

Análisis Instrumental



Prentice
Hall

Kenneth A. Rubinson
Judith F. Rubinson

Análisis instrumental

Kenneth A. RUBINSON
Judith F. RUBINSON

Traducción:

Luis Larrauri Ros

Revisión técnica:

Yolanda Madrid Albarrán

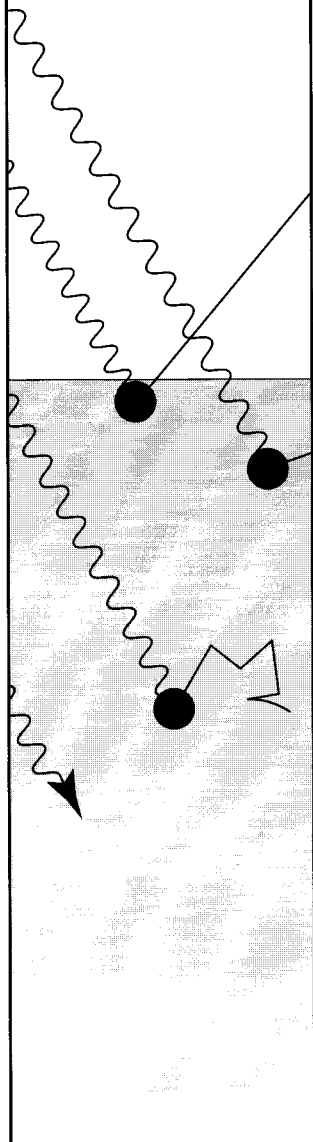
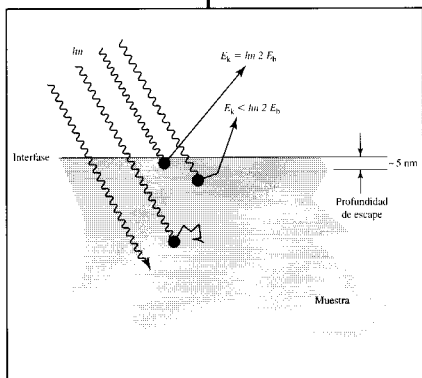
Dpto. de Química Analítica

Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Complutense de Madrid

Prentice
Hall

Madrid • México • Santafé de Bogotá • Buenos Aires • Caracas • Lima • Montevideo • San Juan
San José • Santiago • São Paulo • White Plains



Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson
ANÁLISIS INSTRUMENTAL
PEARSON EDUCACIÓN, S. A., Madrid, 2001

ISBN: 84-205-2988-5
Materia: Química analítica, 593

Formato 195 × 250

Páginas: 872

Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson
ANÁLISIS INSTRUMENTAL

No está permitida la reproducción total o parcial de esta obra ni su tratamiento o transmisión por cualquier medio o método sin autorización escrita de la Editorial.

DERECHOS RESERVADOS

© 2001 respecto a la primera edición en español por:
PEARSON EDUCACIÓN, S. A.
Núñez de Balboa, 120
28006 Madrid

ISBN: 84-205-2988-5

Depósito legal: M. 36.381-2000

PRENTICE HALL es un sello editorial de PEARSON EDUCACIÓN, S. A.

Traducido de:

CONTEMPORARY INSTRUMENTAL ANALYSIS

© 2000 Prentice-Hall, Inc.

ISBN: 0-13-790726-5

Edición en español:

Editor: Isabel Capella

Asistente editorial: Ana Isabel García

Diseño de cubierta: Mario Guindel y Yann Boix

Composición: COPIBOOK, S.L.

Impreso por: FARESO, S. A.

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN

Constantes físicas

Término	Símbolo	Valor*	Factores de multiplicación y unidades
Número de Avogadro	N_A	6,022 136 7(36)	$\times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
Carga del electrón	e	1,602 177 33(49)	$\times 10^{-19} \text{ Culombio}$
Masa del electrón en reposo	m_e	9,109 389 7(54)	$\times 10^{-28} \text{ g}$
		5,485 799 03(13)	$\times 10^{-4} u$
Unidad de masa atómica†	u	1,660 540 2(10)	$\times 10^{-24} \text{ g}$
Constante de los gases	R	8,314 510(70)	$\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
			$\text{V C mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
			$\times 10^7 \text{ erg mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
		8,205 784(68)	$\times 10^{-5} \text{ m}^3 \text{ atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
			$\times 10^{-2} \text{ L atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
		1,987 21 (2)	$\text{cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
Constante de Faraday ($= N_A e$)	\mathcal{F}	9,648 530 9(29)	$\times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$
Constante de Boltzmann ($= R/N_A$)	k_B	1,380 658(12)	$\times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$
			$\times 10^{-16} \text{ erg K}^{-1}$
Constante de Planck	h	6,626 075 5(40)	$\times 10^{-34} \text{ J s}$
			$\times 10^{-27} \text{ erg s}$
Masa del protón en reposo	m_p	1,672 623 1(10)	$\times 10^{-24} \text{ g}$
		1,007 276 470(12)	u
Magnetón de Bohr	μ_B	9,274 015 4(31)	$\times 10^{-24} \text{ J T}^{-1}$
			$\times 10^{-21} \text{ erg G}^{-1}$
Velocidad de la luz en el vacío	c	2,997 924 58	$\times 10^8 \text{ m s}^{-1}$
			$\times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$

* Números entre paréntesis indican la imprecisión en el último dígito como una vez la desviación estándar.

† Calculado a partir de N y $^{12}\text{C} = 12 u$ exactamente.

Fuente: Cohen, E. R., Taylor, B. N. 1987. *Rev. Mod. Phys.* 57:1121. Taylor, B. N., Cohen, E. R. 1990. *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* 95:497.

Factores de conversión de la energía*

	ergs/molécula	kJ/mol	kcal/mol	electron volts/molécula
ergs/molécula	1	$6,0221 \times 10^{13}$	$1,4393 \times 10^{13}$	$6,2415 \times 10^{11}$
kJ/mol	$1,6605 \times 10^{-14}$	1	0,23900	$1,0364 \times 10^{-2}$
kcal/mol	$6,9478 \times 10^{-14}$	4,184	1	$4,336 \times 10^{-2}$
electron volts/molécula	$1,6022 \times 10^{-12}$	$9,6485 \times 10^1$	23,060	1

* Ver Tabla 8.2 para otros factores de conversión.

Masas Atómicas Internacionales (Referidas a $^{12}\text{C} = 12$)*

Elemento	Símbolo	Número atómico	Peso atómico [†]	Elemento	Símbolo	Número atómico	Peso atómico [†]
Actinio	Ac	89	227,028	Lawrencio	Lr	103	(260)
Aluminio	Al	13	26,9815	Litio	Li	3	6,941
Americio	Am	95	(243)	Lutecio	Lu	71	174,97
Antimonio	Sb	51	121,75	Magnesio	Mg	12	24,305
Argón	Ar	18	39,948	Manganeso	Mn	25	54,9380
Arsénico	As	33	74,9216	Meiterio	Mt	109	(266)
Astato	At	85	(210)	Mendelevio	Md	101	(258)
Azufre	S	16	32,06	Mercurio	Hg	80	200,59
Bario	Ba	56	137,33	Molibdeno	Mo	42	95,94
Berkelio	Bk	97	(247)	Neodimio	Nd	60	144,24
Berilio	Be	4	9,0122	Neón	Ne	10	20,18
Bismuto	Bi	83	208,980	Neptunio	Np	93	237,048
Borio	Bh	107	(262)	Niobio	Nb	41	92,906
Boro	B	5	10,81	Níquel	Ni	28	58,70
Bromo	Br	35	79,904	Nitrógeno	N	7	14,0067
Cadmio	Cd	48	112,41	Nobelio	No	102	(259)
Calcio	Ca	20	40,08	Oro	Au	79	196,9665
Californio	Cf	98	(251)	Osmio	Os	76	190,2
Carbono	C	6	12,011	Oxígeno	O	8	15,9994
Cerio	Ce	58	140,12	Paladio	Pd	46	106,4
Cesio	Cs	55	132,905	Plata	Ag	47	107,868
Cinc	Zn	30	65,38	Platino	Pt	78	195,08
Circonio	Zr	40	91,22	Plomo	Pb	82	207,2
Cloro	Cl	17	35,453	Plutonio	Pu	94	(244)
Cobalto	Co	27	58,9332	Polonio	Po	84	(209)
Cobre	Cu	29	63,54	Potasio	K	19	39,0983
Criptón	Kr	36	83,80	Praseodimio	Pr	59	140,907
Cromo	Cr	24	51,996	Promecio	Pm	61	(145)
Curio	Cm	96	(247)	Protactinio	Pa	91	231,036
Disproscio	Dy	66	162,50	Radio	Ra	88	226,025
Dubnio	Db	105	(262)	Radón	Rn	86	(222)
Einsteinio	Es	99	(252)	Renio	Re	75	186,21
Erbio	Er	68	167,26	Rodio	Rh	45	102,905
Escandio	Sc	21	44,956	Rubidio	Rb	37	85,468
Estaño	Sn	50	118,69	Rutenio	Ru	44	101,07
Estroncio	Sr	38	87,62	Rutherfordio	Rf	104	(261)
Europio	Eu	63	151,96	Samarium	Sm	62	150,35
Fermio	Fm	100	(257)	Seaborgio	Sg	106	(263)
Flúor	F	9	18,9984	Selenio	Se	34	78,96
Fósforo	P	15	30,9738	Silicio	Si	14	28,086
Francio	Fr	87	(223)	Sodio	Na	11	22,9898
Gadolinio	Gd	64	157,25	Talio	Tl	81	204,38
Galio	Ga	31	69,72	Tantalio	Ta	73	180,948
Germanio	Ge	32	72,59	Tecnecio	Tc	43	(98)
Hafnio	Hf	72	178,49	Teluro	Te	52	127,60
Hasio	Hs	108	(265)	Terbio	Tb	65	158,925
Helio	He	2	4,0026	Titanio	Ti	22	47,88
Hidrógeno	H	1	1,0079	Torio	Th	90	232,038
Hierro	Fe	26	55,847	Tulio	Tm	69	168,934
Holmio	Ho	67	164,930	Uranio	U	92	238,03
Indio	In	49	114,82	Vanadio	V	23	50,942
Iridio	Ir	77	192,2	Volframio	W	74	183,85
Iterbio	Yb	70	173,04	Xenón	Xe	54	131,29
Itrio	Y	39	88,906	Yodo	I	53	126,9045
Lantano	La	57	138,905				

* Precisión en las masas ± 1 en el último dígito.

† Los números entre paréntesis indican las masas del isótopo más estable.

Lista parcial de productos químicos compatibles

Las sustancias que pueden reaccionar con violencia se consideran incompatibles. Aparte de no mezclarlas, se sugiere que se almacenen aparte.

Sustancia	Incompatible con
Acetileno	Cloro, bromo, flúor, cobre, plata, mercurio
Ácido acético	Ácido crómico, ácido nítrico, compuestos hidroxílicos, etilenglicol, ácido perclórico, peróxidos, permanganatos
Ácido cianhídrico	Ácido nítrico, bases
Ácido crómico	Ácido acético, naftaleno, alcanfor, glicerina, turpentina, alcoholes, líquidos inflamables
Ácido fluorhídrico (deshidratado)	Amoniaco (acuoso o anhidro); compuestos amoniacaes (sólidos o líquidos)
Ácido oxálico	Plata, mercurio
Ácido nítrico (conc.)	Ácido acético, ácido crómico, ácido cianhídrico, sulfuro de hidrógeno, líquidos y gases inflamables
Ácido perclórico	Anhídrido acético, bismuto y sus aleaciones, alcoholes, papel, madera
Ácido sulfúrico	Clorato potásico, perclorato potásico, permanganatos del grupo IA
Alquílicos aluminio	Agua
Amoniaco (anhidro)	Mercurio (por ejemplo, en un manómetro), cloro, hipoclorito cálcico, yodo, bromo, ácido fluorhídrico (anhidro)
Anilina	Ácido nítrico, peróxido de hidrógeno
Bromo	Véase cloro
Carbón activo	Hipoclorito cálcico, agentes oxidantes
Cianuros	Ácidos
Clorato potásico	Ácido sulfúrico y otros ácidos
Cloratos	Sales amoniacaes, ácidos, metales en polvo, azufre, partículas finas orgánicas o sustancias combustibles
Cloro	Amoniaco, acetileno, butadieno, butano, metano, propano (y otros gases del petróleo), hidrógeno, carburo sódico, turpentina, benceno, metales en polvo
Cobre	Acetileno, peróxido de hidrógeno
Dióxido de cloro	Amoniaco, metano, fosfitos, sulfitos
Fósforo	Azufre, compuestos que contengan oxígeno (como los cloratos)
Flúor	Almacenar por separado
Hidrocarburos	Fluor, cloro, bromo, ácido crómico, peróxido de sodio
Hidroperóxido de cumeno (cumeno: hidrocarburos con terminación en eno)	Ácidos, tanto orgánicos como inorgánicos
Líquidos inflamables	Nitrato de amonio, ácido crómico, peróxido de hidrógeno, ácido nítrico, peróxido de sodio, halógenos
Mercurio	Acetileno, ácido fulmínico, amoniaco
Metales alcalinos	Agua, tetracloruro de carbono y otros hidrocarburos clorados, dióxido de carbono, halógenos
Nitrato de amonio	Ácidos, metales en polvo, líquidos inflamables, cloratos, nitritos, azufre, pequeñas partículas orgánicas o materiales combustibles
Perclorato potásico	Véase cloratos
Permanganato potásico	Glicerina, etilenglicol, benzaldehídos, ácido sulfúrico
Peróxido de hidrógeno	Cobre, cromo, hierro, metales y sales metálicas, alcoholes, acetona, sustancias orgánicas, anilina, nitrometano, sustancias combustibles
Peróxido de sodio	Metanol, etanol, ácido acético glacial, anhídrido acético, benzaldehído, disulfuro de carbono, glicerina, acetato etílico, acetato metílico, furfurolo ($C_5H_4O_2$)
Plata	Acetileno, ácido oxálico, ácido tartárico, compuestos de amonio
Potasio	Tetracloruro de carbono, dióxido de carbono, agua
Sodio	Tetracloruro de carbono, dióxido de carbono, agua
Sulfuro de hidrógeno	Vapores de ácido nítrico, gases oxidantes
Yodo	Acetileno, amoniaco (acuoso y deshidratado), hidrógeno

Ácidos y bases concentrados

	Porcentaje en peso aproximado (grado selectivo)	Molaridad correspondiente al % de peso	Volumen (mL) de reactivo necesario para preparar 1,0 L de una disolución 1,0 M
Ácidos			
Acético	99,8	17,4	57,7
Clorhídrico	37,2	12,1	82,6
Fluorhídrico	49,0	28,9	34,6
Fosfórico	85,5	14,8	67,6
Nítrico	70,4	15,9	62,9
Perclórico	70,5	11,7	85,5
Sulfúrico	96,0	18,0	55,6
Bases			
Amoniaco*	28,0	14,5	59,0
Hidróxido sódico	50,5†	19,3	51,8
Hidróxido potásico	52,0	14,2	70,4

* 28,0% amoniaco equivale a 56,64% de hidróxido amónico.

† Disolución saturada a 20 °C.

Tabla periódica de los elementos

Grupos principales										Grupos principales							
1 1A											13 3A	14 4A	15 5A	16 6A	17 7A	18 8A	
1 H 1.00794											5 B 10.81	6 C 12.011	7 N 14.0067	8 O 15.9994	9 F 18.998403	10 Ne 20.1797	
3 Li 6.941	4 Be 9.01218	Metales de transición										13 Al 26.98154	14 Si 28.0855	15 P 30.97376	16 S 32.066	17 Cl 35.453	18 Ar 39.948
11 Na 22.98977	12 Mg 24.305	3 3B	4 4B	5 5B	6 6B	7 7B	8	9 8B	10	11 1B	12 2B	13 Ga 69.72	14 Ge 72.61	15 As 74.9216	16 Se 78.96	17 Br 79.904	18 Kr 83.80
19 K 39.0983	20 Ca 40.078	21 Sc 44.9559	22 Ti 47.88	23 V 50.9415	24 Cr 51.996	25 Mn 54.9380	26 Fe 55.847	27 Co 58.9332	28 Ni 58.69	29 Cu 63.546	30 Zn 65.39	31 Ga 69.72	32 Ge 72.61	33 As 74.9216	34 Se 78.96	35 Br 79.904	36 Kr 83.80
37 Rb 85.4678	38 Sr 87.62	39 Y 88.9059	40 Zr 91.224	41 Nb 92.9064	42 Mo 95.94	43 Tc (98)	44 Ru 101.07	45 Rh 102.9055	46 Pd 106.42	47 Ag 107.8682	48 Cd 112.41	49 In 114.82	50 Sn 118.710	51 Sb 121.757	52 Te 127.60	53 I 126.9045	54 Xe 131.29
55 Cs 132.9054	56 Ba 137.33	57 *La 138.9055	72 Hf 178.49	73 Ta 180.9479	74 W 183.85	75 Re 186.207	76 Os 190.2	77 Ir 192.22	78 Pt 195.08	79 Au 196.9665	80 Hg 200.59	81 Tl 204.383	82 Pb 207.2	83 Bi 208.9804	84 Po (209)	85 At (210)	86 Rn (222)
87 Fr (223)	88 Ra 226.0254	89 †Ac 227.0278	104 Rf (261)	105 Db (262)	106 Sg (263)	107 Bh (262)	108 Hs (265)	109 Mt (266)	110 (269)	111 (272)	112 (277)						

*Series lantánidos	58 Ce 140.12	59 Pr 140.9077	60 Nd 144.24	61 Pm (145)	62 Sm 150.36	63 Eu 151.96	64 Gd 157.25	65 Tb 158.9254	66 Dy 162.50	67 Ho 164.9304	68 Er 167.26	69 Tm 168.9342	70 Yb 173.04	71 Lu 174.967
†Serie actínidos	90 Th 232.0381	91 Pa 231.0359	92 U 238.0289	93 Np 237.048	94 Pu (244)	95 Am (243)	96 Cm (247)	97 Bk (247)	98 Cf (251)	99 Es (252)	100 Fm (257)	101 Md (258)	102 No (259)	103 Lr (260)

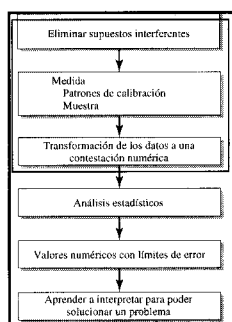
Contenido

Prólogo xix

Sobre los autores xxi

CAPÍTULO 1

Preliminares



1.1 Introducción 2

1.2 Algunas definiciones 2

Identificación, determinación, análisis, cuantificación y analito 2

Validación 3

Métodos, protocolos y técnicas 3

1.3 Resolución de un problema 3

1.4 Un breve repaso a los patrones internacionales de medidas 7

Masa atómica 7

Mol 8

Notación de prefijos 8

1.5 Unidades de concentración 9

Unidades de medida peso a peso 9

Medidas de peso a volumen 10

Medidas de molaridad y normalidad 11

Unidades de medida de volumen a volumen 12

El pH y otras escalas logarítmicas 12

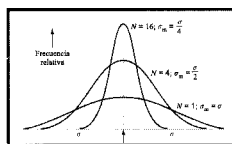
1.6 Experimentos y ecuaciones matemáticas 12

Bibliografía recomendada 14 • Revisión de conceptos 15

Ejercicios 15

CAPÍTULO 2

Ensayos estadísticos y análisis de errores



2.1 Introducción 18

2.2 Hallazgo de errores 18

Un sencillo análisis mediante cromatografía 18

¿Me encuentro al menos en el entorno? 19

2.3 Medida de errores 19

2.4 Medidas absolutas y relativas 23

2.5 Precisión y exactitud 23

2.6 Errores aleatorios y la distribución normal (gaussiana) 24

Propiedades de las distribuciones gaussianas 27

2.7 El límite de confianza 28

Límites de confianza cuando se conoce σ 28

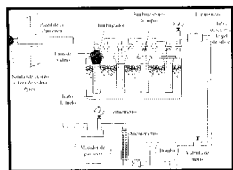
Límites de confianza cuando se desconoce el error σ 29

2.8 Estándares, ensayos en blanco y exactitud 31

2.9	Búsqueda de errores	32	
	El procedimiento analítico	32	
2.10	Métodos inaceptables	36	
2.11	Datos ponderados y diferencia entre dos medidas	36	
	La diferencia entre dos medidas	37	
	Comparación de dos métodos diferentes	39	
	Comparación de la medida experimental con el valor real	42	
2.12	Propagación de la incertidumbre	43	
	Error sistemático diferencial total	44	
	Errores aleatorios diferenciales totales	45	
	¿Qué hacer con la información sobre los errores?	49	
2.13	Cifras significativas	49	
	Reglas de redondeo	49	
	Cifras significativas y operaciones aritméticas	50	
	Suma y resta	50	
	Multiplicación y división	50	
	Logaritmos	52	
2.14	Datos discordantes	52	
2.15	La mediana	54	
2.16	Mínimos cuadrados	55	
	PROFUNDIZANDO		
2A	El test «F» para comparación de varianzas	58	
	Bibliografía recomendada	60 • Ejercicios	61

CAPÍTULO

Muestreo

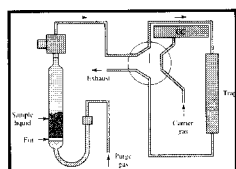


3.1	Factores relacionados con un muestreo eficaz	68
3.2	Muestras válidas: representatividad y homogeneidad	69
	Muestra representativa	69
	Muestreo jerárquico múltiple	71
	Preparación de mezclas homogéneas	72
3.3	Un modelo gráfico	76
3.4	Muestreo de mezclas	78
3.5	Integridad de las muestras	78
3.6	Separaciones físicas en el muestreo	79
	Muestreo de gases y sustancias volátiles	80
3.7	¿Cuántas muestras son necesarias?	81
	PROFUNDIZANDO	
3A	La distribución binómica	83
	Una aclaración	86

Bibliografía recomendada 86 • Revisión de conceptos 87
Ejercicios 87

CAPÍTULO 4

Tratamiento de la muestra, interferencias y estándares



- 4.1 Preparación de la muestra 92**
- 4.2 Optimización de la recuperación 93**
 - Pérdidas de analito 94
 - Corrección por pérdida de analito 96
- 4.3 Optimización de la forma química 97**
 - Trabajando directamente con muestras sólidas 97
 - Calentamiento o enfriamiento 97
 - Disolución 98
 - Digestión 98
 - Vaporización 101
- 4.4 Disminución de las interferencias 102**
 - Extracción 103
 - Diálisis 108
 - Precipitación y flotación 108
 - Purga y trampa 110
- 4.5 Optimización del intervalo de concentración 110**
- 4.6 Calibración y estándares 112**
- 4.7 Tipos de estándares 113**
 - Estándares externos 113
 - Estándares añadidos (internos) 115

PROFUNDIZANDO

- 4A Fundamento de la disolución asistida por ultrasonidos 119**
- 4B Preparación de la muestra asistida por microondas 120**
- 4C Extracción de fluidos supercríticos 123**
- 4D Purga y trampa 124**
- 4E Análisis por inyección en flujo 127**
- 4F Sustancias estándares de referencia 129**
 - Definiciones 131

Bibliografía 131 • Revisión de conceptos 133
Ejercicios 133

CAPÍTULO 5

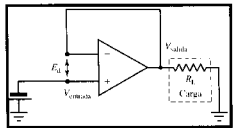
Tamaño de la muestra y componentes mayoritarios, minoritarios, trazas y ultratrazas

- 5.1 Clasificación de la muestra por tamaño y nivel de analito 142**
- 5.2 Límites del análisis de traza 143**
- 5.3 Comparación de análisis de trazas, ultratrazas y microanálisis 148**
 - Preconcentración de analitos a nivel de trazas 149
- 5.4 Cuatro casos 149**
 - Caso 1: Una muestra de alta pureza 149
 - Caso 2: Un miligramo de muestra para analizar su composición elemental 149

	Caso 3: Análisis micro-orgánico	151
	Caso 4: Un sólido y la distribución de elementos en su estructura	152
5.5	Señales, ruido y límite de detección	153
5.6	Parámetros de calidad y límite de detección	155
	Comparando límites de detección	156
5.7	El límite de detección con más detalle	157
	Bibliografía recomendada	160
	Revisión de conceptos	161
	Ejercicios	161

CAPÍTULO

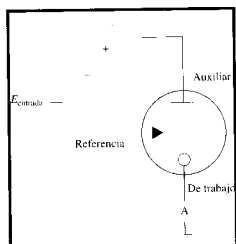
Electrónica y ruido



6.1	Introducción	166
6.2	Corriente continua (cc), potencial	167
6.3	Potencia	168
6.4	Las leyes de Kirchhoff	169
	Resistencias en serie: potencial dividido	169
	Resistencias en paralelo	172
	Circuito de puente de Wheatstone: resistencias combinadas en serie y en paralelo	173
6.5	Respuestas de los circuitos dependientes del tiempo	174
6.6	Relaciones señal-ruido	177
6.7	Tipos de ruido	179
	Ruido térmico	179
	Ruido de disparo	181
	Ruido $1/f$	182
	Interferencia eléctrica	182
6.8	Amplificadores y amplificación	183
	Modos normales de operar con amplificadores en circuitos	186
6.9	Límite de detección con un detector multicanal	191
PROFUNDIZANDO		
6A	Símbolos electrónicos	192
6B	Breve introducción a la nomenclatura de la lógica digital	193
	Una red flip-flop	195
	Soporte del bloque D	196
	Contador binario	199
6C	Condesadores, inductores y corriente alterna (CA)	200
	Inductores y CA	202
	Inductors and ac	198
	Circuitos CL y resonancia	203

CAPÍTULO

Métodos electroquímicos



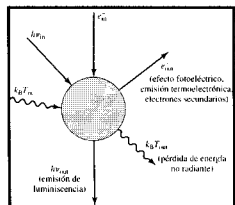
- 7.1 Variedad de métodos electroquímicos 210**
- 7.2 Repaso: potenciales electroquímicos y la ecuación de Nernst 210**
- Actividades químicas 210
 - La ecuación de Nernst 211
 - Células de concentración 213
 - pH y el potencial electroquímico 214
 - El potencial formal 214
- 7.3 Sobre las medidas 217**
- ¿Cómo un electrodo inerte mide el potencial de un par redox? 217
 - Medidas experimentales 218
- 7.4 Potenciometría y electrodos selectivos de iones 220**
- Semicélulas de referencia 220
 - Interfaces selectivas de iones y electrodos selectivos de iones 223
 - Intervalo de respuesta de los electrodos selectivos de iones (ESI) 228
 - Transistores selectivos de iones con efecto de campo 229
 - Interferencias y los electrodos selectivos de iones 230
 - Precisión potenciométrica 232
- 7.5 Métodos electroquímicos basados en el flujo de corriente 232**
- Comportamiento de una célula electroquímica a la que se le aplica un potencial 233
 - La región lineal 234
 - La región no lineal 234
 - Sobrepotencial cinético 236
- 7.6 Potenciostato de tres electrodos 237**
- 7.7 Conductimetría 240**
- Conductividad y concentración iónica 241
 - Conductimetría en la práctica 241
- 7.8 Culombimetría 244**
- Corrientes residuales: electrólisis competitiva 246
 - Valoraciones culombimétricas 248
- 7.9 Amperometría 249**
- Amperometría de potencial fijo: valoración amperométrica 250
 - Sistema de dos electrodos 250
 - Sistema de un electrodo 253
 - Cromatografía/amperometría 254
- 7.10 Voltamperometría 254**
- Polarografía de corriente continua (CC) y electrodo de gota colgante de mercurio 256
 - Voltamperometría de impulsos 256
 - Voltamperometría diferencial de impulsos 260
 - Voltamperometría cíclica 261
- 7.11 Voltamperometría de redisolución 264**
- PROFUNDIZANDO**
- 7A Notación de las células electroquímicas 266**
- 7B Determinación de coeficientes de selectividad 269**

- 7C Puentes salinos y uniones líquidas 271
- 7D Potenciales, medida de corrientes y voltamperometría diferencial de impulsos 272

