas: Estudio de las variables que afectan a la señal analítica



MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Práctica 5: Determinación de litio en aguas: Estudio de las variables que afectan a la señal analítica

Estudio de interferentes: Ca, Ba, Sr.

Todas las disoluciones en presencia de K^+

También deben contener litio 1 ppm o 0.2 ppm

Calibración externa

Necesidad de adición de disolución precipitante ($Na_2SO_4 + Na_2CO_3$)

Volúmenes crecientes de litio 2.5 ppm