Bibliografía recomendada 274 • Revisión de conceptos 275
Ejercicios 276

CAPÍTULO

Introducción a la espectrometría

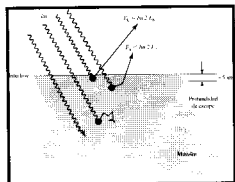


- 8.1 Espectrometría, de la radiofrecuencia a los rayos- γ 282
 - 8.2 Revisión de energía, longitud de onda, frecuencia y temperatura 283
 - 8.3 Las transformaciones de la energía de la luz 287
 - Nombres en espectrometría 288
 - 8.4 Pureza y resolución del espectro 289
 - Monocromadores y policromadores 291
 - Anchura de banda y anchura de la rendija espectral 292
 - Resolución 292
 - 8.5 Medidas del espectro 293
 - 8.6 Dispersión de la luz 296
 - Geometría de la dispersión 296
 - Orígenes de la dispersión elástica y comportamiento 297
 - Dispersión inelástica 299
 - 8.7 Espectrometría de emisión 299
 - 8.8 Espectrometría de absorción 300
 - Absorbancia y concentración 302
 - Absorbancia concentración y precisión 303
 - Resolución espectral y error en la medida de las concentraciones 304
 - Células de muestra y disolventes 305
 - Otros límites para la precisión fotométrica 306
 - 8.9 Espectrometría de fluorescencia/fosforescencia 308
 - Comparación de los métodos 311
 - 8.10 Interferencias espectrales y espectro de mezclas 312
 - Corrección de fondo 312
 - Cuantificación de dos especies en presencia de interferencias espectrales 315
 - 8.11 Interferencias químicas 318
 - Puntos isobásticos 318
 - 8.12 Interferencias instrumentales 319
 - 8.13 Reflexión total interna y fibra óptica 321
 - Reflexión total atenuada 324
 - 8.14 Espectrometría de reflectancia difusa 328
 - 8.15 Espectrometría derivada 332
- PROFUNDIZANDO**
- 8A Separación de la longitud de onda: interferencia, red de difracción, rejillas y filtros 333
 - Interferencia constructiva y destructiva de dos ondas estacionarias 334
 - Difracción con doble rendija 335

- Difracción multirendijas 336
- Redes 337
- Monocromadores 340
- Interferómetros 341
- 8B Fuentes de radiación electromagnética: de 190 nm a 50 μm 342**
 - Láseres y seguridad de láser 342
 - La región ultravioleta, de 190 a 320 nm: lámparas de deuterio, xenon y de mercurio 342
 - La región visible, de 320 a ~750 nm: Lámparas de filamentos de tungsteno 344
 - La región infrarroja, de 2,5 a 50 μm : Cuerpo incandescente de Nernst 346
- 8C Transductores representativos para radiación electromagnética 346**
 - Rectificadores para radiofrecuencia 346
 - Dispositivos de infrarrojo 347
 - Fototubos y fotomultiplicadores 348
 - CCD y CID 350
 - Detectores de rayos X y gamma 352
- 8D Deducción de la ley de Lambert-Beer 353**
 - Luminiscencia y su dependencia con la concentración 355
- 8E Nomenclatura de absorción molecular y luminiscencia 356**
 - Bibliografía recomendada 360 • Ejercicios 361

CAPÍTULO

Espectrometría del análisis elemental

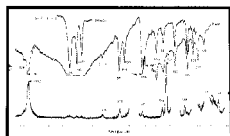


- 9.1 Espectrometría atómica 370**
- 9.2 Nomenclatura de espectrometría atómica 370**
 - Espectros y nomenclatura espectral 371
- 9.3 Intensidades y anchuras de línea de espectros atómicos en fase gaseosa 373**
 - Dependencia de la anchura de línea con la temperatura y de la presión 373
 - Emisiones y absorciones simultáneas y cambios en la forma de la línea 374
- 9.4 Factores que afectan la atomización/ionización 377**
 - Muestras sólidas 377
 - ¿Átomos o iones? 378
 - Muestras de líquidos 380
 - Muestras de gases 382
- 9.5 Aislamiento de los átomos o iones de las muestras 383**
 - Hornos 383
 - Plasmas 384
 - Llamas 387
- 9.6 Origen de interferencias espectrales en fase gaseosa 387**
- 9.7 Metodología de emisión atómica 390**
- 9.8 Metodología de absorción atómica 392**
 - La fuente de radiación en absorción atómica 393
- 9.9 Corrección del fondo 396**
- 9.10 Análisis total sin atomización 399**

9.11	Métodos de análisis con rayos X	399
	Nomenclatura de la radiación de rayos X	399
	Absorción de rayos X	400
	Coefficientes de absorción másicos	404
	Picos espurios e intensidades de fluorescencia anómalas	406
	Fluorescencia de rayos X inducida por protón (PIXE)	406
9.12	Análisis por activación neutrónica	407
9.13	¿Plasma u horno? ¿Absorción o emisión? Emisiones ópticas, rayos X, rayos γ, ¿cuál usar?	411
9.14	Técnicas de análisis de superficie	413
9.15	Espectroscopia de fotoelectrón y de Auger	416
	Electrones emitidos por las muestras	416
	¿Qué electrones emiten?	418
	Espectrometría de electrones Auger	419
	Nomenclatura Auger	422
9.16	Dispersión de Rutherford	423
PROFUNDIZANDO		
9A	Espectros de emisión y de absorción y la distribución de Boltzmann	426
	Fluctuaciones de la temperatura e interferencia	430
9B	Ensanchamiento de línea por efecto Doppler	431
9C	Espectrómetros de rayos X de longitud de onda dispersiva	434
9D	Espectrómetros de rayos X (EDX) de energía dispersa	436
9E	Espectrómetros de electrones	437
Bibliografía recomendada 439 • Ejercicios 440		

CAPÍTULO

Espectroscopias infrarroja y Raman: espectroscopias vibracionales



10.1	Introducción	446
	Espectros infrarrojos	446
10.2	Frecuencias vibracionales	448
10.3	Modos normales vibracionales	452
10.4	Información cualitativa de los espectros IR	455
10.5	Espectros Raman	459
10.6	Muestras para espectroscopias infrarrojas y Raman	462
	Muestras para espectroscopia infrarroja	462
	Muestras para espectroscopia Raman	463
10.7	Intensidades de banda de los espectros vibracionales	465
10.8	Análisis cuantitativo	468
10.9	Microespectroscopia infrarroja y Raman	469

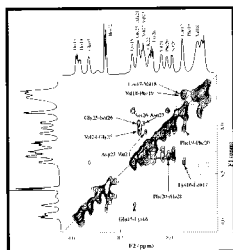
PROFUNDIZANDO

10A	Espectroscopias Raman	470
10B	Frecuencias características	473

Bibliografía recomendada 479 • Ejercicios 479

CAPÍTULO 11

Espectrometría de resonancia magnética nuclear



- 11.1 **Introducción 484**
- 11.2 **Principios generales de RMN 484**
 - Magnitud de la señal y concentración 487
- 11.3 **Desplazamientos químicos: orígenes y valores 489**
 - Origen de σ , el parámetro de apantallamiento 489
- 11.4 **Equivalencia nuclear e inequivalencia 493**
- 11.5 **Interacción spin nuclear-spin nuclear 494**
 - Alturas y áreas de picos desdoblados 497
 - Reglas generales del desdoblamiento 498
 - Algunas complicaciones 501
 - Desdoblamiento por más de un conjunto de núcleos equivalentes 503
 - Desdoblamiento spin-spin de núcleos no resonantes 506
- 11.6 **RMN-¹³C 506**
- 11.7 **Cuantificación 508**
- 11.8 **RMN de sólidos 511**
- 11.9 **RMN multidimensional 512**

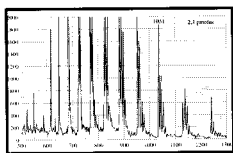
PROFUNDIZANDO

- 11A **Instrumentos y muestras para RMN 514**

Bibliografía recomendada 517 • Ejercicios 518

CAPÍTULO 12

Espectrometría de masas



- 12.1 **Introducción 522**
- 12.2 **Espectros de masas y la relación masa/carga 525**
- 12.3 **Análisis de espectros de masas de moléculas orgánicas 525**
 - Identificación del ion molecular 526
 - Estudio de la distribución de los isótopos 527
 - Exposición de la secuencia de fragmentación 530
- 12.4 **Poder de resolución del espectro de masas y la resolución del espectro 532**
- 12.5 **Determinación de masas exactas y fórmulas moleculares 533**
- 12.6 **Espectrometría secuencial de masas: MS/MS 535**
- 12.7 **Espectrometría de masas/separaciones 536**
- 12.8 **Espectrometría de masas de masas elevadas 540**
- 12.9 **Distribución espacial por espectrometría de masas 542**
- 12.10 **Variedades de fuentes de ionización 547**
 - Factores normales en las fuentes iónicas: estabilidad, control del movimiento iónico 547
 - Ionización de electrones (EI) e ionización química (CI) 548
 - Electrospray (ES, ESI) 550
 - Fuentes de ionización por plasma acoplado inductivamente (ICP) 554
 - Fuentes de ionización basadas en láser pulsados 556

Bombardeo de átomos acelerados (FAB) 557
 Desorción/ionización por impacto iónico: desorción de plasma, descarga
 luminiscente, propulsión de partículas neutras 559
 Ionización térmica 562

12.11 Analizadores de masas para espectrometría de masas 562

Sector magnético 563
 Doble sector magnético 564
 Filtro de masas de cuadrupolo 564
 Trampa de cuadrupolo de iones 566
 Tiempo de vuelo (TOF) 567
 Espectrometría de masas por transformada de Fourier (resonancia iónica
 de ciclotrón por transformada de Fourier) 569

12.12 Análisis de alta precisión por espectrometría de masas: dilución isotópica 572

La ecuación del análisis por dilución isotópica de masa espectral 573

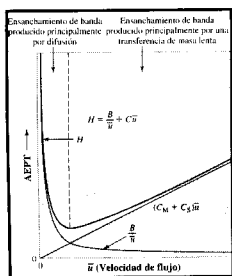
PROFUNDIZANDO

12A La abundancia de isótopos naturales 575

Bibliografía recomendada 576 • Ejercicios 577

CAPÍTULO 13

Introducción general a las separaciones y a la cromatografía



- 13.1 El experimento cromatográfico 584
 13.2 Nomenclatura de las separaciones cromatográficas 586
 13.3 Descripción de cromatogramas experimentales 587
 13.4 Parámetros de cromatografía 588

Parámetros de las bandas individuales 589

Eficacia 590

Parámetros para describir pares de bandas 591

Comparación de la eficacia de las columnas 594

Resolución de masa frente a resolución de pico 594

13.5 Cuantificación en cromatografía 596

Pérdida de sustancias en la columna 596

Respuesta del detector 597

Técnicas de cuantificación 597

13.6 Descripción de la separación cromatográfica 599

Extracciones 599

Carga de la muestra 600

K_D y tiempos de elución 601

Un modelo más completo 604

13.7 Ensanchamiento de zona: la ecuación de van Deemter 605

Ensanchamiento de zona en más detalle 608

El proceso de ensanchamiento descrito por medio de B/\bar{u} 608

El proceso de ensanchamiento descrito por medio de $C\bar{u}$ 609

Empaquetamiento de la fase estacionaria y el término A 611

13.8 Mejora de las separaciones 613

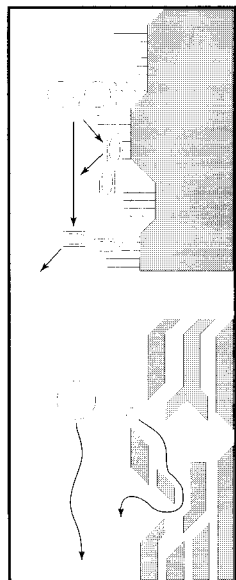
Variación de N mediante un cambio en el caudal de flujo 615

- ¿Mejora la separación cambiando α ? 615
 - Separaciones en discontinuo 616
 - Otras estrategias 616
 - 13.9 Picos asimétricos 617**
 - Carga de la muestra 617
 - Isotermas y asimetría 618
 - 13.10 Técnicas multidimensionales 619**
 - Separaciones multidimensionales 619
 - Detección multidimensional 620
- PROFUNDIZANDO**
- 13A Demostración que la expresión $W_i = 4\sigma_i$, para picos Gaussianos 624**
 - 13B Altura de plato reducido y velocidad de flujo reducida 625**
 - 13C ¿Qué calidad de resolución tienen los cromatogramas de alta resolución? 626**

Bibliografía recomendada 630 • Ejercicios 630

CAPÍTULO

Cromatografía líquida

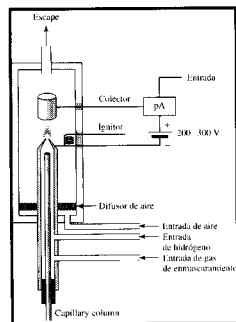


- 14.1 Tipos de cromatografía líquida 636**
- 14.2 Cromatografía líquida en fase normal 637**
- 14.3 Cromatografía líquida en fase reversa 640**
- 14.4 Cromatografía líquida de intercambio iónico (cromatografía iónica) 643**
 - Cromatografía iónica 645
 - Cromatografía de pares iónicos 648
- 14.5 Cromatografía líquida por exclusión de tamaños 648**
- 14.6 Separaciones quirales 651**
- 14.7 Gradientes 652**
- 14.8 Efecto de la temperatura 655**
- 14.9 Tamaño de partícula, tamaño de columna, presión y AEPT 657**
- 14.10 Detectores para columnas de LC 660**
 - Detectores de absorción UV-Visible 661
 - Detectores de fluorescencia 663
 - Detector de índice de refracción diferencial 663
 - Detector amperométrico 665
 - Detector de conductividad 666
 - Detectores de dispersión de luz (ELS) 666
 - Dispersión de luz en líquidos 668
 - Detector viscosimétrico para disoluciones de polímeros 669
- 14.11 Separaciones en discontinuo 670**
- 14.12 Cromatografía plana 671**
 - Cromatografía en capa fina de alta resolución 671
 - Detección y cuantificación por TLC 673

Bibliografía recomendada 675 • Ejercicios 676

CAPÍTULO

Cromatografía de gases y cromatografía de fluidos supercríticos



- 15.1 Comparación entre cromatografías de gases, fluidos supercríticos y líquidos 680**
- 15.2 Nomenclatura de cromatografía de gases 681**
- 15.3 Muestras analizables 682**
- 15.4 Introducción de muestras, divisores y columnas 683**
 Introducción de muestras y divisores 683
 Columnas y fases estacionarias 684
 Temperatura en GC 688
 Caudal en GC 690
 Detectores para GC 691
- 15.5 Detectores de la cromatografía de gases 693**
 Detector de conductividad térmica (TCD) 693
 Detector de ionización de llama (FID) 695
 Detector de captura electrónica (ECD) 696
 Detector de nitrógeno-fósforo (NFD) 696
 Detector de fotoionización (PID) 697
 Detector de ionización de helio de descarga pulsada (PDHID) 697
 Detector fotométrico de llama (FFD) 698
 Detector Hall de conductividad electrolítica (ELCD) 699
 Otros detectores 701
 Caudales del efluente 701
- 15.6 Cromatografía de fluidos supercríticos 701**
 Analitos 701
 La fase móvil 702
 Tipo de muestra e inyección de la muestra 702
 Columnas y empaquetados 703
 Detectores 703

PROFUNDIZANDO

- 15A Fases estacionarias para cromatografía de gas líquido: esquemas de clasificación 703**
 Series homólogas 703
 Índice de retención 704
 Las constantes de McReynolds 706
- 15B Optimización de las separaciones por cromatografía de gases 708**
 Bibliografía recomendada 712 • Ejercicios 712

CAPÍTULO

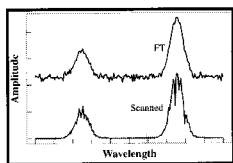
Separaciones por aplicación de un potencial: electroseparaciones

- 16.1 Las bases de la electroseparación 718**
- 16.2 ¿Negativa, neutra o positiva? 720**
- 16.3 Separaciones electroforéticas en gel 722**
 Los geles 722

- Algunas formas de operar 724
- Mejorando la resolución 725
- 16.4 Algunos métodos de detección para la electroforesis en gel 726**
- 16.5 Isoelectroenfoque 729**
- 16.6 Electroforesis capilar 730**
 - Diferencias en la temperatura y en la convección 731
 - Flujo electroosmótico en capilares 733
 - Eficacia 736
 - Resolución 737
 - Inyección de la muestra 737
 - Modalidades de trabajo 738
 - Detección 738
- 16.7 Cromatografía capilar electrocinética micelar 739**
- 16.8 Espectrometría de movilidad iónica 742**
- PROFUNDIZANDO**
- 16A El origen del flujo electroosmótico 745**
- Bibliografía recomendada 746 • Ejercicios 747

CAPÍTULO 17

Adquisición digital y tratamiento de la señal



- 17.1 Digitalización 750**
 - Resolución 750
 - Bits más y menos significativos 753
- 17.2 Promediado de la señal 755**
- 17.3 Tiempo y frecuencia: ¿con qué frecuencia medir el potencial? 757**
 - Eliminando el enmascaramiento con filtros 758
 - Cuándo no es necesario un filtro anti enmascaramiento 761
- 17.4 Tiempo y frecuencia: cómo están relacionados 761**
 - Sumando y restando ondas seno 762
 - Preliminares matemáticas. Transformadas de Fourier 764
 - Variables complejas: notación 765
 - La transformada inversa 766
- 17.5 Frecuencias, filtros y desdoblamiento 767**
- 17.6 Disgresión sobre las características del ruido en espectrometría 769**
 - Ruido por fluctuación ($\propto I$) y ruido por emisión de fotones ($\propto I^{1/2}$) 770
 - Multicanal no es multiseñal 772
 - Un sencillo ejemplo de multiseñal 772
 - Multiseñal en espectroscopia infrarroja 772
 - Elementos espectrales 773
 - Distribuciones de ruido 774
 - Cómo obtener suficiente señal 774
- 17.7 Algunos principios instrumentales 777**
 - Potencia que llega al detector 777
 - Recogida «instantánea» de espectros 778
 - Resolution, S/R, y tiempo de recogida de datos 778
 - Tiempo de muestra, resolución digital e intervalo espectral 779

- 17.8 Usos experimentales de la transformada de Fourier 783**
 FT-RMN 783
 Espectrometría de masas-FT 785
 FT-IR 788
 Resolución digital y máximo retardo 790
 Ventajas en rendimiento 791
 La ventaja múltiplex 791
 Precauciones 791

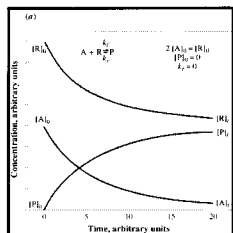
PROFUNDIZANDO

- 17A La representación del potencial con un fasor 792**
17B La transformada de Fourier de una señal transitoria 794
 Apodización (Windowing) 796

Bibliografía recomendada 796 • Ejercicios 797

CAPÍTULO

Métodos cinéticos



- 18.1 La química de los análisis cinéticos 800**
18.2 ¿Por qué métodos cinéticos? 800
18.3 Breve repaso de las ecuaciones matemáticas de velocidades de reacción, tiempos de desintegración y vidas medias 801
18.4 Análisis cinético y tipos de análisis 805
 El método catalítico 806
 El método directo 807
18.5 Métodos de determinación de $[A]_0$ o $k_{\text{catalítico}}$ a partir de las velocidades de reacción 807
 El método cinético diferencial 808
 Método de tiempo fijo 809
 Método de tiempo variable 811

PROFUNDIZANDO

- 18A Obtener comportamiento cinético simple 813**
 Comportamiento de pseudo primer orden 814
 Comportamiento de pseudo orden cero 815

Bibliografía recomendada 816 • Revisión de conceptos 816 • Ejercicios 816

Apéndices 819

Respuesta a los ejercicios 835

Índice 839

PRÓLOGO

Es señal de una mente educada esperar una exactitud proporcionada a lo que permite la naturaleza propia de cada materia. Es igual de insensato aceptar conclusiones meramente probables de un matemático, que exigirle pruebas científicas a un orador.

—Aristóteles, *Ética*, libro 1, Capítulo 3.

La Química Analítica no trata de espectrómetros, polarógrafos, microsondas de electrones, etc, sino que consiste en experimentar, observar, analizar hechos y sacar conclusiones.

—P. W. West, *Anal. Chem.* 1974, 46(9), 784A.

El objetivo de este libro es enseñar los principios básicos del análisis químico moderno mediante instrumentos. En este contexto, la utilización eficaz de estos poderosos instrumentos requiere comprender los procesos químicos relativos al muestreo y la preparación de la muestra, así como los que tienen lugar en cada instrumento (como la transferencia de electrones, la emisión de electrones, las propiedades del plasma, la dispersión y absorción de la luz y el equilibrio de la fase gaseosa). La inclusión de numerosos ejemplos sobre cómo se utilizan las técnicas instrumentales en la actualidad sitúa a estas en su contexto, y da una idea de la enorme difusión del análisis instrumental en nuestra cultura.

Después de una breve introducción (Capítulo 1) sobre el proceso de resolución de problemas, estudiamos los conceptos fundamentales: tratamiento estadístico de los datos experimentales (Capítulo 2), muestreo (Capítulo 3) y estándares y preparación de muestras (Capítulo 4). Decidimos tratar estos temas al comienzo del libro porque los resultados de los análisis instrumentales no pueden ser mejores que las muestras analizadas y su calibración. A continuación (Capítulo 5) se presentan los distintos puntos de vista desde los cuales se analizan las muestras de diferentes tamaños y niveles de analito. Comprendiendo estos temas y mejorando su puesta en práctica reduciremos al mínimo los datos insignificantes o inútiles (que pueden llevarnos a conclusiones erróneas).

Después se hace una introducción a la electrónica de CC y al cociente señal/ruido (Capítulo 6), lo que conduce al estudio de la electroquímica y de los métodos de análisis electroquímicos (Capítulo 7). La electrogravimetría y la polarografía clásica se estudian sólo brevemente, para proporcionar la base de métodos más modernos.

Los fundamentos básicos de cualquier método espectrométrico se explican en el primero de los cuatro capítulos dedicados a la espectrometría (Capítulo 8). Le siguen capítulos más detallados sobre espectrometría atómica (Capítulo 9), espectrometría vibracional (Capítulo 10) y espectrometría de resonancia magnética nuclear (Capítulo 11). La información sobre la espectrometría de resonancia magnética vibracional y nuclear incluye aplicaciones cuantitativas y componentes instrumentales. El capítulo de espectrometría de masas (Capítulo 12) también estudia la cuantificación y la instrumentación.

El Capítulo 13, primero de una serie de cuatro dedicados a las separaciones, es una introducción a la nomenclatura y procesos químicos fundamentales que subyacen en todos los métodos de cromatografía. Le siguen capítulos sobre cromatografía líquida (Capítulo 14), cromatografía de gases (Capítulo 15) y electroseparaciones (Capítulo 16).

La mayor parte de los instrumentos actuales están relacionados con sistemas digitales, y la interfase analógico-digital posee unas características que deben entenderse bien para sacarles el máximo provecho. La obtención de datos digitales y su manipulación (Capítulo 17) incluye una introducción a la transformada de Fourier y sus aplicaciones a

la espectrometría de masas, a la resonancia magnética nuclear y a la espectrometría infrarroja. Terminamos con el tratamiento de datos en los experimentos cinéticos (Capítulo 18).

Una última indicación sobre los ejercicios de final de capítulo: los ejercicios más difíciles se señalan con un asterisco (*), y el icono (■) significa que el ejercicio se realizará mejor con una hoja de cálculo/programa de gráficos.

Apreciamos el esfuerzo de científicos y corporaciones de todo el mundo que han proporcionado datos, diagramas, fotografías y figuras de sus trabajos. Su interés ha animado en gran medida el libro, y ha servido para ilustrar los últimos avances científicos.

Los comentarios de nuestros colegas sobre aspectos tecnológicos y pedagógicos han supuesto una de las ayudas más preciadas a la hora de escribir este libro. Además de agradecer la ayuda prestada por los profesores y alumnos que probaron en clase varios capítulos del texto, nos gustaría agradecer especialmente la colaboración de las siguientes personas:

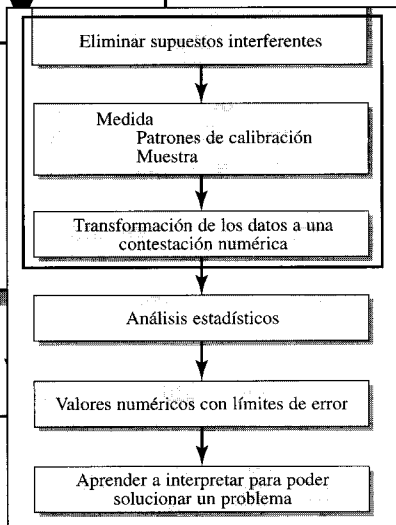
Douglas F. Barofsky	<i>Universidad del Estado de Oregón</i>
John Baur	<i>Universidad del Estado de Illinois</i>
E. Joseph Billo	<i>Boston College</i>
James A. Boiani	<i>SUNY-Geneseo</i>
John J. Breen	<i>Universidad de Indiana-Universidad de Purdue Indianápolis</i>
Luis A. Colón	<i>SUNY-Buffalo</i>
John B. Cooper	<i>Universidad Old Dominion</i>
R. Griffith Freeman	<i>Universidad del Estado de Truman</i>
Eric Grimsrud	<i>Universidad del Estado de Montana</i>
John J. Harwood	<i>Universidad Tecnológica de Tennessee</i>
Barbara B. Kebbekus	<i>Instituto de Tecnología de Nueva Jersey</i>
Dave Krile	<i>Base Aérea Wright Patterson</i>
William R. Lammela	<i>Nazareth College</i>
Charles H. Lochmüller	<i>Universidad Duke</i>
Harry B. Mark, Jr.	<i>Universidad de Cincinnati</i>
David C. Muddiman	<i>Universidad Commonwealth de Virginia</i>
Gabor Patoney	<i>Universidad de Estado de Georgia</i>
Edward H. Piepmeier	<i>Universidad del Estado de Oregón</i>
Thomas Ridgway	<i>Universidad de Cincinnati</i>
Peter C. Uden	<i>Universidad de Massachusetts</i>
E. L. Wehry	<i>Universidad de Tennessee</i>
Charles L. Wilkins	<i>Universidad de Arkansas</i>
George S. Wilson	<i>Universidad de Kansas</i>

Sacar a la luz un libro es siempre un trabajo en equipo, y por esto nos es grato dar nuestro reconocimiento a la ayuda prestada por el equipo de maquetación y diseño de Prentice Hall. Betsy Williams coordinó el proceso de revisión, y desde el principio realizó muchas otras tareas. Joseph Bengotta se encargó del diseño, Yvonne Gerin obtuvo las fotografías, y John Wood y los Estudios Wellington realizaron el trabajo artístico. A Corleigh Stixrud se debe la excelente labor de corrección y edición. La maquetación corrió a cargo del equipo de I.C. Corporation, con Judy Johnson como coordinadora y David Heath como cajista. Por último, nos gustaría agradecer a nuestro editor, Matthew Hart, el amable trato que ha mantenido con dos autores que se reconocen difíciles de satisfacer, y a John Challice, que puso las cosas en marcha antes de aceptar nuevas responsabilidades.

Kenneth A. Rubinson
Judith F. Rubinson
 rubinsjf@email.uc.edu

CAPÍTULO

Preliminares



Contenido

- 1.1. Introducción
- 1.2. Algunas definiciones
- 1.3. Resolución de un problema
- 1.4. Un breve repaso a los patrones internacionales de medidas
- 1.5. Unidades de concentración
- 1.6. Experimentos y ecuaciones matemáticas

1.1. Introducción

¿Qué tienen en común la antropología, la botánica, la química, la ingeniería, la medicina forense, la geología, la ciencia de los materiales, la medicina, la biología molecular, la farmacología, y la toxicología? Todas estas disciplinas dependen de análisis químicos. ¿Por qué? Porque la gente que trabaja en estas áreas necesita contestaciones a preguntas sobre la composición de las sustancias con las que están trabajando. La Química Analítica es, por tanto, el estudio de cómo aprendemos sobre estos materiales: la forma de averiguar su composición elemental y molecular. Determinar la composición de sólidos, líquidos, gases, disoluciones, vidrios, llamas y otras formas de la materia nos permite comprender sus características y buscar sus mejores usos, o quizás descubrir de dónde vinieron o dónde han estado.

Los químicos analíticos no solamente están interesados en resolver problemas específicos, sino también en descubrir mejores métodos para conseguirlo. Para este trabajo de desarrollo, generalmente se requiere un profundo conocimiento de amplias áreas de Química, y quizás también de biología, estadística y física. Sin embargo, para llevar a cabo la etapa de análisis se necesita más práctica y conocimiento de los detalles. En otras palabras, la Química Analítica es la ciencia de «manos a la obra» y su práctica requiere bastante más que simplemente leer sobre el tema, en libros como éste.

Como introducción de algunos de los problemas que surgen, y de cómo resolverlos, el lector encontrará en cada capítulo de este libro unos breves ejemplos de las aplicaciones técnicas descritas, incluyendo hechos como la identificación de los sedimentos en una planta química o de los incendiarios en los incendios provocados, buscar los componentes químicos de rocas de Marte, determinar qué verduras comían los primitivos habitantes de Gran Bretaña, averiguar cómo era el antiguo clima de la Tierra y realizar análisis para evitar situaciones de peligro en las plantas industriales. En todos los casos los métodos y estrategias utilizados se hallaron después de mucho tiempo de experimentación realizada por científicos experimentados.

En este capítulo el lector encontrará muchos términos utilizados en la Química Analítica y algunos temas considerados de repaso ya los habrá tratado con anterioridad en cursos generales de Química.

1.2. Algunas definiciones

A continuación desarrollamos algunas definiciones necesarias para comenzar nuestro diálogo. Su utilización es de uso generalizado en el campo del análisis incluyendo el análisis clínico.

Identificación, determinación, análisis, cuantificación y analito

En una muestra se **identifican** elementos, iones y compuestos. Por ejemplo, decir que el analista ha identificado penicilina en un antibiótico es lo mismo que decir que la penicilina está presente a un nivel o por encima de un determinado nivel. Si se determina la *cantidad* de penicilina en una muestra, se utiliza la palabra **cuantificación** para describir el proceso.

Sólo se **analizan** muestras; por eso decimos, por ejemplo, que la muestra es para un análisis de penicilina. Por otro lado, no es correcto decir que se analiza la penicilina, a no ser que la muestra sea de penicilina en polvo puro y se analiza para determinar si están presentes en ella otros componentes.

Si intentamos averiguar la fracción de una sustancia problema en una muestra, entonces usamos la palabra **análisis** o **determinación**. A la sustancia a determinar se la llama **analito**. Por ejemplo, si se ha de determinar la cantidad de un elemento específico, un ion o un compuesto —digamos carbono en el hierro—, podemos decir que realizamos un análisis para carbono. El carbono es el analito.

Puede haber cierta confusión en estos términos cuando la muestra es un elemento o un compuesto de pureza desconocida. Al decir «haremos un análisis de hierro» lo que queremos indicar es que se va a realizar una cuantificación de impurezas en la muestra de hierro. Sin embargo, si se quiere determinar la cantidad del hierro mismo, la palabra correcta para el procedimiento es *ensayo*. Así un *análisis de hierro* tiene un significado distinto de *un ensayo de hierro*.

Validación

Muchos métodos analíticos se aplican después de haber comprobado su validez tras muchos ensayos y errores. Un requisito sumamente importante para cada procedimiento analítico es demostrar que el procedimiento mide lo que el analista dice que mide de un tipo específico de muestra. A esta demostración se la llama **validación** de un método analítico. Por ejemplo, un analista afirma que es posible que se pueda utilizar un nuevo procedimiento para medir la cantidad de cobalto en muestras de hígado animal. Para que el nuevo método pueda utilizarse, el analista debe demostrar que los resultados del método propuesto están en concordancia con los resultados obtenidos por procedimientos, más antiguos, ya aceptados.

Sin embargo, puede ocurrir que cuando se aplica un procedimiento a un tipo de muestra diferente aparezcan problemas inesperados. Puede ocurrir que la muestra contenga algún componente que sea la causa de un resultado erróneo. Cuando esto sucede decimos que hay una **interferencia** de este componente. Cuando se realiza un análisis encontramos que a veces surgen problemas ocasionados por las especies **interferentes**. Estas especies interferentes son la causa de que el resultado sea mayor o menor que el que obtendríamos si estuvieran ausentes. Por ejemplo, cuando aplicamos el nuevo método de determinación de cobalto en hígado a una muestra de hueso, se produce una interferencia debida a las altas concentraciones de calcio. Por tanto, el calcio es un interferente. Como resultado, el nuevo procedimiento de cobalto que se validó para ser utilizado con hígado de animal no está validado para hueso.

Métodos, protocolos y técnicas

Un **método** o **protocolo** es una secuencia fija de acciones que se llevan a cabo en un procedimiento. A menudo vemos referencias en la bibliografía sobre métodos estándar que fueron aprobados por agencias reguladoras, como la Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE.UU. Estos métodos son para la determinación específica de ciertos analitos en cierto tipo de muestras. Definen normalmente tanto los requerimientos para el manejo de la muestra como las **técnicas** analíticas que han de usarse.

1.3. Resolución de un problema

Cuando nos planteamos un problema analítico, hay una secuencia general de pasos que deben seguirse para seleccionar los protocolos y las técnicas analíticas a utilizar. Un resumen general de estos pasos puede verse en la Figura 1.1.

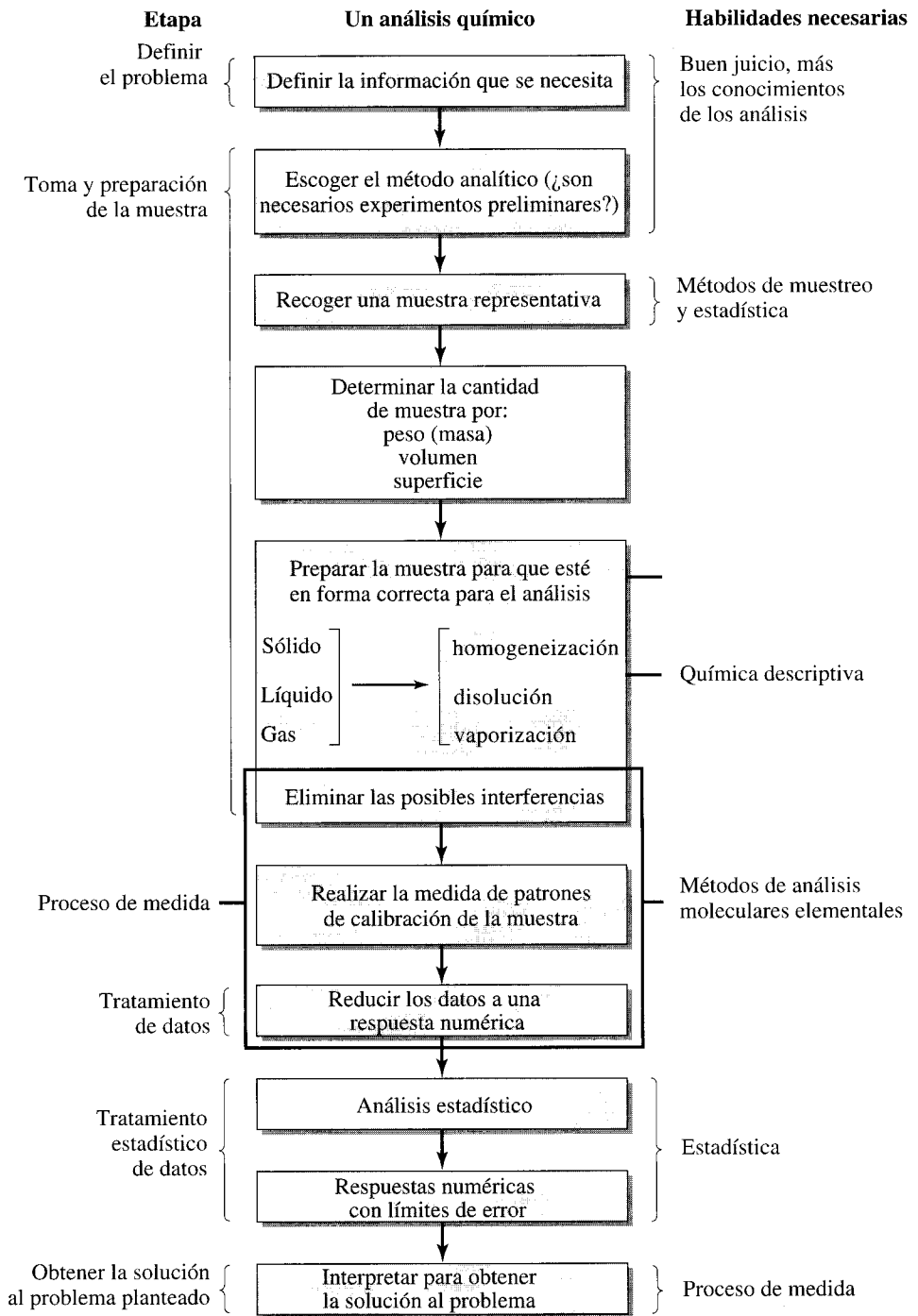


FIGURA 1.1 ► Diagrama que muestra cómo la metodología de un análisis químico se utiliza para resolver un problema.

En la columna de la izquierda están las seis etapas generales que comprenden la metodología analítica. En la columna de en medio se indican más detalladamente los pasos a realizar. El cajetín superior indica los pasos a tomar en la preparación de la muestra. El cajetín inferior indica los pasos a tomar durante el análisis.

(Observamos que en la parte final de preparación de la muestra es también parte del paso perteneciente al ensayo.) La columna de la derecha recopila alguna de las manipulaciones a realizar durante el proceso.

La Química Analítica moderna es una combinación de principios químicos, instrumentos y electrónica además del juicio que da la práctica. Los instrumentos son esenciales pero son una parte relativamente pequeña.

Una vez que queda *definido el problema*, el primer paso es decidir el *método apropiado para el analito que interesa*. Antes de aplicar cualquier método, se debe tomar una muestra representativa. Por ejemplo, supongamos que hay 120 toneladas de mineral situadas fuera frente a la ventana del laboratorio. ¿Cómo obtener una muestra representativa que quepa por la puerta del laboratorio?

Luego hemos de tomar la decisión sobre qué método utilizar para la *preparación de la muestra*. El método de preparación de la muestra se debe elegir teniendo en cuenta las características del análisis a realizar. Por ejemplo, supongamos que el seleccionado sólo puede medir alguna propiedad de una disolución acuosa, pero tenemos 10 kg de pedazos de mineral sólido recogidos del montón y depositados dentro de un cubo en el laboratorio. ¿Qué haremos con él? Además, si hay interferentes en la muestra preparada sería especialmente perjudicial realizar el ensayo elegido; estos *interferentes deberán ser eliminados*, si fuera posible, antes de realizar el ensayo. Este paso requiere conocimientos de **Química Descriptiva** del analito. La Química Descriptiva es el conocimiento básico que incluye la información de cómo reaccionan entre sí los elementos y los compuestos en condiciones específicas, así como las propiedades de los productos de reacción, tales como su volatilidad o solubilidad. No toda la Química Descriptiva ha de ser fascinante o fácil de encontrar en la literatura científica, pero estos conocimientos son una contribución muy importante para resolver problemas en donde están presentes los análisis químicos, así como para el desarrollo de procedimientos de laboratorio fiables.

En numerosas ocasiones la Química Descriptiva no puede codificarse en términos matemáticos y más bien se desarrolla a través de numerosas reglas, que a su vez tienen muchas excepciones. Algunas de estas reglas se siguen con regularidad, mientras que otras se aplican sólo ocasionalmente. La organización de la Tabla Periódica es un ejemplo de Química Descriptiva. Por ejemplo, los elementos que aparecen en las columnas de la Tabla indican propiedades químicas similares, tales como la volatilidad, la formación estable de óxidos o su facilidad para oxidarse. En muchas ocasiones al analito se le puede liberar de las sustancias interferentes conociendo cómo se comporta frente a otras sustancias en **un equilibrio competitivo**. Los fundamentos del equilibrio competitivo tienen que dominarse para comprender el análisis químico. No sólo dependen de él los problemas relacionados con la preparación de muestras y eliminación de los interferentes, sino que también comprender el propio método de análisis puede depender de nuestro conocimiento del equilibrio implicado. El conocimiento de esta Química Descriptiva, con sus reglas y sus excepciones, es una de las características esenciales que distinguen a un analista experimentado de uno sin experiencia.

Después de *realizar los ensayos*, debemos tomar la decisión de qué tratamiento vamos a dar a los datos obtenidos. *El tratamiento de los datos* es parte del ensayo. La respuesta obtenida de un instrumento o método analítico *no da* una medida directa de la concentración de la sustancia en la muestra. Por ejemplo, podemos observar que se absorbe cierta cantidad de luz amarilla, o que la disolución de la muestra conduce la electricidad o que cambia el peso de la muestra cuando se la calienta. Cada método de análisis requiere cálculos diferentes para transformar los datos experimentales a la forma requerida: la concentración de analito.

Normalmente son las *pruebas estadísticas* las que nos ayudan a decidir si hemos dado una respuesta correcta al problema analítico planteado. Se necesitan análisis estadísticos de los resultados porque cada análisis y cada muestra que se analiza no son exactamente los mismos cada vez. Para evaluar estas variaciones, se tratan y se analizan tres o más réplicas de la misma muestra. Después, las medidas cuantitativas pueden indicarnos hasta dónde son fiables estos resultados.

La computadora hace sólo parte de nuestro trabajo más fácil: la adquisición de datos, tratamiento de datos, los análisis estadísticos y el registro de los datos. El resto aún requiere la habilidad y el juicio personal. Es importante recordar que el desarrollo de los análisis no representa siempre un camino derecho. Muchas veces es necesario volver atrás, a un paso anterior, debido a una dificultad no prevista. Mejorando lo realizado hasta el momento, un análisis puede cambiar porque resulta más fácil y menos costoso debido a



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 1-1

Todos los pasos cuentan

Hay tantas etapas en un método analítico que incluso en los análisis más simples la diferencia de resultados entre laboratorios es normalmente mayor que dentro de un mismo laboratorio. A continuación se describen los resultados de diez laboratorios comparando las medidas de alcohol en la sangre. Un término que quizás no resulte muy familiar es el de **resultado discrepante**. Para realizar un análisis, generalmente se mide varias veces la misma muestra. Después se realiza un promedio de todas las porciones. Si el resultado de una de las medidas es significativamente distinto del resto se denomina resultado discrepante y se descarta por no válido. Puede comprobarse la validez de los resultados discrepantes utilizando métodos estadísticos.

Una cuestión difícil de solucionar son las diferencias entre dos medidas supuestamente idénticas, realizadas en dos laboratorios diferentes. Este tema lo demostró un grupo de laboratorios públicos de Nueva Zelanda en un esfuerzo para reducir las discrepancias de valores proporcionados por distintos laboratorios en el contenido de alcohol en la sangre. A los laboratorios les costó mucho descubrir el ori-

gen de cada error, llegando al extremo de movilizar a sus analistas de un laboratorio a otro. Averiguaron que la variación del mismo analista era mayor cuando se le desplazaba a otro laboratorio, concluyendo que la única forma de reducir las diferencias entre laboratorios era la de realizar todos los análisis en un único laboratorio y preferiblemente por el mismo analista. Bajo nuestro sistema legal, esta solución es imposible, ya que a los acusados por causa de la evidencia del laboratorio, les ampara un derecho constitucional para obtener una evidencia de contraste en cualquier laboratorio que escojan. Por tanto, la pregunta importante en la evaluación de métodos analíticos es cuánta diferencia puede permitirse en la variabilidad de resultados entre laboratorios distintos; si la variabilidad o error producida por el método es excesiva —esto es, no permite una regulación efectiva como requiere el estatuto— entonces el método ha de considerarse inaceptable para el propósito deseado.

[Reference: HORWITZ, W. 1982. *Anal. Chem.* 54:67A-76A.] ■

la disponibilidad de una nueva técnica. Este proceso de resolver problemas se muestra con un ejemplo específico recogido en una publicación dedicada a la Química Analítica. Viene de la industria del petróleo y es la adaptación de un artículo de la revista *Analytical Chemistry* (*Anal. Chem.* 48 1976, 972A) donde se siguen los pasos de la Figura 1.1.

Se estaban acumulando algunos sólidos en el reactor de una planta de petroquímica que amenazaba con una parada total del proceso; esta acumulación venía acompañada por una elevada corrosión de los reactores metálicos. El problema *se definió* de la forma siguiente: ¿pueden eliminarse los sólidos? Basándose en experiencias anteriores los analistas pensaron que el problema podría deberse a la presencia de cloro, o de de azufre. La pregunta expuesta fue: ¿cuánta cantidad de cloro se produce en el sistema durante el proceso?

Los reactivos empleados en el proceso de síntesis se recogieron para un análisis de cloro. En el laboratorio de la empresa, se determinó el contenido de cloro por dos métodos distintos. En uno de ellos se cuantificó el cloro *total* de la muestra utilizando un método térmico de análisis, registrándose la temperatura de la muestra a medida que se iba calentando. En otro el cloro producido a partir de los compuestos organoclorados se

determinó utilizando un método electroquímico. Las *muestras se prepararon* de forma diferente según el método de análisis.

Después de realizadas las medidas de cloro, los *resultados numéricos* de ambos métodos fueron diferentes. El ensayo realizado para los organoclorados mostraba que no había dichos compuestos en la muestra. El análisis realizado utilizando el método térmico para determinar a totalidad de cloro presente mostraba valores aparentemente altos de cloro.

Utilizando el *análisis estadístico* en unas cuantas muestras, los analistas determinaron que los resultados dispares de los dos métodos no podían deberse a errores experimentales al azar. Se realizó una comprobación de interferencias. En el ensayo que utilizaba el método térmico se observó que estaba muy influenciado por unos niveles altos de azufre. Debido al problema no previsto, la metodología original se modificó. Cualquier cantidad de azufre presente en la muestra se eliminó antes de realizar el ensayo del método térmico. Después de esta modificación, los resultados de ambos métodos concordaban. Los químicos concluyeron que el problema no procedía de un exceso de cloro.

La *respuesta* a la pregunta original fue que los residuos y la corrosión procedían de los altos niveles de azufre en los reactivos. Hay algo más en esta historia, pero esta introducción sirve para ilustrar las vueltas que hay que dar a veces para resolver problemas de análisis químicos.

1.4. Un breve repaso a los patrones internacionales de medidas

Una **medida** indica la cuantía del tamaño de algo, especialmente si se lo compara con un estándar de referencia. Por ejemplo, el gramo se define exactamente como 1/100 de una masa estándar que se guarda en el Instituto de Pesos y Medidas de París. Se seleccionó para que fuera exactamente la masa de 1,000 mL de agua a la temperatura de su máxima densidad, 3,98 °C. Desde su definición original el valor de la masa del agua se ha medido con más precisión y difiere de la original en aproximadamente 3 partes por 10000. Sin embargo el gramo estándar se ha mantenido igual por ser su valor suficientemente cercano a todas las mediciones exceptuando las proporcionadas por los métodos de medida de más precisión. De forma similar se define el centímetro por un estándar. Finalmente, las escalas de grados Celsius y Kelvin se definen como 1/100 de la diferencia entre el punto de ebullición y de congelación del agua. Es interesante observar que estos tres patrones internacionales de medida están definidos arbitrariamente.

Se utilizan distintas unidades de medida para estados físicos diferentes y para diferentes intervalos de concentración. En general podría parecer un sistema muy complicado, porque dichas unidades de medida se desarrollaron en respuesta a diversas necesidades durante más de un siglo de esfuerzo. Se han hecho varios intentos para normalizar las unidades: así, el Sistema Internacional (SI) se está adoptando en forma gradual, y dependiendo de las zonas de utilización y de la antigüedad de la publicación que se lee, las unidades del SI puede que se utilicen o no. Como resultado puede que tengamos que convertir algunas unidades de medida a las que más nos puedan interesar.

Masa atómica

Las **masas atómicas** son una serie de números relativos; su valor absoluto depende del estándar definido, la masa del isótopo ^{12}C , al que se le asigna una masa de exactamente 12, y 1/12 de esta masa es la **masa atómica unificada**, que se designa por la inicial *u*. Actualmente éste es el término recomendado, aunque aún se utiliza la sigla UMA para

designar a la **unidad de masa atómica**. La unidad de masa atómica también recibe el nombre de **dalton** en recuerdo de uno de los químicos clave de la historia. Normalmente a las masas atómicas se las conoce como **pesos atómicos**. Puede argumentarse que el término *peso atómico* es menos correcto que masa atómica. Sin embargo, ordinariamente, en los análisis químicos no hay una diferencia importante.

Mol

Uno de los conceptos básicos de la Química es el **mol**, definido como un *número* específico de unidades o el *peso* que contiene ese número de unidades. Como número un mol contiene $6,0221367 \times 10^{23}$ partículas de cualquier tipo: un **número de Avogadro** de algo. Un mol puede utilizarse para referirse al número de átomos, iones, moléculas o unidades tales como un grupo de fórmula química. Un mol también se usa para designar la masa de $6,02213 \times 10^{23}$ unidades de fórmula química. Como masa, un mol es la masa del número Avogadro de partículas de la sustancia en *u* expresado en gramos. Su nombre común es el de **peso de fórmula**. Por ejemplo, exactamente 12 g de ^{12}C . Ésta es la definición utilizada para uso diario. Por otro lado, comúnmente se utilizan otras definiciones con las que debemos estar familiarizados. Si las partículas o unidades de fórmula son átomos, el peso de un mol se denomina **peso atómico** o **peso atómico gramo**. Si la partícula (o fórmula) es una molécula, al peso se lo llama **peso molecular** o **peso molecular gramo**. Los tres nombres diferentes pueden identificarse como p.f., p.a. y p.m., respectivamente.

Notación de prefijos

El intervalo de concentraciones y los tamaños de las muestras que pueden analizarse varían ampliamente y se benefician de un lenguaje para expresar estos intervalos. Medidas primarias como el metro o el gramo reciben nombres de prefijos en función de múltiplos de diez (Tabla 1.1). Por ejemplo, el prefijo kilo- significa mil veces la unidad de medida, como un kilogramo; sin embargo, para otras situaciones pueden requerirse unidades de medida mayores. Supongamos que deseamos medir la concentración de un elemento en un planeta. La masa de esta «muestra» es del orden de 10^{15} teragramos. Al lado opuesto de la escala se puede realizar el análisis de pequeñas cantidades de sustancias —en el intervalo del femtogramo o del atomol.

Tabla 1.1. Notación de prefijos

Exponente	Nombre del prefijo	Símbolo
10^{12}	tera-	T-
10^9	giga-	G-
10^6	mega-	M-
10^3	kilo-	k-
10^{-1}	deci-	d-
10^{-2}	centi-	c-
10^{-3}	mili-	m-
10^{-6}	micro-	μ -
10^{-9}	nano-	n-
10^{-12}	pico-	p-
10^{-15}	femto-	f-
10^{-18}	ato-	a-
10^{-21}	zepto-	z-
10^{-24}	yocto-	y-

Tabla 1.2. Unidades de concentración

Componente medido por	Muestra entera medida por el	Nomenclatura	Abreviatura
Peso*	Peso	Peso a peso	p/p
Peso*	Volumen	Peso a volumen	p/v
Volumen	Volumen	Volumen a volumen	v/v
Número	Volumen	Molaridad, Normalidad	M, N

*Masa es más correcto, pero el término *peso* se usa casi siempre en expresiones como «de peso a peso».

1.5. Unidades de concentración

Se emplean cuatro tipos fundamentales de nomenclatura para expresar la concentración de una sustancia en una muestra o disolución, como puede verse en la Tabla 1.2.

Unidades de medida de peso a peso

Las medidas **de peso a peso** (p/p) expresan la relación entre el peso de un componente y el peso del total. **Porcentaje en peso**, abreviado % (p/p), es la relación entre el peso de un componente y el peso de toda la mezcla, expresada en porcentaje. Así:

$$\% \text{ (p/p)} = \frac{\text{componente de masa}}{\text{muestra de masa}} \times 100$$

Las unidades de masa deben ser las mismas. Alguna vez % (p/p) se denomina **partes por ciento**.

Para describir fracciones más pequeñas se usa **partes por mil** (‰), partes **por millón** (ppm, p.p.m.), **partes por billón** (partes por 10^9 , ppb, p.p.b.)¹ y **partes por trillón** (partes por 10^{12} , ppt).

Una medida de peso a peso puede ser expresada también como una fracción. Por ejemplo: la muestra contiene $33 \mu\text{g}$ del ingrediente X/mg; también, $33 \mu\text{g}/\text{mg}$ equivale a 33 partes por mil. También se dan las siguientes equivalencias:

$$\begin{aligned} \text{partes por millón} &= \mu\text{g}/\text{g} \\ \text{partes por billón} &= \text{ng}/\text{g} \\ \text{partes por trillón} &= \text{pg}/\text{g} \end{aligned}$$

Para hacerse una idea intuitiva del tamaño de estas medidas, un ppm de 50 L (13 galones) de agua es una gota. Un cristal de sal de mesa de 0,5 mm de lado disuelto en media copa de líquido (250 g) da lugar a una disolución que tiene alrededor de una ppm de sal. La mitad de ese cristal salino dentro de su cuerpo contribuye como una ppm de iones de sodio. Si el cristal de sal de mesa fuera disuelto en una piscina de seis calles y 25 metros, llena de agua pura, ésta tendría 1 ppt de sal aproximadamente. Ser capaz de medir *cualquier* compuesto al nivel de ppt es, con toda seguridad, un logro tecnológico admirable.

¹ N. del T.: Billón americano es 10^9 .

Tabla 1.3 Unidades comunes utilizadas para expresar la concentración

Nombre	Abreviatura	Unidades usadas		
		p/p	p/v	v/v
partes por mil	%	mg/g	mg/mL	mL/L
partes por millón	ppm	$\mu\text{g/g}$	$\mu\text{g/mL}$	nL/mL
partes por billón	ppb	mg/kg	mg/L	$\mu\text{L/L}$
		ng/g	ng/mL	nL/L
		$\mu\text{g/kg}$	$\mu\text{g/L}$	

Medidas de peso a volumen

En la medida de peso a volumen, el peso de un componente se compara con el volumen total de la disolución. Las medidas de peso en gramos y de volumen en mL son las más habituales. Estas y otras medidas comunes se recogen en la Tabla 1.3.

Podemos ampliar el uso de las medidas p/v para incluir el porcentaje, escrito % (p/v), y también ppm (p/v) y ppb (p/v). Sin embargo, las medidas de ppm y ppb sólo pueden ser empleadas con unidades pasadas a g/mL o kg/L. Si no hubiera un acuerdo convencional sobre estas unidades, el uso de ppm y ppb sería ambiguo.

Como la densidad de los disolventes varía con la temperatura, la concentración expresada en peso a volumen varía con la temperatura de la disolución. Por esto es necesario saber la densidad de la disolución para realizar las posibles transformaciones.

EJEMPLO 1.1

Una disolución patrón de KI contiene 107,6 g de KI por litro de disolución. La densidad de la disolución a 20 °C es 1,0781 g mL⁻¹. ¿Cuál es la concentración de la disolución en % (p/v) y en % (p/p)?

Solución:

Para hallar el % (p/v) lo único que hemos de hacer es pasar el volumen en L a mL.

$$\begin{aligned} \% \text{ (p/v)} &= \frac{\text{g disolución}}{\text{mL solución}} \times 100 \\ &= \frac{107,6 \text{ g KI}}{10^3 \text{ mL}} \times 100 = 10,76\% \text{ (p/v)} \end{aligned}$$

Para asegurarse de que la conversión a % (p/v) es correcta, hay que tener cuidado con las unidades empleadas. Aquí la medida p/v de g KI mL⁻¹ se pasa a p/p multiplicando por mL g⁻¹, el recíproco de la densidad.

$$\begin{aligned} \% \text{ (p/p)} &= \frac{\text{g soluto}}{\text{mL disolución}} \times \frac{\text{mL disolución}}{\text{g disolución}} \times 100 = \frac{\text{g soluto}}{\text{g disolución}} \times 100 \\ &= \frac{0,1076 \text{ g KI}}{\text{mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{1,0781 \text{ g}} \times 100 = \frac{0,09981 \text{ g KI}}{\text{g disolución}} \times 100 = 9,98\% \text{ (p/p)} \end{aligned}$$

Una consecuencia útil de usar agua como disolvente es que las medidas de peso a peso y de peso a volumen son esencialmente equivalentes para soluciones diluidas. Por

ejemplo, los ppm (p/v) y ppm (p/p) pueden considerarse los mismos, porque un mL de una disolución acuosa diluida pesa cerca de un gramo. (Por definición, a 3,98 °C un cm³ de agua pesa exactamente un gramo.) Esta equivalencia entre disoluciones acuosas no se da entre otras disoluciones concentradas. Además, esta equivalencia claramente no se da si el disolvente no es agua.

Por último, otras medidas comunes p/v que seguramente nos resultan familiares son la **molaridad** y la **normalidad**.

Medidas de molaridad y normalidad

La molaridad se define como el número de moles de sustancia disuelta por litro de disolución. (Como un mol puede ser el peso de una sustancia, también es una medida del peso de la sustancia.)

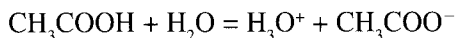
La normalidad se usa en dos áreas genéricas: análisis basados en reacciones ácido-base y basados en reacciones oxidación-reducción. La normalidad es una medida de **equivalentes**. El número de equivalentes en un mol de ácido o de base es el número de moles de protones que pueden ser efectivamente transferidos o aceptados por una molécula o ion. Al igual que la palabra *mol*, el término equivalente alude a la masa de ácido que puede transferir o aceptar un mol de protones. La normalidad de la disolución se puede relacionar con la molaridad multiplicando el valor de la molaridad por el número de equivalentes en un mol. Así, la ecuación general para la Normalidad es:

$$\text{normalidad} = \text{molaridad} \times \text{número de equivalentes mol}^{-1} \quad \text{(1-1a)}$$

Y para reacciones de ácido base:

$$\text{normalidad} = \text{molaridad} \times \text{número de protones transferidos o aceptados mol}^{-1} \quad \text{(1-1b)}$$

La fórmula del ácido acético es H₃CCOOH (o H₄C₂O₂). Cada molécula tiene cuatro protones. Sin embargo, el comportamiento ácido-base del ácido acético en agua indica que sólo se transfiere uno de ellos. Esto es:



En otras palabras, un mol de ácido acético tiene sólo un equivalente de protones para transferir al agua, por lo que la normalidad es la misma que la molaridad. Sin embargo, el ácido fuerte H₂SO₄ puede transferir fácilmente dos protones a una base. Una disolución de ácido sulfúrico 1-M contiene dos equivalentes de protones, y es una disolución 2-N.

En las reacciones oxidación-reducción el número de equivalentes es igual al número de moles de electrones que son efectivamente transferidos o aceptados en la reacción. La ecuación general para la normalidad en reacciones redox es:

$$\text{normalidad} = \text{molaridad} \times \text{número de electrones transferidos o aceptados mol}^{-1} \quad \text{(1-1c)}$$

Una de las ventajas de usar la normalidad como medida de concentración es que no es necesario tener en cuenta complicadas reacciones de transferencia de especies. Por ejemplo, en algunas reacciones muy complejas es difícil escribir ecuaciones para la(s) reacción(es) pertinente(s). Sin embargo, con la normalidad se puede estandarizar el reactivo para hallar los equivalentes de protones en un volumen dado.

Unidades de medida de volumen a volumen

Expresa el volumen de un componente por el volumen total de la disolución. Esta medida se expresa de la misma manera que los otros dos tipos: en tanto por ciento % (v/v), así como ‰ (v/v), ppm (v/v) y ppb (v/v). Se usa con más frecuencia para componentes líquidos de una muestra líquida o para componentes gaseosos de una muestra gaseosa. Algunas de las expresiones de las medidas de volumen a volumen se recogen en la Tabla 1.3.

Hay otra medida de volumen a volumen que se emplea en los análisis químicos. Se usa para la notación de proporciones: por ejemplo, 1:2 metanol-agua. Esto quiere decir que se mezcla un volumen de metanol con el doble de agua para hacer la disolución. Estas medidas se usan frecuentemente en las instrucciones para preparados de disoluciones ya mezcladas.

El pH y otras escalas logarítmicas

En 1909 el bioquímico danés Sven P. L. Sorensen inventó una escala que facilitaba la manipulación, cálculo y estudio de la amplia gama de iones de hidrógeno en una disolución. En lugar de escribir la concentración de protones $[H^+]$, decidió usar el logaritmo negativo de la concentración, $-\log [H^+]$. Actualmente usamos el $-\log a_{H^+}$ como medida y lo llamamos pH.

Consideremos los siguientes ejemplos: la concentración del protón de una disolución de ácido acético de 0,1-M, en agua y a 25 °C es 0,0013 M; la concentración de H^+ en agua pura es de $1,00 \times 10^{-7}M$; y una disolución de NaOH de 0,1-M tiene $[H^+] = 1,0 \times 10^{-13}M$. Es mucho más fácil escribir o hablar de los valores de equivalente de pH 2,89, 7,00 y 13,0, respectivamente.

Es importante notar que la definición que se ha dado de pH es teórica. La definición del pH, en cuanto que es medido, resulta de comparar la disolución analizada con una disolución estándar que posea un pH fijo, estable y conocido.

Por analogía con el pH, es práctica común usar el logaritmo negativo de otras cantidades. La operación de usar el logaritmo negativo de un número se indica escribiendo una «p» antes del símbolo. Por ejemplo:

$$\begin{aligned} -\log K &= pK \\ -\log[Ca^{2+}] &= pCa = pCa^{2+} \end{aligned}$$

Se incluyen varios problemas al final del capítulo, que nos ayudarán a practicar otra vez el manejo de estas medidas.

1.6. Experimentos y ecuaciones matemáticas

En cualquier ciencia, las relaciones cuantitativas se expresan matemáticamente mediante ecuaciones. Las ecuaciones vienen a ser sucintas expresiones de las ideas; realmente, son una taquigrafía numérica de las frases o párrafos que describen nuestro conocimiento general sobre relaciones experimentales.

Tomemos el caso de la ecuación del gas ideal. Expresa unas relaciones que han sido generalizadas a partir de datos experimentales.

$$PV = nRT \quad (1-2)$$

Los conceptos y la medición del pH se explican en el Capítulo 7.

donde

P es la presión de gas
 V es el volumen de gas
 T es la temperatura en K
 R es una constante de proporcionalidad
 n es igual al número de moles de gas existente

Y en palabras: la presión de gas multiplicada por su volumen es una constante, que depende de la temperatura. La ecuación es una descripción comprimida y simbólica del comportamiento determinado experimentalmente.

Sin embargo, conocemos el *significado* de la Ecuación 1-2 además de su expresión algebraica. Por ejemplo, sin necesidad de mirar la ecuación sabemos que el volumen de una cantidad fija de gas disminuye cuando la presión aumenta. Es posible que el lector haya realizado experimentos usando la ecuación para describir sus datos. Así se adquiere una buena comprensión, tanto del comportamiento físico de los gases simples, como de las relaciones algebraicas que describen ese comportamiento. Ése es el objetivo que debemos buscar en todas las ecuaciones.

La Ecuación 1-3 puede resultarnos menos familiar.

$$V_{\text{ruido}}(\text{rmc}) = \sqrt{4k_B TRB} \quad \text{voltios} \quad (1-3)$$

donde

$V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ es la raíz cuadrada de la media de los cuadrados ruido voltaje
 k_B es la constante de Boltzmann, $1,38 \times 10^{-23} \text{V}^2 \text{s} \Omega^{-1} \text{K}^{-1}$
 T es la temperatura en K
 R es la resistencia en ohmios (Ω)
 B es la anchura de banda en Hz

¿Cómo interpretar esta nueva ecuación? Primero hay que darse cuenta de que, aunque algunos de los elementos puedan parecer a primera vista oscuros, las relaciones matemáticas son sencillas. Para interpretar esta ecuación desconocida tenemos que identificar primero los elementos que ya conocemos. Luego trabajamos con los parámetros desconocidos, y nos preguntamos cómo y dónde vamos a buscar más sobre ellos. En otras palabras, si no tenemos experiencia previa sobre la ecuación, tendremos que ir de la expresión algebraica y simbólica a las características de los elementos que ésta describe.

Empecemos identificando las incógnitas más familiares para nosotros, k_B y T , que habremos visto en otros contextos. Como es normal, analizar las unidades de las variables resulta útil para comprenderlas mejor. La temperatura T está en Kelvin, esto es, grados de la escala de Kelvin. En nuestros experimentos, esperamos que su valor ronde los 300 K. Las unidades de $V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ se dan en voltios. Pero las unidades de k_B suponen un problema. En la tabla que está en el reverso de la portada de este libro, vemos que k_B es igual a $1,38 \times 10^{-23} \text{J K}^{-1}$. Estas unidades son útiles cuando se describe el comportamiento de los sistemas químicos. ¿Cómo pueden transformarse en los ohmios y voltios que aparecen en la ecuación? Se necesitan dos datos para establecer la relación. Primero, en las tablas de conversión para unidades de varios tipos encontramos que $1 \text{julio} = 1 \text{vatio} \cdot \text{s}$. El empleo de vatios nos lleva a las unidades de electricidad. Pero podemos meternos en un callejón sin salida si no estamos familiarizados con algunas ecuaciones sobre la electricidad. Por ejemplo, recordemos que nuestros antiguos libros de texto decían que la ley de Ohm establece lo siguiente: $V = IR$, el voltaje (en voltios) es igual al

producto de la corriente (en amperios) y la resistencia (en ohmios, abreviado Ω). También, la potencia eléctrica en vatios = IV . Al relacionar estas dos ecuaciones tenemos que $1 \text{ vatio} \cdot \text{s} = 1 \text{ V}^2 \cdot \Omega^{-1} \cdot \text{s} = 1 \text{ julio}$. Así que las unidades en k_B dadas en la ecuación equivalen en realidad a $\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$. Ésta es la razón por la que el valor numérico de k_B es el mismo, aunque las unidades hayan cambiado. Las unidades son también congruentes con la necesidad de hacer una raíz cuadrada para obtener los voltios.

La presencia de la variable R puede llevarnos a pensar que el experimento tiene algo que ver con medir el voltaje mediante algún instrumento que tenga resistencia eléctrica. También, los términos *ruido* y *rmc* pueden resultarnos desconocidos. Podemos buscar en el Índice la palabra *ruido*, e indagar sobre esas ideas más a fondo. Pero *rmc* no es una palabra identificable, por lo que quizás sea una abreviatura. Si buscamos *rmc* en la lista de abreviaturas (Apéndice VI), encontraremos que significa la raíz cuadrada de la media de los cuadrados de los valores medidos. Usar el valor de *rmc* es el medio más frecuente de medir el voltaje asociado a las corrientes alternas (AC).

Lo que resta por comprender de esta expresión es el ancho de banda B . Si tenemos alguna noción sobre los anchos de banda, por ejemplo en la espectrometría, podremos adivinar lo que significa la variable. Si este término es totalmente nuevo para nosotros, y queremos saber más sobre él, podemos mirar en el Índice donde se indica dónde encontrar más información. Sin necesidad de buscar los detalles de los orígenes de la ecuación, por lo menos deberíamos observar cómo varía el valor de $V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ en relación con las variables. Como nos muestra la ecuación, el voltaje aumenta sólo en la misma medida que lo hace la raíz cuadrada del ancho de banda y de la resistencia. Luego para reducir a la mitad el $V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ podríamos dividir bien la resistencia, bien el ancho de banda, entre cuatro.

Por último, cabe apuntar que la Ecuación 1-3 describe el comportamiento del **ruido de Johnson**, el cual determina el límite mínimo de ruido en muchas mediciones eléctricas. De la ecuación se deduce que el nivel de ruido desciende si reducimos la temperatura, o la resistencia, y/o reduciendo el ancho de banda.

Se puede ver más sobre el ruido y sus fuentes en los Capítulos 6 y 17.

Bibliografía recomendada

TOWNSHED, A. 1996. *Encyclopedia of Analytical Science*. Londres, Academic Press.

Una enciclopedia de Química Analítica en diez volúmenes, recién publicada.

INCZÉDY, J., LENGYEL, T., URE, A. M. 1998. *Compendium of Analytical Nomenclature, Definitive Rules 1997*. Osney Mead, Blackwell Science Ltd.

El título suena un poco aburrido, pero la información que se incluye es esencial para una comunicación clara, que *siempre* es importante. Aparecerán de vez en cuando informaciones más actualizadas en *Pure & Applied Chemistry*.

SETTLE, F. A., ed. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Upper Saddle River, NJ, Prentice-Hall.

Una guía de los métodos analíticos más importantes, completa, práctica y fácil de leer, publicada recientemente. Incluye los nombres de los suministradores, sus direcciones y números de teléfono.

POPPI, J. A. 1994. *Practical Techniques for Laboratory Analysis*. Boca Raton, Lewis Publishers.

Un manual de técnicas analíticas.

MEITES, L., ed. 1982 reimposición. *Handbook of Analytical Chemistry*. Nueva York, McGraw-Hill.

Un viejo clásico de la materia, lleno de información abreviada sobre técnicas de análisis por vía húmeda, en su mayor parte.

MALUDZIŃSKA, G. 1990. *Dictionary of Analytical Chemistry*. Amsterdam, Elsevier.

Un diccionario de términos usados en Química Analítica que puede ser útil. Las definiciones en inglés están también traducidas al alemán, francés, polaco y ruso.

GRASSELLI, J. G. 1983. *The Analytical Approach*. Washington D.C., American Chemical Society.

Conferencias y clases sobre casos prácticos de resolución de problemas empleando técnicas de Química Analítica.

RILEY, C. M., ROSANSKE, T. W. 1996. *Development and Validation of Analytical Methods*. Oxford, Pergamon.

Es un libro práctico sobre validación de nuevas drogas dentro de un ambiente regulador. La redacción es bastante lacónica.

KOLTHOFF, I. M., ELVING, P. J., eds. 1978. *Treatise on Analytical Chemistry*. 2ª ed., Nueva York, Wiley.

Un tratado completo sobre los métodos y la metodología de los análisis químicos aparecidos hasta su publicación. El tratado consta de: Parte I: Teoría y Práctica; Parte II: Química Analítica Elemental; y Parte III: Análisis de Productos Industriales. La Parte I de la primera edición está completa, pero significativamente desfasada (salió a la luz en 1959, y el último volumen apareció en 1976). La segunda edición es incompleta, pero empezó a editarse en 1978. La Parte II es una lista de métodos (con referencias) usados para cada

elemento, y todavía es útil. Sin embargo, *Chemical Abstracts* contiene referencias más actualizadas. El nivel de redacción varía.

KUWANA, T., ed. 1978. *Physical Methods in Modern Chemical Analysis*. New York, Academic Press.

Un conjunto de volúmenes con descripciones de métodos instrumentales de análisis. Son de un nivel intermedio, pero no demasiado simple. Los temas generales están bien. Las técnicas no están al día.

Revisión de conceptos

- ¿Cuál es la diferencia entre un *análisis de hierro* y un *ensayo para hierro*?
- ¿Qué se quiere decir con la *validación* de un método analítico?
- ¿Cuáles son los pasos fundamentales en el desarrollo de un nuevo método analítico?
- ¿En qué condiciones las medidas de peso/volumen y peso/peso son casi equivalentes?

Ejercicios

- Indicar cuál es la molaridad de Fe^{2+} en una disolución que contenga:
 - 75,6 μg FeCl_2
 - 62,4 ppm (p/v) $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$
- Para una disolución de 250 mL que contenga 0,250 g $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, calcúlense los siguientes valores:
 - % (p/v)
 - ppm (p/v)
 - molaridad
- El suero de la sangre de un niño contiene de 5 a 10 miliequivalentes de potasio/L. ¿Cuál es el intervalo de concentraciones (p/v) de potasio en ppm?
- ¿Cuántos mL de una disolución de HNO_3 cuya densidad es de 1,3393 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ y que contiene 55,00% HNO_3 por peso, se necesitan para preparar 1.800 mL de disolución de 0,3100 N?
- El agua se considera dura cuando contiene 100 ppm (p/v) de CaCO_3 .
 - ¿Cuántos mg de Ca^{2+} y cuántos mg de CO_3^{2-} hay en 0,5 L de una disolución de 100 ppm de carbonato cálcico?
 - ¿Cuál es la molaridad de la disolución?
- La cantidad de cloro en las piscinas que permite el Ministerio de la Salud es de 1 ppm. ¿Cuántos gramos habría en una piscina de 50×30 m con una profundidad media de 1,3 m?
- En muchos estados se considera que una persona está legalmente intoxicada si tiene 0,1% de etanol (v/v) en la sangre. ¿Qué volumen de etanol en la sangre es suficiente para producir una intoxicación legal en una persona de 70 kg con un volumen sanguíneo de 5,45 L?
- El compuesto 2,6-diclorofenol indofenol (p.m. 256), DCIF, en siglas, se usa en un análisis para determinar la cantidad de vitamina C. Se transfieren dos electrones por mol de DCIF en la reacción. Una disolución de 250 mL que contenga 15,0 mg de DCIF, ¿qué normalidad tiene?

$$12\text{H}^+ + 2 \text{IO}_3^- + 10 \text{e}^- = \text{I}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} \quad \text{redox}$$

$$\text{HIO}_3 = \text{H}^+ + \text{IO}_3^- \quad \text{ácido base}$$
- El ion de iodato puede recibir, así como ceder, un protón. Las reacciones generales para estos procesos son:

Si hay 5,2 g de KIO_3 en 1,00 L de disolución,

 - ¿Cuál es la molaridad de la disolución de iodato?
 - Para una reacción de oxidación-reducción, ¿cuál es la disolución de normalidad?
 - Para una reacción de ácido-base, ¿cuál es la normalidad?
- Los óxidos metálicos reaccionan con H_2O para producir el correspondiente hidróxido. Si se disolvieran 1,50 g de BaO en 200 mL de H_2O , ¿cuál sería la normalidad de la disolución básica?
- Explíquese cómo se prepararían 100,0 mL de una disolución de 1,00 ppb de Cd^{2+} , usando: agua desionizada, pipetas de 1,00 mL, matraz aforado de 100 mL, y una masa de nitrato de cadmio mayor que 10 mg.
- Si 25,00 mL de una disolución de HCl reaccionan con 0,2178 g de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ puro sustituyendo dos sodios, ¿cuál es la normalidad del ácido?
- Una disolución diluida de ácido sulfúrico tiene una densidad de 1,068 y contiene un 10% de (p/p) H_2SO_4 . ¿Puede usarse como un preparado para obtener 2,00 L de 0,5 M

de ácido sulfúrico? Si es así, ¿cuántos mL del 10% de la disolución de ácido sulfúrico se necesitarían?

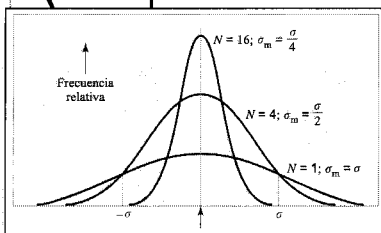
- 1.14.** Se quiere hacer una disolución especial alcalina; para ello se han disuelto 7,932 g de BaO, 3,976 de NaOH y 1,682 g de Na₂O en agua suficiente para obtener 1000,0 mL de disolución. Calcúlese la normalidad de la disolución con respecto a una valoración de ácido base.
- 1.15.** Calcúlese los gramos de disolución que se requieren para preparar 250 mL de las siguientes disoluciones:
- 0,100 M ftalato de hidrógeno potasio
 - 2,00 ppm (p/v) Na⁺ (usando Na₂CO₃)
 - 2,50 ppb (p/v) Cr³⁺ usando Cr(NO₃)₃
- 1.16.** Un neurofisiólogo está interesado en estudiar los efectos del calcio en el citoplasma de una neurita con una concentración de 1,5 μM en Ca²⁺ libre. ¿Cuál es el pCa_{libre} para la disolución?

- 1.17.** En algunos análisis instrumentales —particularmente en aquellos basados en la electroquímica— la medida es una función de fuerza iónica I , donde

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

Las variables c_i y z_i son la concentración y la carga iónica, respectivamente, de cada ion existente. Estas consideraciones son particularmente importantes cuando se emplean ácidos y sus sales como tampones. Por ejemplo, el fosfato y el citrato. En estos casos, la fuerza iónica depende del grado de ionización del material, que, a su vez, depende del pH.

- Calcúlese la fuerza iónica de una disolución de 0,100 M en NaCl.
- Calcúlese la fuerza iónica de la disolución resultante de mezclar a partes iguales 0,05 M de Na₂HPO₄ y 0,05 M de NaH₂PO₄ en agua. El pH de la disolución es 7,2.



Ensayos estadísticos y análisis de errores

Contenido

- 2.1. Introducción
- 2.2. Hallazgo de errores
- 2.3. Medidas de errores
- 2.4. Medidas absolutas y relativas
- 2.5. Precisión y exactitud
- 2.6. Errores aleatorios y distribución normal (gaussiana)
- 2.7. El límite de confianza
- 2.8. Estándares, pruebas en blanco y exactitud
- 2.9. Búsqueda de errores
- 2.10. Métodos inaceptables
- 2.11. Datos ponderados y diferencia entre dos medias
- 2.12. Propagación de la incertidumbre
- 2.13. Cifras significativas
- 2.14. Datos discordantes
- 2.15. La mediana
- 2.16. Mínimos cuadrados

Profundizando

- 2A. El test «F» para «comparación de varianzas»

2.1. Introducción

Cuando se llega a un resultado final, es muy útil poder decir cuál es la certeza de tal resultado. Todos usamos frases como «casi seguro», «muy seguro», «lo más probable» e «improbable» para expresar los diferentes grados de certeza. Sin embargo, el análisis químico necesita información más cuantitativa. La sustitución de estas frases, más bien indefinidas, se realiza utilizando los análisis matemáticos estadísticos.

En este capítulo trataremos de alguno de estos métodos estadísticos para la evaluación de los resultados experimentales. Primeramente, deberemos responder a las dos cuestiones siguientes:

- ¿Qué seguridad tenemos de que el valor experimental obtenido está próximo al valor real?
- ¿Qué seguridad tenemos de que el valor obtenido es igual (o diferente) a otros valores hallados en el análisis de la misma muestra, o a los valores hallados por otra persona o en otro momento?

La primera pregunta incide sobre la cuestión fundamental del análisis químico (y de todas las ciencias experimentales). La segunda es más importante en el área de las normativas nacionales o internacionales de la presencia (o ausencia) de sustancias químicas. La información aportada por diferentes análisis o laboratorios debe ser coordinada, y los resultados analíticos han de ser fidedignos. Si los resultados no fuesen fiables, las normativas carecerían de sentido. Evidentemente, es preferible que los resultados puedan ser intercambiados entre los laboratorios. Para ello, debemos hacer un esfuerzo para *validar* un método analítico. Validar significa cerciorarse de que el método desarrollado para determinar una sustancia específica (por ejemplo, vanadio) en una muestra específica (por ejemplo, un hígado de vacuno) produzca resultados comparables para la gran mayoría de los analistas. La validación es muy importante para un analista que trabaje solo, para un grupo de analistas que trabajen en un laboratorio o para grupos de laboratorios coordinando sus análisis.

2.2. Hallazgo de errores

Un punto crucial para la mejora de los análisis químicos será identificar dónde se producen los errores y cómo puede evaluarse su magnitud. Para ilustrar este aspecto, veamos un caso sencillo de un análisis típico de laboratorio, por ejemplo, la determinación del nivel de fenol (en peso y volumen) en un inhalador pulmonar mediante cromatografía líquida. No será necesario conocer profundamente este método cromatográfico.

Un sencillo análisis mediante cromatografía

Éste es uno de los análisis más sencillos: diluiremos una muestra líquida e inyectaremos en un cromatógrafo una pequeña cantidad de la misma, para determinar el nivel de fenol en un producto. Utilizaremos para ello dos pipetas automáticas, una para 1,00 mL y la otra para 10,0 μL . El procedimiento es muy simple. Añadiremos 1,00 mL de agua destilada y desionizada en un tubo de muestras junto con 10,0 μL del inhalador. Colocaremos el tubo en un portamuestras, y un autoinyector introducirá una cantidad fija en un cromatógrafo, donde, después de haber sido separado de los demás compo-

«La Química Analítica no la constituyen los espectrómetros, polarógrafos, microsondas electrónicas, etc., la constituyen la experimentación, la medición, desvelar los hechos y diseñar las deducciones.» [Ref.: West, P. W. 1974. *Anal. Chem.* 46(9): 784A.]

La cromatografía líquida se estudiará en el Capítulo 14.

nentes del inhalador, el fenol será analizado cuantitativamente por absorción luminosa a 210 nm.

En este procedimiento tan sencillo, como en *todos* los demás, la posibilidad de cometer errores aparece en *cada paso* del análisis. Estos posibles errores los llamaremos **fuentes de error**. Algunas posibles fuentes de error en el análisis descrito pudieran ser diferencias en los volúmenes medidos por ambas pipetas, diferencias en la cantidad de muestra inyectada por el autoinyector, o una relación errónea entre la concentración de fenol y la absorción de radiación. Otra fuente de error, quizás menos obvia, pudiera ser la mezcla de una muestra con otra en cualquiera de los equipos. A esta mezcla se la denomina **contaminación cruzada**. Por otra parte, también pudiera existir contaminación en alguno de los reactivos.

Ensayos estadísticos y análisis de errores.

¿Me encuentro al menos en el entorno?

¿Cómo podemos descubrir que hemos cometido un error? Después de todo, nadie conoce la cantidad exacta de fenol contenida en la muestra. Una manera de conseguirlo es aplicar el procedimiento a **muestras repetidas** o **réplicas**. Todas las réplicas se han de obtener de la misma muestra original. Si los resultados del análisis de dos réplicas del inhalador pulmonar fuesen similares, indicaría que no existen errores como los que anteriormente hemos mencionado. Si tomásemos el análisis de tres réplicas, todavía estaríamos más seguros. Cuanto mayor sea el número de experimentos que se llevan a cabo, mayor certeza tendremos de que el próximo experimento va a estar en el mismo entorno que los anteriores. La descripción estadística de certeza —que será introducida en las siguientes secciones— trae consigo un aumento de la confianza en el resultado promedio.

2.3. Medida de errores

Es importante reconocer que no se puede obtener la medida estadística de la calidad de un experimento a menos que se desarrollen series diferentes de análisis. Si únicamente se analiza una vez la muestra, deberemos tomar el valor medido como el resultado. Sin embargo, si realizamos una serie de mediciones a diferentes réplicas, será improbable encontrar que todos los valores son exactamente iguales. Esto se puede ver en el Caso 2-1, donde se representan los resultados de las pruebas de análisis de la aflatoxina. Si en cada caso obtenemos un valor diferente, ¿qué valor debemos tomar como resultado final del análisis? Un resultado numérico útil en una serie de pruebas será la **media aritmética** de los resultados individuales. La media aritmética de una serie se calcula dividiendo la suma de todos los valores entre el número de valores obtenidos. Esto matemáticamente se expresa como:

$$\bar{X} = \frac{\sum_i X_i}{N} \quad (2-1)$$

donde

\bar{X} representa la media aritmética,

X_i representa el resultado numérico del i -ésimo valor y

N es el número total de valores.



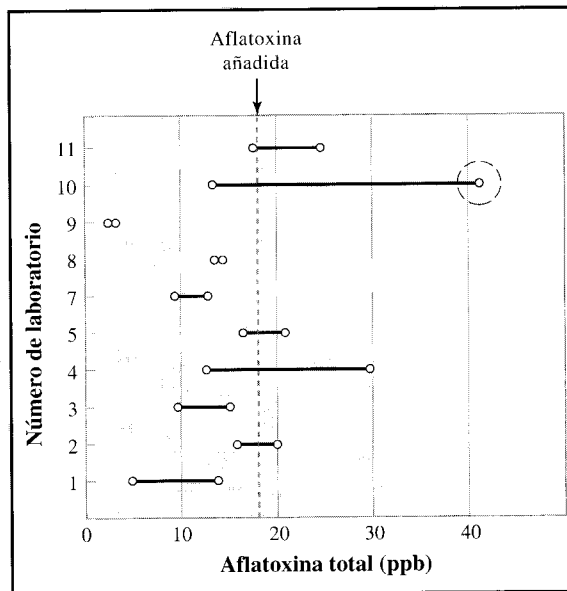
CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 2-1

¡No en mi barra de chocolate!

Aparentemente la variabilidad entre los valores obtenidos en diferentes laboratorios no se puede situar por debajo de un nivel mínimo. Los análisis realizados por varios laboratorios a lo largo de muchos años nos muestran que el error relativo entre laboratorios aumenta cuando la cantidad de analito disminuye. Uno de esos estudios utilizó un compuesto altamente cancerígeno: la aflatoxina, la cual se puede encontrar como un contaminante natural en los granos del cacao (utilizados para la elaboración del chocolate) o en los manises. A cada uno de diez laboratorios se les envió una muestra de granos de cacao sin contaminar, a la cual se le había añadido una cantidad fija y conocida de aflatoxina, para así conocer, comparando los resultados, la fiabilidad de los laboratorios. Cada laboratorio utilizó el mismo método analítico y efectuó dos análisis por separado de la muestra. Los resultados reportados se muestran en la figura. Se observa claramente que ninguno de los resultados proporciona la cantidad de aflatoxina adicionada a cada una de las muestras sin contaminar. En un informe realizado una década después, y tras realizar similares pruebas durante cientos de veces, se llegó a la siguiente conclusión:

... La tendencia de la precisión global... resulta casi idéntica a la que se presentó hace 10 años. No han habido mejoras en la precisión interlaboratorios para el análisis de aflatoxina en los últimos 20 años, a pesar de los avances tecnológicos... Las mejoras aparecen en la precisión de las medidas de cada laboratorio, lo que indica la necesidad de los laboratorios de referir sus medidas a estándares comunes y a operar bajo el escudo de un fuerte programa exterior de aseguramiento de la calidad...

... Los resultados contradictorios más frecuentes se producen en los niveles de concentración de 0-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, tanto para productos idénticos, como incluso para muestras idénticas. Esto sugiere un efecto aleatorio más que un fallo en las técnicas de medida experimental. La evidencia



▲ Gráfico de los resultados del estudio interlaboratorios para la determinación de aflatoxina en los granos de cacao.

La línea vertical (punteada) indica la cantidad de aflatoxina añadida por los supervisores del estudio a los granos no contaminados. Los círculos indican los valores obtenidos en las dos réplicas realizadas por cada uno de los 10 laboratorios que tomaron parte en el estudio. El valor con el círculo fue rechazado por ser un resultado discordante. Obsérvese que el laboratorio 9 produjo dos resultados muy cercanos el uno del otro, pero no próximos al valor real; el resultado era preciso pero no exacto.

sugiere que el límite práctico de la medida de aflatoxina se encuentra a concentraciones de $\mu\text{g}/\text{kg}$. El límite no se puede especificar con mayor exactitud, debido a la gran incertidumbre en las medidas a tan bajas concentraciones...

[Fig. Ref.: HORWITZ, W. 1982. *Anal. Chem.* 54:67A-76A. Reeditado con permiso de *Analytical Chemistry*. Copyright 1982 American Chemical Society.]

[Cita Ref.: HORWITZ, W., et al. 1993. *Journal of AOAC International* 76:461-491.]

EJEMPLO 2.1

Se analizó el contenido de proteína de un lote de producción de proteína Fe-Mo-nitrogenasa en 0,1 M de NaCl + disolución tampón de pH 7,35. Los valores que se encontraron en cinco muestras fueron 27,5, 28,3, 29,0, 28,5 y 28,2 mg proteína mL⁻¹. ¿Cuál es el valor medio del contenido de proteína?

Solución:

Basándonos en la Ecuación 2-1,

$$\begin{aligned}\bar{X} &= \frac{\sum X_i}{N} \\ \bar{X} &= \frac{(27,5 + 28,3 + 29,0 + 28,5 + 28,2)}{5} \\ &= 28,3 \text{ mg mL}^{-1}\end{aligned}$$

A menudo a la media aritmética se la denomina **media** o **promedio**. El cálculo de la media se ilustra con otro ejemplo de la Tabla 2.1.

La Tabla 2.1 muestra un test estadístico de varias pesadas de una muestra. Para llevar a cabo este experimento, la muestra se colocó en la balanza, se pesó y se descargó posteriormente de la misma. Este procedimiento se repitió tres veces más. Los resultados de las cuatro pesadas se muestran en la primera columna. El resultado de la suma de las cuatro pesadas es 12,4115 g. El peso medio \bar{X} resulta $12,4115/4 = 3,1029$ g, calculado según indica la Ecuación 2-1.

A continuación encontraremos nuevas definiciones. La **desviación con respecto a la media** d_i se define, para cada medida individual, como la diferencia entre cada medida del valor X_i y el valor medio calculado para todas las medidas, \bar{X} . Algebraicamente:

$$d_i = X_i - \bar{X} \quad (2-2)$$

(Tal y como se ha escrito aquí, generalmente se utilizan letras mayúsculas para referirnos a cantidades medidas, y minúsculas para referirnos a errores o diferencias.) Como ejemplo, se pueden ver los cálculos más representativos en la Tabla 2.1. En la tercera columna, se muestran los valores de las desviaciones de la media de cada pesada individual.

Tabla 2.1. Ejemplo de la evaluación estadística de una serie de pesadas

Desviación con respecto a la media

El **recorrido** es la diferencia, en magnitud, entre el mayor y el menor de los valores observados en una serie.

$$\text{recorrido} = w = X_{\text{superior}} - X_{\text{inferior}} \quad (2-3)$$

El recorrido en el ejemplo de la Tabla 2.1 es 0,0010 g, la diferencia entre $-0,0006$ y $+0,0004$.

La medida de la reproducibilidad de una serie de medidas más utilizada (y con más significado estadístico) es la **desviación estándar**. La desviación estándar es la raíz cuadrada de la **varianza**. La varianza se define en la Ecuación 2-4.

$$\text{varianza} = \frac{d_1^2 + d_2^2 + \dots + d_N^2}{N - 1} \quad (2-4)$$

$$\text{desviación estándar} = s = \sqrt{\frac{d_1^2 + d_2^2 + \dots + d_N^2}{N - 1}} \quad (2-5)$$

Otra medida estadística del error es la **desviación estándar relativa**, que es la desviación estándar expresada como una fracción o porcentaje de la media. Algebráicamente se expresa como:

$$\text{desviación estándar relativa} = \frac{s}{\bar{X}} \quad (2-6)$$

o bien

$$\text{tanto por ciento de la desviación estándar relativa} = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad (2-7)$$

Algunas veces el porcentaje de la desviación estándar relativa se expresa como **coeficiente de variación** (un nombre no recomendado para su uso; *Anal. Chem.* 1968, 40:2271).

EJEMPLO 2.2

Calcúlese la desviación estándar, la desviación estándar relativa y el recorrido para las muestras del Ejemplo 2.1.

Solución:

De la Ecuación 2-5, la desviación estándar es:

$$\begin{aligned} s &= \sqrt{\frac{\sum d_i^2}{N-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(-0,8)^2 + 0 + (+0,7)^2 + (+0,2)^2 + (-0,1)^2}{5-1}} \\ &= 0,5_4 \text{ mg mL}^{-1} \end{aligned}$$

La desviación estándar relativa (RSD) se define como

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{X}} = \frac{0,5_4}{28,3} = 0,02 \text{ (número sin unidades)}$$

El recorrido w se definió en la Ecuación 2-3.

$$w = X_{\text{mayor}} - X_{\text{menor}} = 29,0 - 27,5 = 1,5 \text{ mg mL}^{-1}$$

2.4. Medidas absolutas y relativas

En la sección anterior, definimos la desviación estándar y la desviación estándar relativa. La desviación estándar es un número: una **medida absoluta**. Sus unidades son las mismas que las de los valores medios, como g mL^{-1} . La desviación estándar relativa es un cociente entre la desviación estándar y el valor medio. La desviación relativa será, por tanto, un valor *sin unidades*.

La mayoría de los datos en Química Analítica se expresan con estas relaciones. Estos valores se denominan relativos. Cuando veamos la denominación *relativa*, indicaremos un cociente entre dos números que poseen las mismas unidades. Por ello, los valores relativos no tienen unidades. Los valores absolutos y relativos están relacionadas por:

$$\text{relativo} = \frac{\text{absoluto}}{\text{valor medio}} \quad (2-8)$$

Se observa que los valores relativos y absolutos se pueden relacionar fácilmente.

2.5. Precisión y exactitud

Hasta ahora, sólo hemos considerado la difusión o **dispersión** de los datos de los resultados analíticos. Cuando la dispersión de los datos obtenidos experimentalmente es pequeña, decimos que la **precisión** es alta. La desviación estándar de una serie de medidas es una medida cuantitativa de la dispersión. La desviación estándar es pequeña cuando la precisión del experimento es elevada.

Sin embargo, todavía no hemos considerado si el valor medio, calculado a partir de una serie de datos experimentales, se acerca a la cantidad *presente realmente* en la muestra. En otras palabras, la precisión de los datos no nos responde a la pregunta de: ¿cuánto se acerca el valor medio al valor real en los análisis?, o expresado de otro modo: ¿cuál es su **exactitud**?

La diferencia entre precisión y exactitud se observa claramente en la Figura 2.1, donde se muestran cuatro combinaciones diferentes. Los valores de los cuatro experimentos se muestran como puntos a lo largo del eje x . Los dos primeros dibujos muestran una alta precisión en los resultados. Sin embargo, el valor medio en el segundo dibujo está lejos del «valor real»; el valor medio tiene poca exactitud, pero mucha precisión. Pero, ¿cómo es posible que esto ocurra?

Una posibilidad puede provenir de que en todas las muestras algún otro componente reaccione de la misma manera que el componente buscado: un interferente. Esto mismo ocurría en el ejemplo del Capítulo 1 cuando, en el método utilizado para determinar cloro, el tiol contenido en las muestras reaccionaba de la misma manera que el cloro. Debido a que todas las muestras contenían la misma cantidad de tiol, el análisis arrojaba siempre un resultado demasiado alto para una cantidad constante. Por mucha que fuera la precisión del método analítico, el resultado era siempre inexacto.

La diferencia entre el «valor real» del analito y el valor medio de los resultados analíticos obtenidos en las series se denomina **error absoluto**, abreviado como E_m . El error absoluto tiene las mismas unidades que la medida realizada (por ejemplo, g L^{-1}), e incluye un signo (+ o -). Cuando el error absoluto se expresa como un porcentaje de un resultado real se denomina **error relativo**. Tal y como sugiere la palabra *relativo*, no tiene unidades. (No ha de confundirse error relativo con desviación estándar relativa, definida en la Ecuación 2-6.)

Es importante comprender que desde un punto de vista puramente estadístico, no existe el concepto de error absoluto ya que el «resultado real» o el «valor real» no se

Un ejemplo de la naturaleza de los «resultados reales» se puede consultar en McFarren, E. F., *et al.* 1970. *Anal. Chem.* 42:358-365.

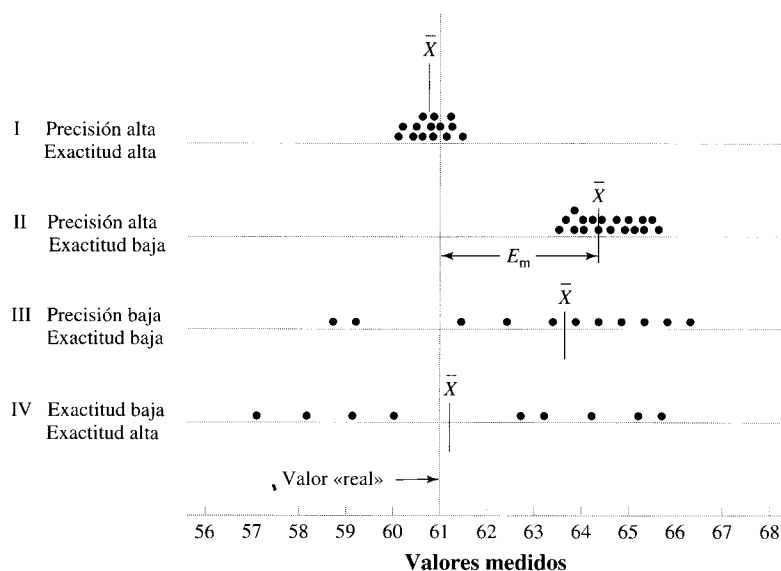


FIGURA 2.1 ▲
Muestra de la exactitud y de la precisión.

Cuatro dibujos con los valores de los resultados de cuatro series de pruebas. Los puntos indican los valores de los resultados de cada experimento individual. Convenimos que el «valor real» es conocido e igual a 61.

\bar{X} es el valor medio de cada serie de experimentos I-IV.
 E_m se denomina error absoluto.

El error absoluto relativo es E_m/\bar{X} o, como porcentaje, $(E_m/\bar{X}) \times 100$.

conocen nunca. Sin embargo, podemos aproximarnos a la «verdad» con experimentos diseñados para su validación.

Una aproximación válida podría ser mezclar completamente y en las mismas proporciones, diferentes reactivos altamente puros para producir una muestra igual a la que se están analizando.

Estas muestras «artificiales» y perfectamente conocidas se analizan exactamente de la misma manera que las muestras desconocidas, hasta que encontremos que una mezcla nos ofrece los mismos resultados que la muestra desconocida. Como podemos imaginar, esta labor de aproximación es tediosa, siendo posible conseguir aproximaciones experimentales más sencillas.

Generalmente, el error absoluto entra dentro de la categoría de **errores sistemáticos**. *Sistemático* nos indicará que se origina por una causa fija. Un error sistemático en un análisis es o bien únicamente alto o bien únicamente bajo cada vez que se efectúe el análisis. Al error sistemático también se le puede denominar **error determinado**. Por otro lado, los errores para los cuales utilizamos la desviación estándar como medida serán **errores aleatorios**, los cuales se originan debido a causas arbitrarias o indeterminadas. En un análisis, los errores arbitrarios producen valores a veces altos o a veces bajos.

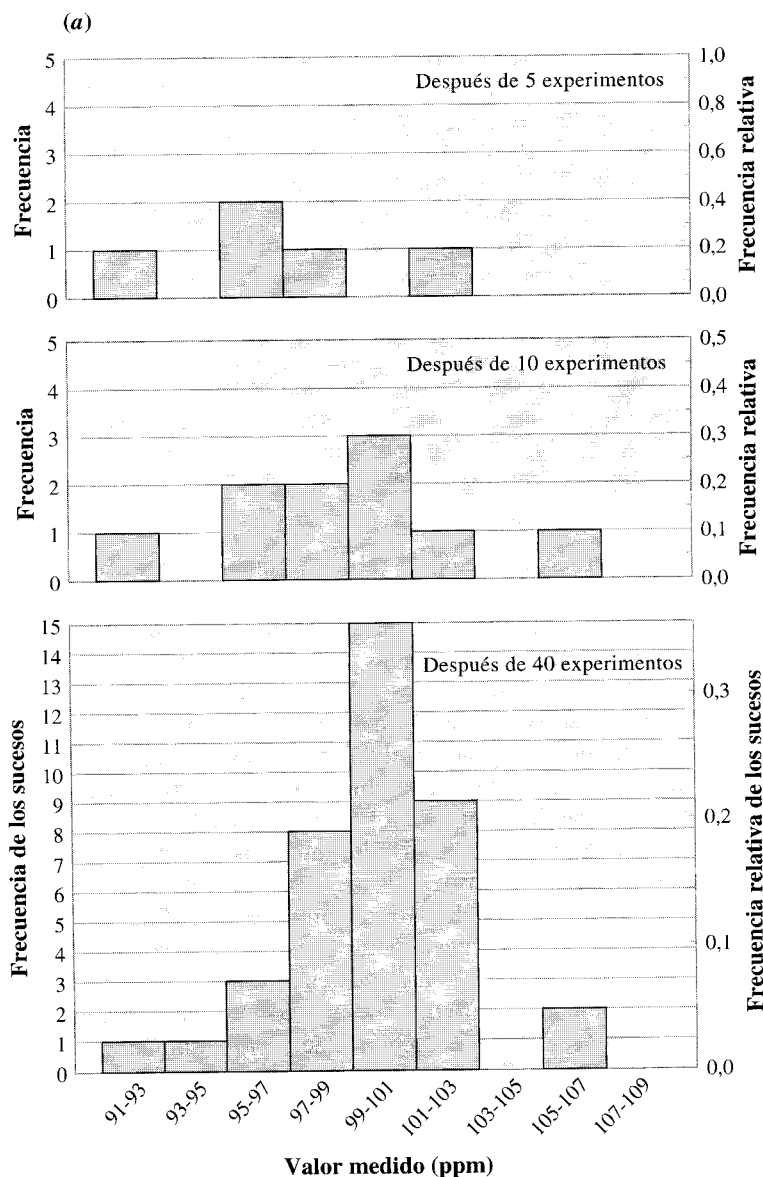
2.6. Errores aleatorios y la distribución normal (gaussiana)

Cuando varios sucesos o errores aparecen de forma aleatoria, éstos son independientes unos de otros. Un ejemplo de sucesos aleatorios es la aparición de caras o cruces des-

pués de lanzar una moneda al aire. La mitad de las veces el resultado será cara y la otra mitad será cruz. El resultado de un lanzamiento no tiene ningún efecto sobre el siguiente; son independientes.

Cuando los errores en una medida son aleatorios, los valores tienden a distribuirse de una forma característica a ambos lados del valor medio. El siguiente estudio sobre la Figura 2.2 muestra la naturaleza estadística de esta distribución.

Primero, se analizan diferentes réplicas del mismo material. Tal procedimiento es similar a realizar la pesada de la misma masa repetidas veces, tal y como se describía en la Sección 2.3. Con los resultados obtenidos podemos calcular el valor medio, y seguidamente las desviaciones de la media de cada una de las medidas. Asumiremos para nuestro razonamiento que se han realizado las medidas 40 veces diferentes. Este número de experimentos se debería utilizar cuando se valide un método nuevo de aná-



◀ FIGURA 2.2
Gráficas de los resultados de una serie de 40 experimentos clasificados en grupos adyacentes de valores.

(a) Cada barra tiene un intervalo de 2 ppm. La altura de cada barra representa en número de resultados en cada intervalo. Se representan dos ordenadas diferentes, la frecuencia del suceso y la frecuencia relativa del suceso. El valor medio es 100 ppm. Tal y como se muestra en el histograma, los resultados se muestran con 5, 10 y 40 experimentos

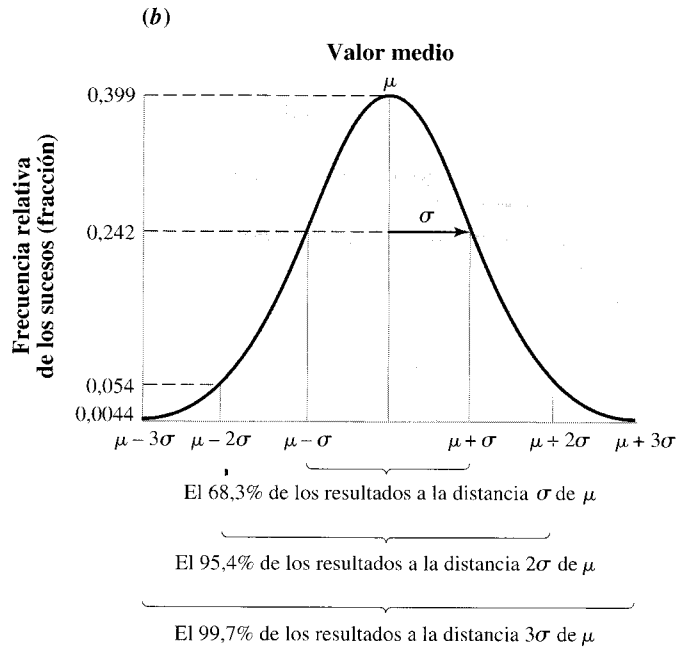


FIGURA 2.2 (cont.) ▲

(b) Para un número muy alto de resultados, la distribución de los resultados se aproxima a un curva gaussiana que se caracteriza por la desviación estándar σ y un máximo en el valor medio. Si establecemos que el área bajo la curva sea igual a la unidad (curva gaussiana normalizada), entonces la altura del pico alcanza el valor 0,399. En una curva **normalizada**, cuando nos separamos una distancia σ del máximo, obtenemos un valor igual a 0,242 en el eje vertical. Cuando la separación es de 2σ el valor del eje vertical es 0,054, y de 0,0044 cuando nos separamos 3σ . Tras dibujar la curva debida a los resultados de las diferentes réplicas de una muestra, se espera que para nuevos experimentos con el mismo material:

- el 68,3% de los resultados se encuentre dentro del intervalo σ y
- el 95,4% de los resultados se encuentre dentro del intervalo 2σ .

Estos porcentajes son iguales a los porcentajes de las áreas bajo una curva normalizada entre $-\sigma$ y $+\sigma$, respectivamente.

lisis. Sin embargo, para procedimientos de rutina, raramente se utilizan más de cuatro réplicas.

Tal y como se muestra en la Figura 2.2a, se tomaron y evaluaron los datos después de obtener los resultados de las primeras 5, las primeras 10 y finalmente las 40 réplicas. Posteriormente se clasificó a cada uno de los valores experimentales dentro de un grupo, en función de la lejanía de su valor al valor medio. Cada grupo tiene igual intervalo de error —la diferencia entre el valor mayor y el valor menor—. Los datos se representaron en un gráfico de barras. El gráfico muestra el número de experimentos cuyo resultado se encuentra dentro de cada uno de los intervalos frente a los valores experimentales. Este tipo de gráfico se denomina **histograma**. El valor medio es de 100 ppm, y cada barra del histograma tiene una anchura de 2 ppm.

En el histograma, la altura de cada barra es proporcional al número de sucesos en cada intervalo, de manera que podemos nombrar la escala de la izquierda como *número de experimentos*. Como las barras son todas iguales en anchura, el área de cada una de ellas es también proporcional al número de experimentos con valores dentro de ese intervalo. Por consiguiente, el área total de las barras será proporcional al número final de experimentos; en nuestro caso, 5, 10 y 40.

Otro modo de tratar los datos es establecer que la suma de las áreas de todas las barras sea igual a la unidad. La escala de la izquierda entonces pasa a ser la *proporción de los experimentos realizados* o la *frecuencia relativa de un suceso*. El área de cada

barra será entonces proporcional a la fracción de los experimentos que tienen el error en el intervalo dado. (Véase la escala derecha de las gráficas.)

Otra característica que se puede observar en estos histogramas es la *tendencia* de las barras a decrecer en altura según nos alejamos de la media. El número de errores en cada grupo tiende a disminuir cuando aumenta la desviación de la media (cuando el grupo está más lejano de \bar{X}). Esto se puede observar más claramente en el histograma con los 40 análisis. Sin embargo, la distribución esperada no tiene por qué observarse con unas pocas medidas, tal y como se observa en los histogramas con 5 y 10 réplicas.

El tratamiento estadístico de los errores aleatorios es levemente diferente a dibujar un histograma y calcular las frecuencias relativas de los sucesos frente a la desviación. La diferencia principal consiste en que el error estadístico se calcularía si hubiese un número infinito de experimentos; cada intervalo sería infinitamente estrecho. En este caso, la distribución de los errores aleatorios sobre la media podría ser descrita mediante una curva de **error gaussiana**, tal y como se observa en la Figura 2.2b. Otros nombres para esta curva son: curva de **error normal** o curva de **distribución normal**. De otro modo expresado, la curva que se muestra en la Figura 2.2b engloba la distribución de resultados cuando se realizan un gran número de análisis.

El eje- x es la escala de los valores experimentales. El valor medio se encuentra en el pico de la curva. La altura de la curva es una representación de la probabilidad de que un resultado experimental tenga el valor anotado en el eje- x . Obsérvese que los errores pueden ser positivos o negativos a partir del valor medio. Denominaremos como μ al valor medio de la curva gaussiana. Éste es el valor límite de \bar{X} para un número muy elevado de análisis.

Propiedades de las distribuciones gaussianas

La curva gaussiana viene caracterizada por el parámetro σ . Observamos que σ puede relacionarse con s , la desviación estándar para un número pequeño de datos (definido en la Ecuación 2-6). El parámetro σ también se denomina desviación estándar, pero para un número muy alto de datos. La Ecuación que describe la curva gaussiana es:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-[(x-\mu)/2\sigma^2]} \quad (2-9)$$

donde

- x es el valor experimental resultante,
- μ es el valor medio, localizado en el pico de la distribución,
- σ es un parámetro que describe la anchura relativa de la curva, y
- $(x - \mu)$ es la desviación de un resultado de la media.

En los tratamientos estadísticos de los errores, la altura de la curva gaussiana no es tan importante por sí misma como las *áreas* bajo los intervalos a lo largo del eje x . Tal y como se ha referido en los histogramas de la Figura 2.2a, el área total bajo la curva gaussiana puede ser asociada con el número total de experimentos. Por ello, cualquier *porción* de área bajo la curva equivaldrá a una porción del número total de experimentos.

La ventaja, desde un punto de vista estadístico del error, es la posibilidad de relacionar la desviación estándar de una *serie* de datos con la desviación estándar de experimentos *individuales*. Tal relación es una llave importante para entender los resultados de los análisis químicos.

Desde ahora podemos relacionar la desviación estándar (Ecuación 2-6) con la medida estadística de certeza. *Para un «gran número» de experimentos idénticos, la distribu-*

ción de los resultados puede aproximarse a una curva gaussiana centrada en el valor medio. Con ello podremos esperar en los próximos experimentos que:

- el 68,3% de los resultados se encuentran dentro de una vez la desviación estándar de la media,
- y el 95,4% de los resultados se encuentran dentro de dos veces la desviación estándar de la media.

Las áreas correspondientes a esos intervalos se muestran en la Figura 2.2b. Tengamos en cuenta que estas relaciones se aplican para un número de experimentos mucho mayor que el que habitualmente utilizamos en el análisis de diferentes réplicas.

2.7. El límite de confianza

Desde el principio, un razonamiento nos acerca a nuestra idea intuitiva de confianza: Cuantas más réplicas se analicen, tanto más probable será que el próximo resultado se encuentre en el mismo intervalo que los resultados anteriores, afianzando el valor medio calculado. Sin embargo, este aumento en la probabilidad se desvanece después de un cierto número de réplicas, ya que, después de sucesivas repeticiones, caemos en la sensación de que la repetición del análisis es algo absolutamente tedioso.

En otras palabras, una única determinación nos deja sin pistas de la certeza de ese resultado. Dos determinaciones nos ayudan, pero solamente después de tres o más estaremos más seguros de los resultados. El cálculo estadístico del **límite de confianza** cuantifica esta idea intuitiva. Además, los cálculos estadísticos nos permiten determinar cuántas réplicas serían necesarias para asegurarnos de que el valor medio permanecerá dentro de un intervalo específico de valores.

La esencia del cálculo del límite de confianza estriba en relacionar la desviación estándar de un resultado individual, σ , con la **desviación estándar con respecto al valor medio**, σ_m . Esta relación se ilustra en la Figura 2.3. En un análisis, σ_m es lo que se desea conocer; σ_m nos indica la calidad del valor hallado en el análisis. Otro nombre para la desviación estándar σ_m es el de **error de la media**. (No debe confundirse con *error absoluto o desviación con respecto a la media*, definidas anteriormente). Por desgracia, tanto σ_m como σ tienen el nombre de desviación estándar. Tendremos que mantener claras sus diferencias.

Límites de confianza cuando se conoce σ

Aunque las Figuras 2.2 y 2.3 son ambas gaussianas, muestran diferentes conceptos. La Figura 2.2. refleja los valores de los datos obtenidos.

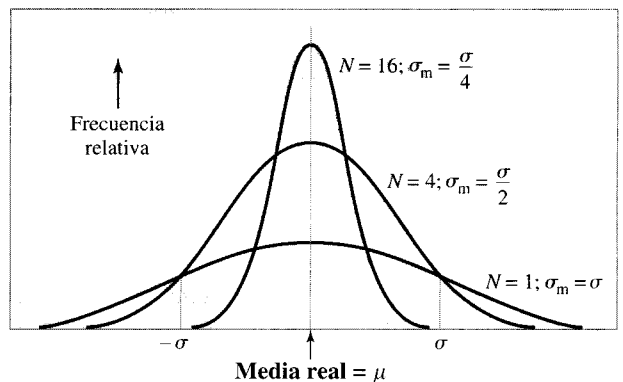


FIGURA 2.3 ►
Ilustración de cómo la desviación estándar con respecto a la media, σ_m , varía con el número de experimentos realizados, N .

Cada experimento tiene un error aleatorio de magnitud σ . El valor de σ_m decrece cuando lo hace el número de pruebas, pero decrece como $N^{1/2}$. La razón por la que σ_m puede ser menor que σ es que el promedio de los errores individuales tiende a cero cuantos más experimentos se realicen.

La Figura 2.3 muestra cómo la incertidumbre del valor medio disminuye cuando aumenta el número de resultados.

En un caso sencillo, asumamos que conocemos la desviación estándar asociada con cada réplica. La relación entre el error de la media y la σ asociada con cada medida viene dada por:

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \quad (2-10)$$

donde N representa el número de medidas realizadas. De manera sencilla, la idea intuitiva de la relación entre el aumento de la certeza y el aumento del número de réplicas analizadas se plasma en materia estadística como una relación con la raíz cuadrada del número de experimentos. De esta manera, de acuerdo con esta ley de la estadística, únicamente tendremos el doble de certeza sobre la media si analizamos 16 réplicas ($N = 16$) que si lo hacemos en 4 ($N = 4$). Esta dependencia de la raíz cuadrada de la precisión de la media nos ofrece una relación muy importante, tal y como observaremos en múltiples ocasiones.

Por otra parte la dependencia de la raíz cuadrada de N es también coherente con nuestra intuición de que casualmente se acortan los cuadros estadísticos cuando el número de datos aumenta. De otro modo, solamente doblamos la precisión cuando aumentamos en cuatro veces el número de datos.

Después de estudiar la Figura 2.3, debemos preguntarnos si alguna vez el error de la media σ_m puede ser menor que σ , error aleatorio medio de cada ensayo. Para responder a esta cuestión, recordemos que el resultado de cada ensayo individual puede ser aleatoriamente alto o bajo comparado con el «valor real». Por ello, cuantas más réplicas se analicen, los errores aleatorios tenderán a desaparecer; el promedio de los errores individuales tenderá a cero. Sin embargo, la Ecuación 2-10 establece que los errores aleatorios promediados tienden a cero de manera $N^{1/2}$.

Tomando la sencilla idea que nos expresa la Ecuación 2-10, podemos establecer una definición cuantitativa de confianza. Para cualquier gaussiana, la teoría nos dice que tenemos un 68,3% de confianza de que la media se encuentra dentro σ_m . También podríamos estar seguros de que la media se encuentra un 95,4% de las veces dentro del intervalo de $2\sigma_m$ del valor medio, determinado mediante las medidas realizadas. Una vez más, se reconoce que la confianza de σ_m depende del número de muestras analizadas.

El límite más común de confianza, o **intervalo de confianza**, se establece en el nivel del 95%. Se escribe como 95% L.P. y se nombra como **límite de confianza del 95%**. El intervalo que contiene el 95% del área de la curva debe situarse dentro de algo menos que $2\sigma_m$ ya que $2\sigma_m$ incluye al 95,4% de los resultados. De hecho, el intervalo se encuentra en el entorno de $1,96\sigma_m$. Por ello:

$$\text{media} \pm 95\% \text{ L.P. para } \mu = \bar{X} \pm 1,96 (\sigma/\sqrt{N})$$

Cuando se conoce σ (2-11)

Necesitamos conocer dos características de la Ecuación 2-11. Primero el paréntesis contiene el valor σ_m ya que $(\sigma/\sqrt{N}) = \sigma_m$. También, el límite de confianza ofrece una medida cuantitativa de la idea intuitiva de que si el intervalo circundante fuese más ancho, tendríamos más confianza de que el valor real se encuentra dentro de ese intervalo.

Límites de confianza cuando se desconoce el error σ

La Ecuación 2-11 no tiene aplicación en la mayoría de los análisis químicos, debido a que el valor del error aleatorio promedio para cada experimento, σ , raramente se conoce.

Tabla 2.2. Valores de t^* y (t/\sqrt{N}) para usar la Ecuación 2-12

Número de medidas utilizadas para determinar \bar{X} N	Grados de libertad	t para el 95% L.P.	$\frac{t}{\sqrt{N}}$
2	1	12,71	8,99
3	2	4,30	2,48
4	3	3,18	1,59
5	4	2,78	1,24
6	5	2,57	1,05
7	6	2,45	0,936
8	7	2,36	0,831
9	8	2,31	0,77
10	9	2,26	0,71
20	19	2,09	0,467
30	29	2,04	0,372
120	119	1,98	0,180
∞	∞	1,96	—

* Para tablas con otros valores de L.P. —80%, 90% y 99%—, consultar el Apéndice I.

Aun así, la Ecuación 2-11 puede ser modificada para aplicarse a la situación donde σ_m y σ sean *ambos* desconocidos. Tal y como podemos sospechar, tendremos menor certidumbre en este caso. Para reflejar esta disminución en la certidumbre, se sustituye en la Ecuación 2-1 el valor 1,96 por un factor t . El valor de t para el 95% L.P. será siempre mayor que 1,96, ya que N no es infinito. Por tanto, debemos sustituir s (Ecuación 2-6) por σ en la Ecuación 2-11. Así, cuando σ sea desconocido, se utilizará la siguiente ecuación:

$$\text{media} \pm 95\% \text{ L.P. para } \mu = \bar{X} \pm t(s/\sqrt{N}) = \bar{X} \pm (t/\sqrt{N}) \cdot s$$

cuando se desconoce σ (2-12)

Los valores de t y (t/\sqrt{N}) pueden verse en la Tabla 2.2. Nótese que t es muy grande para valores pequeños de N , pero se aproxima a 1,96, como en la Ecuación 2-11, cuando el número de análisis es muy alto. Esta tendencia en los valores de t nos lleva a razonar que si N es muy alto, no importa que la magnitud de σ sea desconocida, ya que los errores tienden a cancelarse y tienden al mismo límite que conociendo los valores de σ . De esta manera, la desviación estándar s (tal y como se define en la Ecuación 2-6) se transforma suavemente en σ .

EJEMPLO 2.3

Calcúlese el 95% del L.P. para el ejemplo de las cuatro pesadas de la Tabla 2.1.

Solución:

De la Tabla 2.1 tomamos el valor de $0,0004_6$ para s . El valor de (t/\sqrt{N}) lo encontramos en la Tabla 2.2. Ya que desconocemos el valor del error σ , utilizaremos la Ecuación 2-12. Así:

$$95\% \text{ L.P.} = 0,0004_6 \cdot (t/\sqrt{N}) = 0,0004_6 \cdot 1,59 = 0,0007$$

Y el resultado puede expresarse como:

$$\text{peso} = 3,1029 \pm 0,0007 \text{ g (media} \pm 95\% \text{ L.P.)}$$

Como punto final de esta sección recordemos que tanto el límite de confianza como la desviación estándar de la media son únicamente medidas que muestran la precisión, no la exactitud.

2.8. Estándares, ensayos en blanco y exactitud

En esta sección consideraremos la causa de los errores sistemáticos y su prevención. Los errores sistemáticos provienen del método analítico; su presencia o ausencia y su magnitud determinan la exactitud de la medida analítica.

Para decir que un resultado es *exacto*, el «valor real» y el valor medio determinado experimentalmente \bar{X} han de ser iguales dentro de unos límites especificados. Una *baja* o *alta exactitud* nos mostrará cómo el valor de la media difiere del «valor real». Como dijimos anteriormente, esta diferencia se denomina error absoluto E_m , (Figura 2.2). No se debe confundir con la desviación con respecto a la media, definida en la Ecuación 2.2.

Los errores que causan inexactitud se han de eliminar de la técnica experimental, o al menos han de ser mitigados mediante un análisis correctivo, ya que como consecuencia de este error los resultados del análisis no se corresponderán con la cantidad obtenida. Esta idea puede entenderse de manera elemental. En la práctica, resulta complicado contabilizar todas las causas de inexactitud. El análisis del inhalador del principio del capítulo nos mostró alguna de las posibles causas.

La determinación de la exactitud de un método es parte de su validación. Para desarrollar un nuevo método analítico se ensayan muestras conocidas con diferentes concentraciones del analito. Tales muestras, con esas cantidades *conocidas*, que se utilizarán para realizar posteriores análisis, se denominan estándares. Si los resultados analíticos están en consonancia con los estándares, se confirmaría la exactitud del método. Este proceso se denomina **calibración**. Por supuesto, cualquier análisis se debe llevar a cabo primeramente con muestras estándares antes de verificar resultados de muestras desconocidas.

Se necesita otro tipo de muestra para realizar la calibración de cualquier método: el **análisis del blanco**. El blanco contiene todos los componentes de la muestra *excepto* las sustancias objeto del análisis. La muestra blanco se somete a todos los pasos del procedimiento como si fuese una muestra normal. Los resultados nos permitirán elucidar las posibles interferencias que afecten a la exactitud.

Un concepto que engloba los estándares, las muestras blanco y las muestras con un contenido o comportamiento bien caracterizado es el **control**. Los controles deben ser utilizados para investigar el efecto de interferencias específicas. En análisis bioquímicos, se utiliza la palabra *control* en vez de muestra *blanco*, ya que la sustancia o solución puede ser tan complicada que el concepto muestra *blanco* resulte inaplicable.

Se pueden conocer las causas de una exactitud deficiente mediante el control de los análisis y la utilización de muestras blanco. Así, haciendo buen uso de la química descriptiva y desarrollando variaciones perfectamente conocidas en instrumentos versátiles, se pueden explorar cambios en las técnicas de análisis para eliminar o reducir los errores y, si fuese necesario, establecer incluso las correcciones apropiadas.

El siguiente problema será cómo examinar los datos experimentales para aislar los efectos de los errores sistemáticos y cómo corregir o eliminar cualquier error que altere el procedimiento. En este caso, el objetivo será encontrar un método analítico exacto para determinar el contenido en arsénico.

2.9. Búsqueda de errores

La espectrometría de masas y plasma por inducción se describe en la Sección 12.10.

En la Sección 2-2 se presentó un breve ejemplo de cómo identificar los pasos donde se producen los errores. En esta sección discutiremos la búsqueda de errores con mayor detalle. Para ilustrar este punto, utilicemos un análisis de espectrometría de masas y plasma por inducción después de una digestión mediante microondas. No será necesario que conozcamos en detalle este método de ensayo para estudiar esta sección. El diagrama del protocolo lo encontramos en la Figura 2.4.

El procedimiento analítico

Tomaremos diferentes muestras de un suelo con un contenido alto de silicato, provenientes de un campo muy regado, de las cuales nos interesa conocer el contenido de arsénico y metales pesados. Sospechamos que el suelo contiene altos niveles de arsénico.

Digestión: Sección 4.3.
Digestión mediante microondas: Sección 4B.

Normalmente, para obtener un análisis exacto de una muestra de un suelo, ésta debe secarse a 110 °C hasta peso constante. La muestra se considera seca cuando no hay más pérdidas de peso después de sucesivos calentamientos a 110 °C. Este proceso suele durar varios días, y en muchos casos la información no puede esperar tanto tiempo como, por ejemplo, el que pueda esperar un permiso de edificación. Debemos decidir entre si el suelo está moderadamente seco, o entre la pequeña probabilidad de que el contenido de arsénico se encuentre dentro de los límites de lo que definimos como contaminación. Evidentemente, tanto en el caso de que el nivel de arsénico muestre una contaminación obvia o se encuentre muy por debajo del nivel permitido, deberemos analizar una muestra húmeda, aun reconociendo que el análisis debería repetirse con una muestra seca si los resultados no fuesen concluyentes.

Las réplicas se tratarán de acuerdo con el protocolo general para el análisis de suelos con altos contenidos de silicatos. El peso de muestra a analizar debe ser menor de 1,0 g. Cada muestra se mezcla con 9 mL de HNO₃ concentrado, y 3 mililitros de HF en una célula de digestión de microondas, la cual se sella a continuación. Después de seguir el protocolo de calentamiento y secado, se enjuaga la muestra en la vasija de digestión y se diluye a 25 mililitros en un recipiente plástico (ya que el fluoruro reacciona con el cristal). Se bombean estas muestras con un caudal fijo a un espectrómetro para su medida. El protocolo inicial se diseñó para tener los mínimos problemas posibles con los niveles de arsénico dentro del intervalo inferior donde los instrumentos producen una respuesta lineal frente a la concentración.

Debido a que los suelos son muy diferentes, una manera rápida de investigar si las interferencias provienen de la matriz es medir una serie de muestras de diferente peso. La medida de arsénico debería ser lineal con el peso de las muestras, ya que conocemos que la respuesta de los equipos es lineal con el contenido de arsénico en estándares acuosos. Sin embargo, en los campos donde se recogieron estas muestras, se encuentran a menudo altos contenidos en cloruro, y en espectrometría de masas con fuente de ionización por plasma (ICP · MS), el cloruro forma $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, un ion molecular de masa 75, que interfiere con el ^{75}As , el único isótopo natural del arsénico. Los resultados de la investigación preliminar se muestran en la Tabla 2.3.

En este análisis, unas fuentes posibles de error serán el secado incompleto de la muestra (si pudiésemos secar algo las muestras), el error en la pesada del sólido pulverizado, el derrame o las salpicaduras de la disolución durante los trasvases. También es posible que los reactivos y muestras estuviesen contaminados con arsénico o metales pesados. Llegados a este punto, es conveniente conocer que identificar los tipos de errores puede ayudarnos a localizar su origen.

Necesitamos algunas definiciones antes de seguir adelante. Los errores sistemáticos, los cuales causan inexactitud, se clasifican dentro de dos grupos: **errores constantes** y **errores proporcionales**. Los errores constantes tienen la misma magnitud aunque varíe

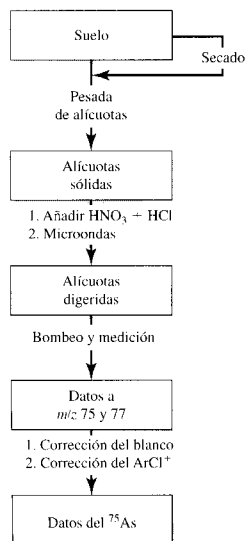


FIGURA 2.4 ▲
Diagrama de las etapas para la determinación de arsénico en una muestra del suelo.

Tabla 2.3. Arsénico en el suelo

Col. 1	Col. 2	Col. 3	Col. 4	Col. 5*	Col. 6	Col. 7	Col. 8	Col. 9
Tamaño de la muestra/g	Cuentas s ⁻¹		Menos ensayo en blanco		ArCl ⁺ estimado en m/z 75	m/z 75 corregido	Regresión estimada cts s ⁻¹	Error estimado m/z 75
	m/z 75	m/z 77	m/z 75	m/z 77				
1,000	818	99	637	61	183	454	457	3
0,750	670	80	489	42	126	363	363	-24
0,500	476	70	295	32	96	199	220	21
0,250	325	58	144	20	60	84	84	17
Blanco	181	38	0	0	0	0	-17	-17

* Los errores son, respectivamente, 61, 56, 64, 80 cuentas s⁻¹ g⁻¹.

el tamaño de la muestra. Las magnitudes de los errores proporcionales son directamente proporcionales al tamaño de la muestra: cuanto mayor sea la muestra, mayor será el error. Tal y como se ilustra abajo, usando un intervalo de tamaños de muestra podemos evaluar si se están produciendo errores constantes o proporcionales. Anticipando resultados, esperamos que los errores proporcionales se originen en las muestras debido al cambio de tamaño, y los errores constantes aparezcan debido a los reactivos o recipientes, y que se mantengan iguales de principio a fin. Esta clasificación nos permite establecer una estrategia para eliminar o reducir los errores.

En la Tabla 2.3 vemos el análisis de un blanco y cuatro muestras de diferente peso. Para evaluar el análisis de arsénico, comenzamos con los datos de *m/z* 75 y *m/z* 77 (en las columnas 2 y 3, respectivamente) para ver la variación con el tamaño de la muestra (Columna 1). La primera corrección que se necesita es compensar el error constante del ensayo en blanco. Los resultados se muestran en las Columnas 4 y 5. Tal y como puede verse en la Columna 5, las señales corregidas para ⁴⁰Ar³⁷Cl⁺ indican la existencia de un error proporcional. (El error relativo es casi constante.) Con la señal de *m/z* 77, que analiza los isótopos más pesados del cloro, podemos corregir ese error proporcional. Los valores de la corrección en la Columna 6 provienen de la Columna 5 utilizando la relación:

$$[{}^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+] = 3,00 [{}^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+]$$

La Columna 7 muestra la señal debida al arsénico después de las correcciones para las señales del blanco y de la interferencia del ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺. Una línea perfectamente definida indica que si la señal fuese estrictamente proporcional al arsénico en la muestra, se obtendrían los valores de la Columna 8. Estos puntos caen dentro de la línea en la Figura 2.5a. La Columna 9 muestra las diferencias entre las Columnas 7 y 8. Los errores se han llevado a una gráfica en la Figura 2.5b. Éstos se han dispersado alrededor de cero para tamaños independientes de muestras, lo que indica que son aleatorios.

Estos errores son algo mayores que los que cabría esperar del método si las muestras fuesen disoluciones acuosas sencillas. La razón se debe a que los errores aleatorios de la Columna 9 se derivan de los errores aleatorios de *m/z* 75 y *m/z* 77. Hay errores aleatorios en los ensayos en blanco y en cada medida para *m/z* 75 y *m/z* 77. También los errores de la lectura de *m/z* 77 fueron aumentados tres veces debido al factor de corrección para la molécula de Ar³⁵Cl⁺ a *m/z* 75. Finalmente, todos los errores se combinaron debido a que la señal para el arsénico es la diferencia de dos números (Columnas 4 y 6), y el error aleatorio de los dos contribuye a la incertidumbre.

En la Sección 2.16 y en la Figura 5.6 se puede encontrar más sobre el mejor ajuste por mínimos cuadrados.

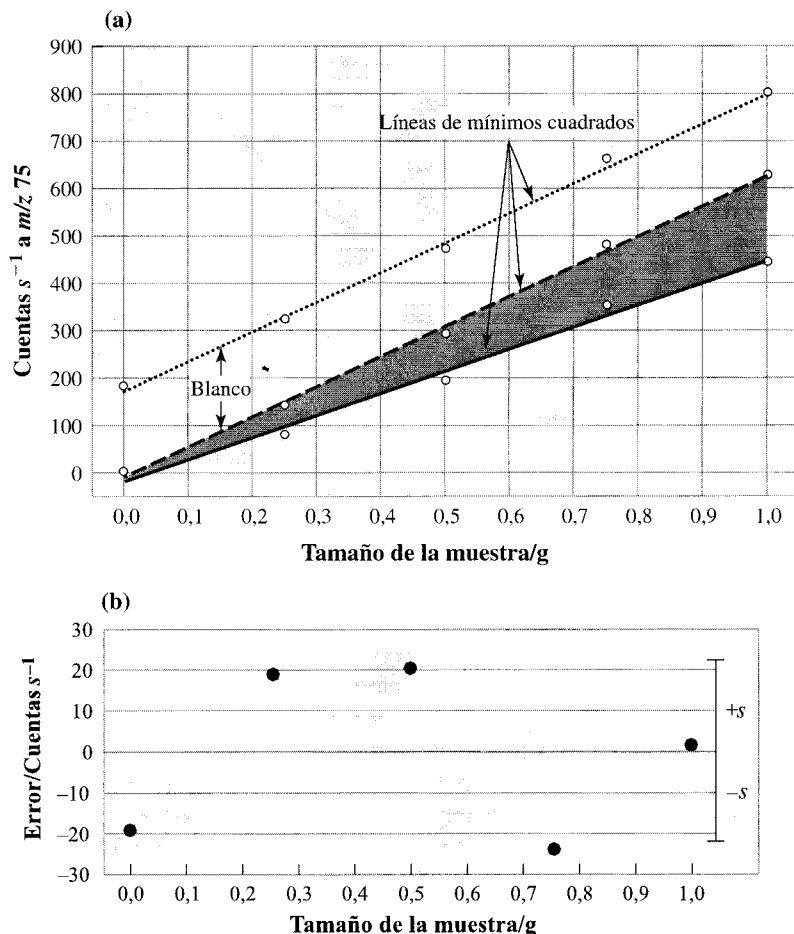


FIGURA 2.5 ►

Dibujos de las tendencias de los errores encontradas en una medida espectrocópica.

(a) Representaciones de las medidas originales (línea superior y punteada), de los datos que incluyen la corrección del ensayo en blanco (línea central, línea sombreada) y la interferencia del ArCl^+ (línea inferior). La medida del blanco tiene un error sistemático constante. La región sombreada entre las líneas representa aproximadamente el error sistemático proporcional debido a la interferencia.

(b) Representación de las diferencias de todos los datos corregidos tomados de la línea inferior. Los valores del error se distribuyen aleatoriamente alrededor de cero. Cero indicaría una coincidencia exacta entre los puntos y la línea. La magnitud de la desviación estándar s se indica mediante una barra a la derecha.

Para estas muestras, la desviación del método es elevada. Los errores proporcionales —los cuales convenimos que provienen de la formación de ArCl^+ — son cerca del 30% de la señal: estos resultados son demasiado altos. Sin embargo, el espectrómetro de masas proporciona medidas de los dos isótopos del ArCl^+ simultáneamente. Como resultado, se puede eliminar el error proporcional de cada pico aplicando una **corrección** a cada medida. En este caso, variando el tamaño de las muestras, se encontraron y corrigieron los errores determinados, lo que conllevó un análisis más *exacto*.

Para reducir las correcciones necesarias y los errores aleatorios resultantes, merecería la pena modificar el método para reducir la señal del blanco y la señal de la interferencia debida al ArCl^+ . Un modo de hacerlo sería eliminar el disolvente antes de la entrada de la disolución al espectrómetro. Esto podría realizarse con una membrana molecular porosa que no permite el paso de volátiles, como el HCl . De este modo puede reducirse la concentración de Cl^- al menos al 1% del nivel original. Es casi seguro que el método de análisis será mucho más preciso y exacto para esas nuevas muestras.

Finalmente, ¿qué ocurre con los requerimientos de secado de la muestra? La respuesta es que no necesitamos realizar un nuevo tratamiento, sino simplemente hacer una corrección para el contenido en agua una vez se obtengan los resultados, siempre y cuando las condiciones sean apropiadas. Aquí, *condiciones apropiadas* significa que tanto la muestra utilizada para este experimento inicial como la muestra seca han de ser homogéneas. El nivel de arsénico será mayor cuando se analice sobre muestra seca.

Como ya habremos observado, aún no se ha encontrado una respuesta en función de concentraciones conocidas (aunque esperamos que la calibración sea lineal). El análisis todavía no ha sido calibrado y tenemos muchos recelos que una calibración de una disolución diluida que contiene arsénico y otros iones metálicos ($\mu\text{g L}^{-1}$ de cada uno), puedan causar errores tan grandes como los producidos en la matriz de interferencia. Debemos preguntarnos: ¿por qué? La respuesta es que hemos asumido que la señal del arsénico no depende del nivel de cloruros en la muestra. De otro modo, necesitamos responder la siguiente pregunta: ¿la señal de arsénico de 1 ppb As encontrada en el agua destilada es igual a la encontrada como 1 ppb As + ~ 500000 ppb Cl^- ? Si no fuese la misma, sabríamos que diluir con soluciones acuosas con cloruros no nos serviría para calibrar las medidas, las cuales contienen altos y variables niveles de cloruros. Hasta ahora no tenemos ninguna pista que pruebe o desapruebe la dependencia del cloruro, y no tenemos razón alguna para creer que una simple calibración nos ofrece una calibración válida. Este factor es otra razón para eliminar la matriz cloruro. Ahora sería posible la utilización de soluciones sencillas en calibraciones.

Únicamente a partir de métodos como los descritos anteriormente —pruebas cuidadosas con ensayos en blanco, controles de calibración y, quizás, una corrección para tendencia inherentes— se puede desarrollar análisis efectivos y exactos. Además, podremos predecir con gran seguridad que, cuando estemos desarrollando un nuevo método analítico, podremos optimizar y lograr un control sobre los ajustes electrónicos de los aparatos y de los instrumentos más fácilmente que sobre la química de la muestra cuando efectuamos la preparación de muestras y las etapas del ensayo.

EJEMPLO 2.4

En un ensayo de creatinina se encontraron los siguientes datos frente a los valores «reales»:

Nivel verdadero de creatinina	Nivel de creatinina encontrado
0,00 mg dL^{-1}	0,07 mg dL^{-1}
0,10	0,16
0,20	0,26
0,50	0,57
1,00	1,04
2,00	2,06

¿El error del método es proporcional o constante? A un paciente con una disfunción renal se le midió un nivel de creatinina de 1,35. ¿Cuál es el valor correcto?

Solución:

Los errores encontrados son +0,07, +0,06, +0,06, +0,07, +0,04 y +0,06 mg dL^{-1} . Todos los errores son positivos y tienen más o menos la misma magnitud cercana al rango de los valores de creatinina. Esto nos lleva a pensar que en el método se produce un error sistemático constante.

Para obtener el valor de creatinina del paciente, calculamos el error promedio y restamos posteriormente esta cantidad al valor medido.

$$\text{error promedio} = (0,07 + 0,06 + 0,06 + 0,07 + 0,04 + 0,06)/6 = 0,06 \text{ mg dL}^{-1}$$

Por tanto, esto equivale a decir que el valor de creatinina de 1,35 mg dL^{-1} corregido corresponde a:

$$(1,35 - 0,06) \text{ mg dL}^{-1} = 1,29 \text{ mg dL}^{-1}.$$

2.10. Métodos inaceptables

Consideremos brevemente los problemas que aparecen cuando el análisis de una serie de réplicas tiene una precisión muy baja. Hay dos casos, tal y como se muestra en las líneas III y IV de la Figura 2.1. Observando el dibujo, reconocemos que ambos análisis tienen unos límites de confianza demasiado extensos. Para llegar a esta conclusión no es necesario conocer en detalle los procedimientos realizados en el análisis.

También es posible evaluar la exactitud en los dos casos. En el Caso III, la exactitud es baja. En el Caso IV, la exactitud es alta. Sin embargo, tales juicios solamente se pueden realizar si conocemos de antemano el «valor real». Incluso para una muestra conocida, posiblemente no pudiésemos describir los errores constantes, proporcionales o aleatorios. El método no podría ser utilizado para muestras desconocidas. El método del Caso IV es inaceptable; por tanto, se debe buscar otro método.

2.11. Datos ponderados y diferencia entre dos medias

En muchos casos, se desarrolla un método analítico para que lo utilice un gran número de personas, siempre bajo algunas normas reguladoras o al menos prácticas utilizadas frecuentemente o métodos de análisis normalizados para algún componente o muestra. Además, para lograr comunicaciones útiles y comparativas, los métodos normalizados de análisis son desarrollados voluntariamente por varios grupos. No obstante, cada analista tiene ciertos hábitos y tendencias que ha adquirido durante años de práctica. Éstos no son ni «buenos» ni «malos» hábitos ya que son prácticas útiles para cada individuo. Estas individualidades se reflejan inevitablemente en los resultados de los métodos estandarizados de análisis. Las disparidades pueden provenir de diferencias en los reactivos, en la calibración de equipos y seguramente de todos los pasos que conlleva el análisis.

Como se indica en los Casos Prácticos de Estudio 1-1 y 2-1, la disparidad de resultados entre laboratorios, o individuos del mismo laboratorio, es inevitablemente mayor que la disparidad de resultados de un solo analista. Consideremos el problema de definir los errores dentro de estudios de colaboración entre laboratorios o de un laboratorio a lo largo de un tiempo. El cálculo de esos errores es primordial en áreas como la legislación medioambiental o el control de calidad.

La llave para tratar datos de diferentes fuentes es comprender cómo tratar conjuntamente todos los datos. Esto se denomina **ponderación** de datos. Por ejemplo, queremos encontrar el valor medio de los datos ponderados y su desviación estándar. Supongamos que conocemos tres números de cada grupo: (1) el valor medio del grupo, \bar{X} ; (2) la desviación estándar de los datos, s ; y (3) el número de determinaciones N que se utilizaron en el cálculo de \bar{X} y s . Si no tuviésemos cualquiera de estos tres valores *no sería posible realizar el cálculo*. Consideremos solamente dos grupos de datos, Grupo A y Grupo B. Los seis valores que obtenemos son \bar{X}_A , s_A y N_A del Grupo A y \bar{X}_B , s_B y N_B del Grupo B. La desviación estándar se pondera utilizando la ecuación:

$$s_{m, \text{ponderada}} = \sqrt{\frac{(N_A - 1)s_A^2 + (N_B - 1)s_B^2}{N_A + N_B - 2}} \quad (2-13)$$

La desviación estándar de cada grupo se multiplica por el número de puntos menos uno. Esta ecuación se aplica cuando las desviaciones estándar de cada grupo son más o menos iguales, es decir, $s_A \approx s_B$. Esta situación se cumple en la mayoría de los casos de ponderación de análisis químicos, pudiéndose comprobar la similitud de las desviaciones estándar mediante una medida estadística llamada test- F . En la Sección 2A se describe la forma de calcular F .

Para encontrar la media de los datos ponderados de dos grupos utilizamos la siguiente ecuación:

$$\bar{X}_{\text{ponderada}} = \frac{N_A \bar{X}_A + N_B \bar{X}_B}{N_A + N_B} \quad (2-14)$$

El denominador indica el número total de datos. El numerador es la suma de las dos medias multiplicadas por el número de determinaciones que constituyen cada media. Alternativamente, si se conocen los datos de los dos grupos, la media se puede calcular utilizando la Ecuación 2-1.

EJEMPLO 2.5

Una muestra de aleación se ha enviado a dos laboratorios A y B. En el laboratorio A el valor medio después de seis determinaciones fue $(4,35 \pm 0,07)\%$ Ni ($\bar{X} \pm s$). En el laboratorio B, después de ocho determinaciones se encontró un valor de $(4,47 \pm 0,05)\%$ Ni. ¿Cuál es la media ponderada y la desviación estándar ponderada de los dos laboratorios?

Solución:

Después de sustituir los números en las Ecuaciones 2-13 y 2-14, podemos arrancar una respuesta. Para la desviación estándar ponderada:

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{(6-1)(0,07)^2 + (8-1)(0,05)^2}{6+8-2}}$$

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{0,0245 + 0,0175}{12}} = 0,059\%$$

Para el valor medio ponderado:

$$\bar{X} = \frac{(6)(4,35) + (8)(4,47)}{6+8} = \frac{26,1 + 35,76}{14} = 4,42\%$$

Hagamos un rodeo para comentar el denominador de la Ecuación 2-13, $(N_A + N_B - 2)$. Esta cantidad corresponde a lo que se denomina para este cálculo específico **grados de libertad**. El número de grados de libertad es igual al número total de determinaciones menos el de análisis utilizados para calcular la media. Si se ha realizado un análisis, el número de grados de libertad será $(N - 1)$, si se han realizado dos, entonces el número de grados de libertad es $(N_{\text{total}} - 2)$, y así sucesivamente. El número de grados de libertad es un concepto fundamental en estadística, aunque sea más sencillo pensar en términos como el número de muestras analizadas. La Tabla 2.2 de la página 30 compara los grados de libertad y el número de medidas.

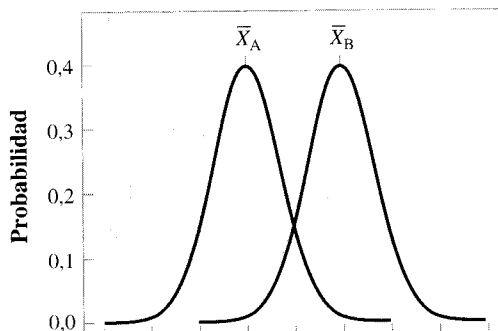
Los grados de libertad $(N - 1)$ es el denominador en la Ecuación 2-5 para el cálculo de la desviación estándar.

La diferencia entre dos medias

Muchas veces, más que realizar una ponderación de datos, tendremos que afrontar la pregunta de si los valores medios de dos o más series de datos son muy diferentes unos de otros. Supongamos que dos analistas de diferentes laboratorios han analizado cada uno distintas réplicas de la misma muestra. La distribución de los resultados de cada analista se aproxima a una distribución gaussiana como la de la Figura 2.6. ¿Podemos creer que hay diferencia aparente entre las dos series de datos o esto se debe únicamente a una mala interpretación nuestra? En otras palabras, ¿las diferencias se deben a un error aleatorio?

FIGURA 2.6 ►
Resultados de dos series de
datos de diferentes laboratorios.

A y B se han aproximado a una distribución gaussiana que representa la probabilidad (eje y) de obtener un número dado de análisis (eje x). Los cálculos de una s ponderada nos permiten evaluar la probabilidad de que las medias sean diferentes (Ecuación 2-15)



¿Cómo saber cuándo las diferencias se deben a un error aleatorio? El cálculo requiere hallar la diferencia entre las dos medias $\bar{X}_A - \bar{X}_B$. La explicación estriba en que debido a que ambas series de datos son inciertas, y debido a que cada media tiene un valor de s —una desviación estándar— asociada a él, *la diferencia entre las medias es incierta y su diferencia puede caracterizarse por un valor d* . El valor s de la diferencia es el mismo que el dado en la anterior Ecuación 2-13.

Como hay un valor s para la diferencia, también debería haber un límite de confianza para la diferencia. En este caso, donde cada media es incierta, el límite de confianza nos indica la certeza en que dos medias sean de hecho diferentes. Sin embargo, el lenguaje utilizado para describir los límites de probabilidad difiere de lo que hemos aprendido en este capítulo.

El límite de confianza es dado por el valor de la t de Student. Pero el valor de t para la diferencia entre dos medias se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$t_{\text{calc}} = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{s_{\text{ponderada}}} \cdot \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}} \quad (2-15)$$

El cálculo del límite de confianza no es tan sencillo como antes, debido a que t_{calc} depende de la diferencia entre las dos medias. Nótese que no podemos elegir el valor del límite de confianza —establecido en 95%— debido a que t_{calc} (y también s) está fijado experimentalmente por los valores \bar{X}_A , \bar{X}_B , N_A y N_B .

Para los datos ponderados, en una tabla referencia para los valores de t , comparamos t_{calc} con los valores de $N - 2$ pruebas. Si $t_{\text{calc}} > t$ para el nivel de probabilidad deseado y $N - 2$ grados de libertad, entonces llegamos a la conclusión que las dos medias son diferentes *a ese nivel*. Por ejemplo, podemos preguntarnos: ¿son las dos medias diferentes a un nivel de probabilidad del 95%? (Podríamos preguntarnos si las medias difieren para un nivel de probabilidad de 90% u 80%, etc., y responder positiva o negativamente para cada caso comparando t_{calc} con t para 90% u 80% del nivel de probabilidad.)

El comportamiento de esta comparativa —y el álgebra de la Ecuación 2-15— nos muestra algunas tendencias generales. Tiene sentido que cuanto mayor sea la diferencia entre dos medias, mayor será la seguridad de que son diferentes. Por otro lado, merece la pena notar que si tenemos un valor pequeño de s o un número muy alto de análisis (reflejados en el valor σ_m) también resulta un mayor grado de probabilidad que las dos medias sean diferentes. De nuevo, la comparación cuantifica nuestra comprensión intuitiva de la probabilidad del hecho de que una diferencia entre dos valores sea real.

Ecuaciones similares se utilizan en el área llamada hipótesis del test, la cual está fuera del alcance de este texto. Es posible encontrar una información más detallada acerca de esta hipótesis del test en las referencias de la sección Bibliografía recomendada, al final de este capítulo.

EJEMPLO 2.6

Se llevaron a cabo dos series de análisis para determinar el contenido en cromo de unas muestras de agua provenientes de un arroyo que corre a lo largo del límite de una propiedad perteneciente a una planta de cromado, una antes de un vertido abundante y otra inmediatamente después. La media de los resultados del vertido fue 0,95 ppb ($N = 5, s = 0,05$). Tras el vertido, la media fue 1,10 ppb ($N = 6, s = 0,08$). ¿Podríamos establecer con un 95% de probabilidad que había un aumento del contenido de cromo en la corriente de agua?

Solución:

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{(5-1)(0,05)^2 + (6-1)(0,08)^2}{5+6-2}}$$

$$s_{\text{ponderada}} = \sqrt{\frac{(4)(0,0025) + (5)(0,0064)}{9}} = 0,068$$

$$t_{\text{calc}} = \frac{|0,95 - 1,10|}{0,068} \cdot \sqrt{\frac{5 \cdot 6}{5+6}} = 6,02$$

El límite de confianza de probabilidad 95% para $5 + 6 - 2 = 9$ grados de libertad es $t = 2,26$ (Tabla 2.2). De esta manera, t_{calc} excede al valor requerido para el 95% de probabilidad. Existe por tanto, con un nivel de probabilidad del 95%, un aumento del nivel de cromo en el arroyo después del vertido.

Comparación de dos métodos diferentes

El test- t es un test estadístico muy versátil. Como hemos visto, se puede utilizar para conocer los límites de probabilidad cercanos a la media para una serie de medidas empleando la forma:

$$\pm t = \frac{\mu - \bar{X}}{s} \sqrt{N} \quad (2-12)$$

También se utiliza para comprobar dos series de réplicas mediante un método analítico único. De esta manera la ecuación toma la forma:

$$\pm t = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{s_{\text{ponderada}}} \cdot \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}} \quad (2-15)$$

Aquí, podemos ver que también se puede utilizar para comparar dos métodos analíticos para el análisis de una misma muestra, tal y como se hace en la práctica para validar un nuevo método. La matemática es la misma, y el test- t se escribe como:

$$\pm t = \frac{\bar{D}}{s_D} \sqrt{N} \quad (2-16)$$

donde \bar{D} es la diferencia promedio entre los resultados obtenidos por los dos métodos, y

$$s_D = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{D})^2}{N-1}}$$

de manera directamente paralela con las otras ecuaciones.

EJEMPLO 2.7

Estamos evaluando un nuevo método de preparación de muestras para la determinación de ácido palmítico proveniente del aceite de linaza, mediante cromatografía de gases tras una esterificación. Los resultados para aceites de diferentes suministradores y fuentes se muestran en las tres columnas de la parte izquierda de la tabla. ¿Difieren los resultados en el nivel del 95%? ¿Y al nivel del 99%?

Muestra	Método estándar	Método nuevo	d_i
A	3,34	3,36	-0,02
B	5,19	5,13	0,06
C	3,06	3,05	0,01
D	9,33	9,43	-0,10
E	3,80	3,83	-0,03
F	7,47	7,55	-0,08
valor medio			-0,027 = \bar{D}

Solución:

Primero hallaremos los valores de d_i , con los que calcular s_D . Utilizando el procedimiento habitual, encontramos que $s_D = 0,058$, y, utilizando la Ecuación 2-16:

$$\pm t_{\text{calc}} = \frac{-0,027}{0,058} \cdot \sqrt{6} = -1,13$$

Los valores de t se encuentran en el Apéndice I. Para $N = 6$ determinaciones, $t_{95} = 2,57$ y $t_{99} = 4,03$. El valor absoluto de t_{calc} de 1,13 es aun menor que los valores de t_{95} y t_{99} , por ello los dos métodos arrojan resultados que son estadísticamente iguales.

Si estuviésemos confusos acerca de la relación entre t_{calc} como una medida de discriminación, recordemos que cuanto mayor es el valor de t más seguro es que dos resultados sean diferentes. El razonamiento cualitativo es sencillo: téngase en cuenta que todas las ecuaciones muestran a t representando una relación entre una diferencia (que se ha de probar) dividida por la desviación estándar aplicable. Una desviación estándar menor significa que la diferencia es más cercana, con lo que en este caso t_{calc} se hace mayor. Como el límite de confianza es una medida de la certeza, un valor mayor de t_{calc} que el encontrado en la tabla asegura que existe una diferencia. Cuanto mayor es el número, mayor es la certeza de que hay una diferencia. Otra reflexión de esta asociación es que al 99%, el límite de confianza > 95% para cualquier valor dado de N .

Debemos preguntarnos, tras haber estudiado el Ejemplo 2.7, cómo podemos utilizar diferencias absolutas para este cálculo cuando los niveles de sustancia varían tan ampliamente. La respuesta es muy instructiva. Antes de llevar a cabo el cálculo, se han de realizar todas las correcciones debidas a los ensayos en blanco, para posteriormente eliminar los errores proporcionales sistemáticos. Después de esto, los errores aleatorios de cada uno de los dos métodos serán independientes de la cantidad de sustancia. Debido a que se está comparando la diferencia promedio entre los dos métodos, la cantidad de sustancia en los diferentes materiales tienen un efecto pequeño. Como resultado, una «diferencia significativa entre los dos métodos» corrobora que hemos encontrado un error constante (tendencia) en uno o en los dos métodos —dentro de la precisión de las medidas—. También, como podemos esperar, cuanto más precisas sean las medidas, más seguros podemos estar sobre la preocupante conclusión de la presencia o ausencia de tendencia.

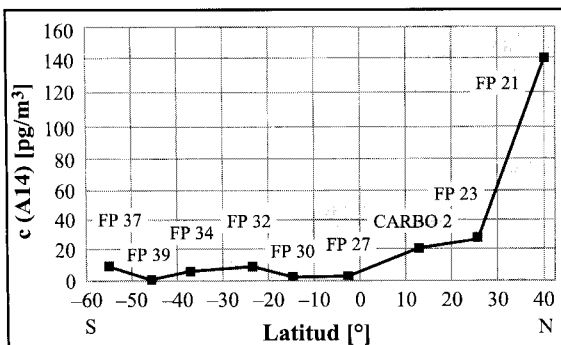


CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 2-2

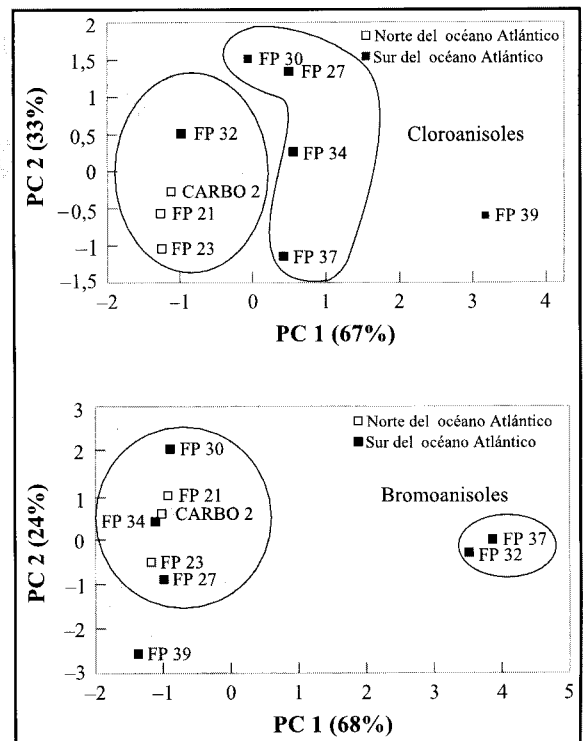
El principio de los componentes principales y los orígenes de los anisoles halogenados

El análisis de componentes principales (APC) es un método estadístico que muestra, de manera general, cómo los datos se correlacionan. En él se describen series de datos por una jerarquía de componentes generalizados: el primer componente contabiliza la mayor variación, el segundo menos variación, etc. El APC nos muestra que muchas variables dependen unas de otras. Como resultado, puede realizarse una descripción de los resultados con menores variables; en el lenguaje de APC, se denomina reducir la dimensión de la serie. En los mejores ejemplos, los componentes principales se pueden correlacionar con variables químicas. El APC muestra mínimamente alguna estructura inherente a los datos que no se han reconocido.

El APC se aplicó en los análisis de muestras de aire tomadas desde un barco que navegaba a unos cientos de millas náuticas de la costa oeste africana, donde hay niveles mayores de nutrientes que en mar abierto. Cada muestra de unos 300 m³ se pasó a través de un adsorbente, que sería más tarde analizado por cromatografía de gases y espectrometría de masas para el análisis de policloroanisoles (policlorometoxibencenos) y polibromoanisoles. Se encontraron cuatro policloroanisoles y siete bromoanisoles. La mayoría de los valores de los analitos estaban por debajo de 10 pg m⁻³ (partes por cuatrillón). Los ensayos en blanco estuvieron en los niveles de 0,2-0,5 pg m⁻³. En la gráfica se puede observar el nivel de concentración de uno de los compuestos, el 2,4,6-tricloroanisol, en función de la latitud.



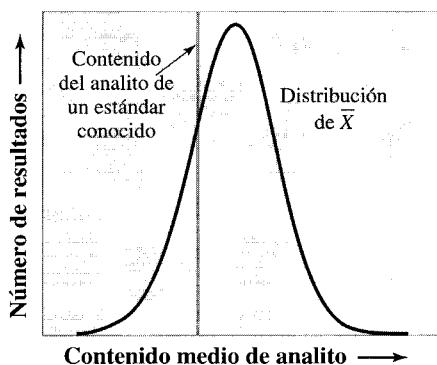
Utilizando el APC, se dibujaron los datos de todos los compuestos de cloro y bromo frente a los dos componentes principales. Los datos mostraron un apiñamiento, como puede verse en las gráficas de componente principal. Los grupos separan las muestras del hemisferio norte y del hemisferio sur. El mapa APC para los bromoanisoles no muestra esta segregación. La conclusión obtenida de esas correlaciones muestra que los bromoanisoles aparecen de fuentes biogénicas del océano, mientras que los cloroanisoles son antropogénicos y aparecen mediante procesos industriales llevados a cabo en las zonas industrializadas del hemisferio norte.



[Ref.: Reeditado con permiso de FÜHRER, U., BALLSCHMITER, K. 1998. "Bromochloromethoxybenzenes in the Marine Troposphere of the Atlantic Ocean: A Group of Organohalogens with Mixed Biogenic and Anthropogenic Origin." *Environ. Sci. Tech.* **32**, 2208-2215. Figs. 2a, 3a, 5a. Copyright 1998 American Chemical Society.]

FIGURA 2.7 ►
La distribución del valor medio calculado mediante \bar{X} y s_m .

La distribución de \bar{X} proviene de la incertidumbre de los resultados de todos los laboratorios y/o de un mismo laboratorio. La distancia entre el valor real y el pico de la distribución- \bar{X} es el error absoluto, e indica la exactitud del análisis.



Comparación de la media experimental con el valor real

Hay dos situaciones específicas para utilizar muestras de uno o más componentes en cantidades conocidas. Una es cuando validamos un nuevo proceso analítico y la otra cuando comparamos la calidad de los análisis entre diferentes laboratorios o entre diferentes operarios. En estas muestras se conoce el «valor real». El procedimiento ya se ilustró en el Caso Práctico de Estudio 2-1, cuando se comparaban los resultados en ppb de aflatoxina en los granos de cacao.

Podemos ilustrar la comparación de una media experimental con el valor real utilizando la Figura 2.7. Aquí, la línea vertical muestra el valor conocido, y la curva gaussiana la distribución de los valores de la media. Nótese que s_m no es la desviación estándar de las medidas individuales, σ o s .

La diferencia entre la media experimental \bar{X} y el valor real se llama error absoluto. Recordemos que este error absoluto se definió en la Figura 2.2 como $X - X_{\text{real}}$.

Comparando la media con el valor real, quisiéramos conocer la lejanía del valor medio (expresada como s_m veces) del valor real de la media. Cuando μ es conocido:

$$t_{\text{calc}} = \frac{E_m}{s_m} \quad \text{conocido } \mu$$

Este número corresponderá a un valor de la tabla de los valores de t y, por ello, a nuestro nivel de probabilidad de que el valor real y la media experimental sean iguales estadísticamente.

EJEMPLO 2.8

Supongamos que el valor real de la muestra de una aleación que contenía níquel era 4,44% de Ni (Ejemplo 2.5, utilizado para ilustrar el concepto de ponderada media). ¿Existen diferencias significativas entre el valor real y la media ponderada de los dos laboratorios dentro de un nivel de probabilidad del 95%? En el Ejemplo 2.5, $s_{\text{ponderada}} = 0,059\%$.

Solución:

$$\text{Error absoluto} = 4,44 - 4,42 = 0,02\% \text{ Ni}$$

$$s_m = \frac{s_{\text{ponderada}}}{\sqrt{N_{\text{Tot}}}} = \frac{0,059}{\sqrt{14}} = 0,016\%$$

$$t_{\text{calc}} = \frac{0,02}{0,016} = 1,25$$

El valor de t del 95% y $6 + 8 - 2 = 12$ grados de libertad es 2,18. Debido a que el valor para t_{calc} es inferior, el valor real está *dentro* del 95% de probabilidad para nuestra media ponderada. Otra manera de establecer esta conclusión es que la diferencia no es significativa a un nivel de probabilidad del 95,5%.

2.12. Propagación de la incertidumbre

Hasta el momento, en este capítulo hemos leído acerca de los errores asociados con los resultados finales de un análisis completo, desde la toma de muestra al resultado numérico. Sin embargo, cada método analítico consta de numerosos pasos, y cada paso lleva asociado algún tipo de error (aleatorio y/o sistemático).

Lógicamente, cuanto mayor es el número de pasos involucrados, más incierta llega a ser la medida real. Cada uno de los errores contribuye con su parte al final. Como cada uno de los errores se lleva hasta la medida final, a este proceso se lo llama **propagación de error**. Al tratamiento matemático de esta propagación se lo denomina **propagación de incertidumbre**.

La propagación del error es un punto muy importante a la hora de conocer qué método de los posibles se ha de utilizar en el análisis. Tal y como mostrarán las secciones siguientes, el error final puede depender más de unas etapas del análisis que de otras. Como resultado, realizar un sencillo paso de manera más precisa puede ser mucho más efectivo que crear un método analítico más preciso, además de contribuir a planificar los experimentos en todas las disciplinas de las ciencias cuantitativas.

Los cálculos de la propagación de errores se basan en las funciones algebraicas utilizadas para conocer el contenido analítico de las muestras; por ejemplo, una función algebraica basada en la medida del contenido de una muestra por medida de la absorbancia de la disolución.

EJEMPLO 2.9

Una muestra se pesa y se disuelve. El analito es la única sustancia coloreada y su contenido en la muestra se determina midiendo su absorbancia. Se realizan ensayos separados para un blanco y para la muestra. Escríbase la expresión algebraica que permite determinar la concentración del analito en la muestra.

Solución:

El resultado general viene dado por:

$$\text{absorbancia del analito} = \text{absorbancia de la muestra} - \text{absorbancia del blanco}$$

Para una medida de una única longitud de onda, la expresión algebraica puede escribirse como:

$$\epsilon_{\text{analito}} b C_{\text{analito}} = A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}$$

o bien:

$$C_{\text{analito}} = (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) / \epsilon_{\text{analito}} b$$

Si partimos de la concentración, el volumen total de la muestra y el peso molecular, el peso de la sustancia W_{analito} será:

$$W_{\text{analito}} = C_{\text{analito}} \cdot V_{\text{muestra}} \cdot \text{peso molecular}$$

La composición porcentual será:

$$\% \text{ analito} = 100 \cdot W_{\text{analito}} / W_{\text{muestra}}$$

Realizando las oportunas sustituciones se halla la expresión algebraica que representa globalmente el experimento:

$$\% \text{ analito} = 100 \cdot (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \cdot V_{\text{muestra}} \cdot \text{peso molecular} / \epsilon_{\text{analito}} b W_{\text{muestra}}$$

Con esta ecuación, podremos conocer la contribución de los errores en la medida, incluyendo el peso de la muestra, disolución y dilución, incertidumbre en ϵ , y medidas de las absorbancias de la muestra y del blanco.

Los cálculos de la propagación de incertidumbre son diferentes de los de los errores determinados y aleatorios. Esta diferencia se muestra en la Tabla 2.4 y se desarrolla en las dos secciones siguientes.

Error sistemático diferencial total

Para evaluar el error propagado, necesitaremos calcular la diferencial total de cualquier función. Sea la función general $f(a_1, a_2, \dots, a_N)$. Para simplificar usaremos la abreviatura F para esta función. Para errores determinados, en el lenguaje del cálculo la diferencial total viene dada por:

$$dF = d[f(a_1, a_2, \dots, a_N)] = \left(\frac{\partial F}{\partial a_1}\right) da_1 + \left(\frac{\partial F}{\partial a_2}\right) da_2 + \dots + \left(\frac{\partial F}{\partial a_N}\right) da_N \quad (2-17)$$

La Ecuación 2-17 está restringida a la situación donde los cambios en los parámetros son infinitesimales. Para utilizar el cálculo del error total diferencial aplicable en el análisis químico, los errores en los factores a_1, a_2 , etc., deben ser finitos. Para cambios finitos la ecuación se convierte en:

$$\Delta F = \Delta[f(a_1, a_2, \dots, a_N)] = \left(\frac{\partial F}{\partial a_1}\right) \Delta a_1 + \left(\frac{\partial F}{\partial a_2}\right) \Delta a_2 + \dots + \left(\frac{\partial F}{\partial a_N}\right) \Delta a_N \quad (2-18)$$

Tabla 2.4. Ejemplos de cálculo de la propagación de incertidumbre*

Suma y diferencia (error absoluto)	Productos y cocientes (error relativo)
Para la ecuación: $R = A + B - C$	$R = \frac{AB}{C}$
Errores aleatorios: $s_R = \sqrt{s_A^2 + s_B^2 + s_C^2}$	$\frac{s_R}{R} = \sqrt{(s_A/A)^2 + (s_B/B)^2 + (s_C/C)^2}$
Errores sistemáticos: Absoluto $r = a + b - c$	Relativo $r/R = a/A + b/B - c/C$

* R es el resultado calculado; el error absoluto es r . Cada factor A, B y C tiene un error sistemático a, b y c , respectivamente. Los valores s_A, s_B y s_C son las desviaciones estándar calculadas a partir de un número finito de determinaciones, como en el ejemplo de la Tabla 2.1.

El valor ΔF es el error sistemático de un resultado calculado de la ecuación que tiene las variables a_1, a_2, \dots, a_N .

EJEMPLO 2.10

Encuéntrese la expresión para los errores sistemáticos absolutos y relativos de un experimento cuyo resultado viene dado por

$$\text{Contenido} = X^2 Y / Z$$

Solución:

Utilizando la Ecuación 2-18, encontramos el error sistemático absoluto:

$$\Delta \left[\frac{X^2 Y}{Z} \right] = 2 \frac{XY}{Z} \Delta X + \frac{X^2}{Z} \Delta Y - \frac{X^2 Y}{Z^2} \Delta Z$$

La ecuación se puede expresar en función de F .

$$\Delta F = 2F \frac{\Delta X}{X} + F \frac{\Delta Y}{Y} - F \frac{\Delta Z}{Z}$$

Encontrar el error relativo es sencillo. Simplemente dividimos por F .

$$\frac{\Delta F}{F} = 2 \frac{\Delta X}{X} + \frac{\Delta Y}{Y} - \frac{\Delta Z}{Z}$$

Errores aleatorios diferenciales totales

Tal y como ya conocemos, para calcular el error aleatorio total, la medida estadística correcta utiliza la raíz cuadrada de la sumas de los cuadrados de los errores aleatorios de cada factor individual. En efecto, calculamos:

$$\sqrt{(\Delta F)^2}$$

La ecuación general resultante para el error aleatorio propagado del resultado es

$$\Delta[f(a_1, a_2, \dots, a_N)]_{\text{random}} = \sqrt{\left(\frac{\partial F}{\partial a_1}\right)^2 \Delta a_1^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial a_2}\right)^2 \Delta a_2^2 + \dots + \left(\frac{\partial F}{\partial a_N}\right)^2 \Delta a_N^2} \quad (2-19)$$

La forma de la Ecuación 2-18 indica que no hay términos cruzados como:

$$\left(\frac{\partial F}{\partial a_1}\right) \left(\frac{\partial F}{\partial a_2}\right) \Delta a_1 \Delta a_2$$

Todos los términos cruzado son cero ya que:

$$\overline{\Delta a_i \Delta a_j} = 0 \quad ; \quad i \neq j \quad (2-20)$$

donde la línea sobre el producto indica un promedio. Este importante resultado aparece únicamente cuando cada factor varía, de manera aleatoria, independientemente de los demás: cuando los valores- a no están relacionados. En otras palabras, cada producto de $a_i a_j$ promedia a cero para un gran número de tests aleatorios, ya que aparecen tantos resultados positivos como negativos para cada serie de $\Delta a_i \Delta a_j$.

EJEMPLO 2.11

Escríbase la expresión para el error aleatorio propagado para la ecuación final del Ejemplo 2.9.

Solución:

La ecuación que describe el análisis es:

$$\% \text{ analito} = 100 \cdot (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \cdot V_{\text{muestra}} \cdot \text{peso molecular} / \epsilon_{\text{analito}} b W_{\text{muestra}}$$

Una manera de simplificar la ecuación es reconocer que el factor de 100 y el peso molecular son exactos comparados con las otras medidas. Los podemos separar como constantes para no incluirlos en la diferencial:

$$\% \text{ analito} = 100 \cdot \text{peso molecular} \cdot [(A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \cdot V_{\text{muestra}} / \epsilon_{\text{analito}} b W_{\text{muestra}}]$$

Ahora calcularemos la diferencial total de los términos dentro de los corchetes. Para simplificar empleamos A_s por A_{muestra} y A_b por A_{blanco} , W por W_{muestra} y ϵ por $\epsilon_{\text{analito}}$. Cada absorbancia, A_s o A_b , se trata independientemente, para luego combinarse al final. A continuación escribimos solamente la ecuación diferencial de A_s :

$$d \left[\frac{A_s V}{\epsilon b W} \right] = \frac{V}{\epsilon b W} dA_s + \frac{A_s}{\epsilon b W} dV - \frac{A_s V}{\epsilon^2 b W} d\epsilon - \frac{A_s V}{\epsilon b^2 W} db - \frac{A_s V}{\epsilon b W^2} dW$$

La ecuación diferencial se obtiene sustituyendo por diferencias.

$$\Delta \left[\frac{A_s V}{\epsilon b W} \right] = \frac{V}{\epsilon b W} \Delta A_s + \frac{A_s}{\epsilon b W} \Delta V - \frac{A_s V}{\epsilon^2 b W} \Delta \epsilon - \frac{A_s V}{\epsilon b^2 W} \Delta b - \frac{A_s V}{\epsilon b W^2} \Delta W$$

(No debemos inquietarnos por la complejidad aparente de la ecuación. Su estructura se puede ver claramente sustituyendo F_s por el factor $[A_s \cdot V / \epsilon b W]$).

$$\Delta F_s = \left[\frac{F_s}{A_s} \Delta A_s + \frac{F_s}{V} \Delta V - \frac{F_s}{\epsilon} \Delta \epsilon - \frac{F_s}{b} \Delta b - \frac{F_s}{W} \Delta W \right]$$

Cada factor contribuye en un término de F_s dividido por un factor. El signo depende del factor de la operación, esto es, + para el multiplicado y - para el divisor.)

El error aleatorio de la muestra se obtiene elevando al cuadrado la suma entre paréntesis e ignorando los términos cruzados, como se describió en la Ecuación 2-20.

$$\sqrt{\Delta F_s^2} = \left\{ \left(\frac{V}{\epsilon b W} \right)^2 \Delta A_s^2 + \left(\frac{A_s}{\epsilon b W} \right)^2 \Delta V^2 + \left(\frac{A_s V}{\epsilon^2 b W} \right)^2 \Delta \epsilon^2 + \left(\frac{A_s V}{\epsilon b^2 W} \right)^2 \Delta b^2 + \left(\frac{A_s V}{\epsilon b W^2} \right)^2 \Delta W^2 \right\}^{1/2}$$

Para el ensayo en blanco sustituimos de igual manera A_b por A_s . Como es habitual, encontramos el error esperado como una suma o diferencia, tomamos la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados y llegamos a la ecuación final siguiente:

$$\Delta F = \sqrt{F_s^2 + F_b^2}$$

Para mayor simplicidad, pasamos las constantes a la izquierda:

$$\frac{\Delta \% \text{ muestra}}{100 \cdot \text{peso molecular}} = \left[(\Delta A_s^2 + \Delta A_b^2) \left(\frac{V}{\epsilon b W} \right)^2 + \frac{(A_s^2 + A_b^2)}{(\epsilon b W)^2} \Delta V^2 + \frac{(A_s^2 + A_b^2) V^2}{(\epsilon^2 b W)^2} \Delta \epsilon^2 + \frac{(A_s^2 + A_b^2) V^2}{(\epsilon b^2 W)^2} \Delta b^2 + \frac{(A_s^2 + A_b^2) V^2}{(\epsilon b W^2)^2} \Delta W^2 \right]^{1/2}$$

Nótese que si la medida del error es una desviación estándar, el resultado de la computación será una desviación estándar. Los siguientes ejemplos muestran los cálculos numéricos.

Si la nomenclatura del Ejemplo 2.12 no resulta familiar, véanse primero las Secciones 8.1 y 8.2.

EJEMPLO 2.12

Se llevó a cabo un análisis espectrométrico de paso óptico unas muestras líquidas y una prueba en blanco, utilizando una cubeta de 1,000 cm de paso óptico. Con la longitud de onda utilizada, la muestra proporcionó una absorbancia (absorbancia \pm error estimado) de $0,732 \pm 0,003$ y la prueba en blanco $0,023 \pm 0,001$. ¿Cuál es el valor de la medida para el analito?

Solución:

La ecuación que describe el proceso es:

$$A_{\text{analito}} = A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}$$

La sustitución será:

$$A_{\text{analito}} \pm \text{SD} = (0,732 \pm 0,003) - (0,023 \pm 0,001) = 0,709 \pm \text{SD}$$

Como el resultado es una diferencia de dos números inciertos, usaremos los errores relativos para ambos con la fórmula estadística apropiada de la Tabla 2.4.

$$\text{SD} = (0,003^2 \pm 0,001^2)^{1/2} = 0,003_1$$

La absorbancia será:

$$\text{absorbancia} \pm \text{SD} = (0,709 \pm 0,003)$$

Una manera abreviada de escribir este resultado es:

$$0,709(3)$$

EJEMPLO 2.13

Se extrajo de una muestra de 0,1547g una sustancia orgánica. La muestra se pesó por diferencia, y cada pesada tuvo un $s = \pm 0,0004$ g. Después de extraer la sustancia, se enfrió el disolvente y se diluyó a 100 mL. El valor de ϵ del analito es $81,2 \text{ L gm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ en el disolvente. Se midió la absorbancia del analito en una cubeta de 1,000 cm de paso óptico. La absorbancia de la disolución es $0,0123 \pm 0,0005$. La incertidumbre de la absorbancia ocurre tanto para el ensayo en blanco como para la muestra. ¿Cuál es la fracción (w/w) y la incertidumbre total de la sustancia extraída?

Solución:

Primeramente escribiremos la ecuación para el análisis

$$\text{Fracción de sustancia (p/p)} = \text{Peso de analito/peso de la muestra}$$

Pero:

$$\text{Peso del analito} = W_a = V_{\text{muestra}} \cdot \text{concentración}$$

y:

$$\text{Concentración} = \text{absorbancia}/\epsilon b$$

A su vez, la ecuación que describe el análisis es:

$$\text{Fracción de analito} = \frac{V_{\text{muestra}} \cdot A}{W_{\text{muestra}} \epsilon b}$$

Los errores aleatorios se obtienen de la descripción del análisis. El volumen viene dado por 100 mL, y entendemos que pueda ser $(100,0 \pm 0,1)$ mL. De igual manera, $\epsilon = (81,2 \pm 0,1)$

y $b = (1,000 \pm 0,001)$. La pesada por diferencia significa que el peso de 0,1547 g proviene de las dos pesadas. La incertidumbre total en el peso es entonces $(2 \cdot 0,0004^2)^{1/2} = \pm 0,0005_6$. La ecuación final será:

$$\begin{aligned} & \text{Fracción de analito} \\ &= \frac{(0,1000 \pm 0,0001) \text{ L} \cdot (0,0123 \pm 0,0005)}{(0,1547 \pm 0,00056) \text{ g} (81,2 \pm 0,1) \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1} (1,000 \pm 0,001) \text{ cm}} \\ &= 9,79171 \times 10^{-5} \pm \text{SD} \end{aligned}$$

Como estudiamos en los Ejemplos 2.10 y 2.11, podemos ver que el error aleatorio puede ser calculado mediante:

$$s = \sqrt{\left(\frac{F}{V}\right)^2 \Delta V^2 + \left(\frac{F}{A}\right)^2 \Delta A^2 + \left(\frac{F}{W}\right)^2 \Delta W^2 + \left(\frac{F}{\epsilon}\right)^2 \Delta \epsilon^2 + \left(\frac{F}{b}\right)^2 \Delta b^2}$$

Sustituyendo los valores numéricos:

$$\begin{aligned} s &= [(9,792 \times 10^{-4})^2 (0,0001)^2 + (7,960 \times 10^{-3})^2 (0,0005)^2 \\ &+ (6,329 \times 10^{-4})^2 (0,00056)^2 + (1,206 \times 10^{-6})^2 (0,1)^2 \\ &+ (9,792 \times 10^{-4})^2 (0,001)^2]^{1/2} \end{aligned}$$

y:

$$\begin{aligned} s &= [9,588 \times 10^{-15} + 1,584 \times 10^{-11} + 1,256 \times 10^{-13} \\ &+ 1,454 \times 10^{-14} + 9,588 \times 10^{-13}]^{1/2} \\ s &= 4,1 \times 10^{-6} \end{aligned}$$

Así:

$$\text{fracción de analito} = (9,8 \pm 0,4) \times 10^{-5}$$

Éste ha sido un cálculo moderadamente complicado e innecesario. Un analista especializado no llevaría a cabo el cálculo entero, ni siquiera las derivadas de las ecuaciones de los Ejemplos 2.11 y 2.13. La razón es que para casi todo procedimiento analítico, el error propagado final se debe, en un alto grado, únicamente a uno o dos factores. Para ilustrar este punto, profundicemos en el Ejemplo 2.13 y consideremos los tipos diferentes de errores que aparecen.

Primeramente, establezcamos una jerarquía entre los errores *relativos* para ver qué errores relativos son los mayores. De mayor a menor podremos formar una lista como la siguiente:

Absorbancia	$0,0005/0,0123 = 0,040$
Peso de muestra	$0,0005_6/0,1547 = 0,0036$
ϵ	$0,1/81,2 = 0,0012$
Volumen de la muestra	$0,1/100,0 = 0,0010$
b	$0,001/1,000 = 0,001$

(Después de adquirir más experiencia, no necesitaremos escribir este tipo de listas —seremos capaces de reconocer el factor o los factores que más contribuyen al error total—.) En el Ejemplo 2.13, el error final debido al término de la absorbancia sólo fue de $3,98 \times 10^{-6}$, en oposición a la suma de todos los términos, que da $4,10 \times 10^{-6}$. En otras palabras, podríamos haber obtenido la respuesta sobre el error propagado resolviendo:

$$s = \sqrt{\left(\frac{F}{A}\right)^2 \Delta A^2} = \sqrt{1,58 \times 10^{-11}} = 4 \times 10^{-6}$$

Claramente, merece la pena el esfuerzo perder un poco de tiempo en reconocer qué factores son los que más contribuyen al error.

¿Qué hacer con la información sobre los errores?

Tanto los errores aleatorios como los sistemáticos se propagan en los sucesivos pasos de un análisis. El cálculo de los errores relativos y aleatorios es relativamente sencillo comparado con la búsqueda de errores en el método mediante el uso de la estadística y de los estándares. Pero en la mejora de la calidad de un método analítico, establecer una jerarquía para los errores relativos nos enseña qué pasos hay que modificar primero, en qué pasos la mejora es más necesaria. Aunque debemos saber cómo estimar y calcular los errores, nuestro objetivo debe ser minimizarlos o eliminarlos: los errores sistemáticos mediante calibración y los aleatorios mejorando la reproducibilidad, por ejemplo, mediante automatización.

2.13. Cifras significativas

Si tenemos prisa o necesitamos únicamente un error aproximado, el uso de algunas reglas sencillas nos puede proporcionar una estimación de dicho dato con unos pocos cálculos. Nótese que en el Ejemplo 2.9, hemos calculado $9,79171 \dots \times 10^{-5}$, cuando la solución correctamente escrita sería $9,8 \times 10^{-5}$. Esto es correcto porque el resultado numérico final nos debería dar información sobre su error. El convenio generalmente aceptado es que el error del valor medido se indica por el error de únicamente el último dígito.

Por ejemplo, supongamos que un resultado experimental tiene una precisión relativa de un 0,1%. Podríamos escribir en un informe: «El material contiene 23,4522687% del ingrediente Z.» Sin embargo, dado el error relativo de un 0,1%, sólo los primeros dígitos son **significativos** —el resto no son significativos—. Por otra parte, la utilización de todos los dígitos sería engañosa. Como el error relativo es 0,1%, el valor más sensato sería $0,001 \times 23,4 = \pm 0,02$, y el resultado debería escribirse 23,46%, con o sin una reseña de la desviación estándar.

Se utilizan a menudo otros convenios sencillos cuando hay un error superior a un ± 1 en el último dígito. Una regla indica que el dígito que tenga menor certeza que ± 1 , se escribe como un subíndice, por ejemplo 1,98₇. Esta notación muestra que el error es menor que $\pm 0,01$ pero mayor que $\pm 0,001$. Sobre este particular hemos visto diferentes ejemplos al principio de este capítulo.

Recordemos también un segundo convenio visto anteriormente: a menudo, en vez de escribir $5,785 \pm 0,003$ (valor \pm SD), podríamos escribir 5,785(3). El dígito entre paréntesis es el error del último dígito.

Reglas de redondeo

Las reglas del **redondeo** para la corrección de un número de cifras significativas deriva de las reglas de los análisis de error y de los cálculos de la propagación de errores. Las reglas generales para redondear son:

1. No se ha de escribir ningún número después de la primera cifra incierta.
2. Si el número en el lugar después de la última cifra significativa es menor que 5, dejar la cifra como está.
3. Si el siguiente dígito es 6 o mayor, añadir uno al último dígito.
4. Si el siguiente número es un 5, redondear al dígito más cercano: 2, 4, 6, 8 ó 0. Esto originará un 50:50 de posibilidad de redondeo arriba o abajo. Por consiguiente, no se introducirán tendencias en el redondeo.

Una vez que tengamos facilidad en el uso de los cálculos de errores, no será necesario seguir tan estrictamente las reglas de redondeo.

Cifras significativas y operaciones aritméticas

La primera regla mostrada establece que no deben incluirse más dígitos detrás del último dígito incierto. A continuación se plantean las reglas para determinar los puntos de corte.

Como en la propagación de los errores, hay tres casos diferentes para determinar los valores significativos en las operaciones aritméticas: aquellos que implican suma y/o resta, multiplicación y/o división o logaritmos.

Suma y resta

Regla: En las sumas o restas, mantener tantas cifras decimales como existan en el sumando o sustraendo que menos cifras tenga a la derecha de la coma de decimales.

EJEMPLO 2.14

Calcúlese la suma de 21,2, 3,035 y 0,12, y aproxímese el resultado final a un número correcto de decimales.

Solución:

$$\begin{array}{r} 21,2 \\ 3,035 \\ 0,12 \\ \hline \end{array}$$

24,355 se convierte en 24.4

Las dos últimas cifras carecen de significado, ya que al menos uno de los números sumados no tiene cifras significativas en esas posiciones. Es interesante comparar este método con las reglas para el cálculo del error absoluto para sumas y restas.

Multiplicación y división

Regla: El factor que contenga el menor número de cifras significativas determina el número de cifras significativas tanto en el producto como en el cociente.

Esto trae como consecuencia que el error *relativo* del resultado final no puede ser menor que el mayor error relativo de cualquier factor.

Las reglas de las cifras significativas para la multiplicación y la división a menudo son confusas. Pongamos, por caso, el siguiente ejemplo, que muestra una situación donde la reglas de dígitos significativos sugieren una respuesta en desacuerdo con los cálculos de propagación de errores.

EJEMPLO 2.15

¿Cómo se ha de escribir el resultado de la multiplicación de $2,0 \times 43$ para que no resulte engañoso?

Solución:

Según las reglas de cifras significativas:

$$2,0 \times 43 = 86$$

Este resultado implica que la respuesta es 86 ± 1 . Sin embargo, no podemos asegurar un resultado con un error relativo del 5%, esto es, $0,1/2,0 = 0,05$. Pero $0,05 \times 86 = 4,3$, y la respuesta se escribiría como:

$$2,0 \times 43 = 86 \pm 4$$

Por consiguiente, las reglas sobre cifras significativas nos ofrecen una respuesta engañosa. Será técnicamente más correcto escribir:

$$86 \pm 4 \quad \text{o también} \quad 9 \times 10^1$$

que escribir 86.

En caso de duda, deberemos usar los cálculos de propagación de errores descritos en la Sección 2.12. De hecho, las reglas de cifras significativas provienen de la propagación de errores. A continuación tendremos más ejemplos de corte y redondeo de resultados numéricos. Nótese que se usa la aproximación a las incertidumbres. En ambos ejemplos, el error relativo del resultado es aproximadamente igual al error relativo del término de menor certeza.

EJEMPLO 2.16

Basándonos en la incertidumbre implícita 31,1, 0,063 y 98,8, encuentrense los productos y aproxímese la respuesta al mismo error relativo que para el factor de menor certeza.

Solución:

$$\begin{array}{ccccccc} & 31,1 & \times & 0,063 & \times & 98,9 & = 193,77477 \text{ redondeado a } 1,9_0 \times 10^2 \\ \text{Incertidumbre} & \uparrow & & \uparrow & & \uparrow & \uparrow \\ \text{aproximada} & 1 \text{ en } 300 & & 1 \text{ en } 60 & & 1 \text{ en } 100 & \text{se redondea a } 1 \text{ en } 50 \end{array}$$

EJEMPLO 2.17

Calcúlese

$$\frac{961 \times 547}{0,053}$$

Y redondéese el resultado con el número correcto de cifras significativas.

Solución:

$$\begin{array}{ccccccc} & 1 \text{ en } 1000 & & 2 \text{ en } 1000 & & & \\ & \downarrow & & \downarrow & & & \\ & 961 & \times & 547 & & & \\ & \frac{961 \times 547}{0,053} & = & 9.918.245,2 & \text{se redondea a } & 9,9 \times 10^6 & \\ & \uparrow & & & & \uparrow & \\ & 1 \text{ parte en } 50 (2\%) & & & & 1 \text{ en } 100 \text{ (mejor que redondear a } 1 \text{ en } 10) & \end{array}$$

Con suficiente práctica, llega a ser realmente sencillo hacer mentalmente el cálculo de tomarse la última cifra significativa después de multiplicar o dividir. Las aproximaciones (tales como $1 \text{ en } 50 \cong 1 \text{ en } 60$) se pueden admitir porque aparecen grandes varia-

ciones en la incertidumbre antes de eliminar un dígito adicional. Se debe conseguir un orden entero de magnitud en la incertidumbre (por ejemplo, 0,2% frente a 2%) para eliminar el siguiente dígito del resultado final.

Logaritmos

Los logaritmos se utilizan en gran número de fórmulas. La regla para el número de cifras significativas es sencilla. Cuando convertimos número en logaritmos, utilizamos tantos números en la **mantisa** —la parte del logaritmo que sigue al punto decimal— como cifras significativas hay en el número.

EJEMPLO 2.18

¿Cuál es el valor del log 12,35 utilizando el número correcto de decimales?

Solución:

Hay cuatro cifras significativas en el número y cuatro decimales en la mantisa del logaritmo. Por eso:

$$\log 12,35 = 1,0917$$

EJEMPLO 2.19

Calcúlese con el número correcto de cifras significativas el valor de $[H^+]$ para una solución de pH 3,56.

Solución:

El número de decimales de la mantisa del pH es igual al número de cifras significativas en la concentración.

$$\text{pH} = 3,56$$

$$[H^+] = 10^{-3,56} = 2,8 \times 10^{-4}$$

2.14. Datos discordantes

En el Caso Práctico de Estudio 2-1, vimos una representación de los datos de los análisis realizados por diez laboratorios diferentes. Un analista de cada laboratorio determinó el contenido de aflatoxina de una misma muestra. Uno de los resultados era muy diferente. Los directores del estudio interlaboratorios rechazaron ese dato de su muestra.

Este mismo problema aparece en análisis de una misma muestra realizados en un mismo laboratorio. De un número de réplicas, algún resultado puede estar muy lejos de la media o de los otros resultados. A estos se los llama **datos discordantes** o **puntos exteriores**. ¿Se deben guardar como parte del análisis o se deben ignorar? Hay dos maneras de resolver esta cuestión, una estadística y otra juiciosa. Generalmente se necesitan las dos.

Los datos de la Tabla 2.5 muestran esta doble aproximación. Los valores de la tabla provienen de dos tandas de tres análisis obtenidas en el orden mostrado en la primera línea. La persona que hacía los análisis comenzó la segunda tanda debido a que el

Tabla 2.5. Resultados de las dos series de determinaciones de diferentes réplicas

Resultados en orden de determinación:

7,06, 7,04, 7,19, 7,10, 7,02, 7,09

Resultados en orden de valores:

7,02, 7,04, 7,06, 7,09, 7,10, 7,19

valor 7,19 *parecía* discordante. Este juicio podía haber sido tomado basándose en la experiencia de este análisis. Por ejemplo, el valor puede hallarse fuera del intervalo donde tal error aleatorio suele estar (o puede ser debido a aquellas motas azules que recordamos haber visto en la muestra. Curiosamente... ¡tenían el mismo color que la pintura del techo!)

Sin embargo, nosotros no tenemos tanta experiencia en el análisis (de hecho, no hemos explicado nada en absoluto sobre el análisis, excepto los resultados numéricos). Fijémonos en un test estadístico para ayudarnos a determinar si rechazamos el punto externo. Se denomina **test de Dixon** o **test- Q** . Se puede utilizar para determinar *estadísticamente* si el valor extremo se puede rechazar. No es un método que se utilice mecánicamente pero nos ayudará a decidir si ignoramos el resultado de una serie.

Para ver más claramente la distribución de los valores obtenidos de las seis réplicas, los reescribiremos en orden a sus valores. Sea d igual a la diferencia entre el posible valor externo y el resultado más cercano a este valor. Recordemos la definición del recorrido w de la Ecuación 2-3, la diferencia entre los valores mayor y menor.

De tres a siete réplicas, el test de Dixon compara el valor de Q :

$$Q = d/w \quad (2-21)$$

con un «valor crítico» apropiado de Q , que se muestra en la Tabla 2.6. El valor en la tabla depende del número total de medidas realizadas, N . Se puede llegar a una conclusión de la manera siguiente: Si el valor calculado de Q excede al valor crítico aplicable, entonces hay un 10% de posibilidad de que el rechazo sea una decisión equivocada. Analizado un punto de vista contrario, si Q excede el valor crítico aplicable, podemos estar seguros en un 90% de que debe ser eliminado.

Table 2.6. Valores críticos para Q , para la eliminación de puntos externos con probabilidad 1 a 10 de una decisión equivocada *

Número de experimentos (N)	valor crítico de Q
3	0,94
4	0,76
5	0,64
6	0,56
7	0,51

* Para una completa tabla véase la referencia mencionada a continuación o la Younden y Steiner (su tabla C.1) citada al final de este capítulo. Con N mayor, los criterios para Q y w cambian.
Fuentes: Dixon, W. J. 1953. *Biometrics* 9:74. Dean, R. B., Dixon, W. J. 1951. *Anal. Chem.* 23:636.

EJEMPLO 2.20

Usando el test de Dixon para los resultados tabulados en la Tabla 2.5, determínese si el valor 7,19 debe ser rechazado como un punto externo.

Solución:

Para los resultados de la Tabla 2.5,

$$d = 7,19 - 7,10 = 0,09$$

y

$$w = 7,19 - 7,02 = 0,17$$

Así,

$$Q = 0,09/0,17 = 0,53$$

De acuerdo con la Tabla 2.6, el valor crítico de las seis muestras es 0,56. Por consiguiente, el test de Dixon no justifica el rechazo del resultado.

Un analista familiarizado con el análisis podría rechazar el valor de 7,19. Si el valor se elimina, se han de calcular la nueva media y la desviación estándar para los cinco resultados restantes. El resultado será:

$$5 \text{ puntos: } \bar{X} = 7,06_2 \quad s = 0,03_3$$

Si lo comparamos con los resultados con los seis valores:

$$6 \text{ puntos: } \bar{X} = 7,08_3 \quad s = 0,06_0$$

Nótese que el cambio relativo de la media, cercano a un 0,3%, es mucho menos que la probabilidad relativa en la desviación estándar, de casi dos unidades. Esto es típico debido a los efectos de los puntos externos (o casi externos) en los resultados de las series de réplicas. Nota: si todos los valores excepto uno son idénticos, no se puede permitir descartar el valor discordante porque el test no sería válido en este caso.

Hay métodos más sofisticados para decidir si ciertas medidas son discordantes con el resto. Se utilizan en comparaciones muy exhaustivas entre laboratorios y están muy por encima del nivel que queremos mostrar en este texto. Las referencias a estos métodos se dan en las lecturas recomendadas en este capítulo, entre las que se encuentran las de Horowitz, Kelly, Grubbs y Beck.

2.15. La mediana

La **mediana** de una serie de números corresponde al valor central. Hay tantos valores por encima como por debajo de la mediana. Si el número de valores es par, entonces el valor de la mediana es la media de los dos valores centrales.

EJEMPLO 2.21

¿Cuál es la mediana de los valores de la Tabla 2.5?

Solución:

$$\frac{7,06 + 7,09}{2} = 7,07_5$$

La mediana es una estimación menos útil la media. Por otro lado, la mediana es menos sensible a variaciones grandes de los valores experimentales. Por consiguiente, donde exista una gran dispersión de datos, la mediana puede ser mejor que la media para estimar el valor experimental. Sin embargo, siempre es preferible tomar más muestras y, aun mejor, aislar la causa de la dispersión y corregir la metodología.

2.16. Mínimos cuadrados

En un análisis se establece una relación entre concentración del analito y la medida experimental. El comportamiento ideal mostraría que el contenido y la medida exhiben una perfecta relación lineal, tal y como se indica en el gráfico de la Figura 2.8.

La ecuación de una recta se define como:

$$Y_i = mX_i + b \quad (2-22)$$

donde

Y_i es el resultado de la medida,

X_i es el contenido de sustancia correspondiente a Y_i ,

m es la pendiente de la recta (nos muestra su sensibilidad), y

b es una constante, igual al valor de Y_i cuando $X_i = 0$. El valor del blanco b será también la **tendencia del método**.

(Una alternativa de la Ecuación 2.22 es $Y_i = a_1 \cdot X_i + a_0$, donde el subíndice de los términos de a muestran las características de la recta para cada X dado. Sin embargo, usaremos la Ecuación 2-22.)

En realidad, la relación lineal perfecta no existe cuando se utilizan estándares y muestras. Sin embargo *podemos* encontrar la mejor relación lineal entre puntos experimentales. Esto es el **mejor ajuste** para los datos, tal y como se muestra en la Figura 2.8. Para encontrar el mejor ajuste, suponemos que los valores de X_i se conocen con mejor precisión relativa que los valores de Y_i . Además, los valores individuales de Y_i no deben depender unos de otros. De otro modo, el valor de Y_2 no depende de los valores de Y_1 , Y_3 , u otro valor cualquiera de Y_i . Llamemos a los valores de m y b para el mejor ajuste de la recta como \bar{m} y \bar{b} .

Para encontrar la mejor línea recta se debe relacionar la distancia de la recta con todos los puntos experimentales —una diferencia llamada **residuo**—. Para cada X_i , el residuo es:

$$[Y_i - Y_{\text{recta}}]$$

En términos estadísticos, el residuo para el punto X_i se escribe como:

$$[Y_i - \hat{Y}_i] \quad (2-23)$$

Donde \hat{Y} es el *valor predicho* obtenido de la ecuación de la recta definido por los valores de m y b (no necesariamente \bar{m} y \bar{b}). Como podemos ver, el residuo depende de la recta específica encontrada a partir de los datos.

La suma de los cuadrados de todos los residuos se utiliza para determinar la mejor recta. Más concretamente, la **menor suma de los cuadrados** caracteriza la mejor recta.

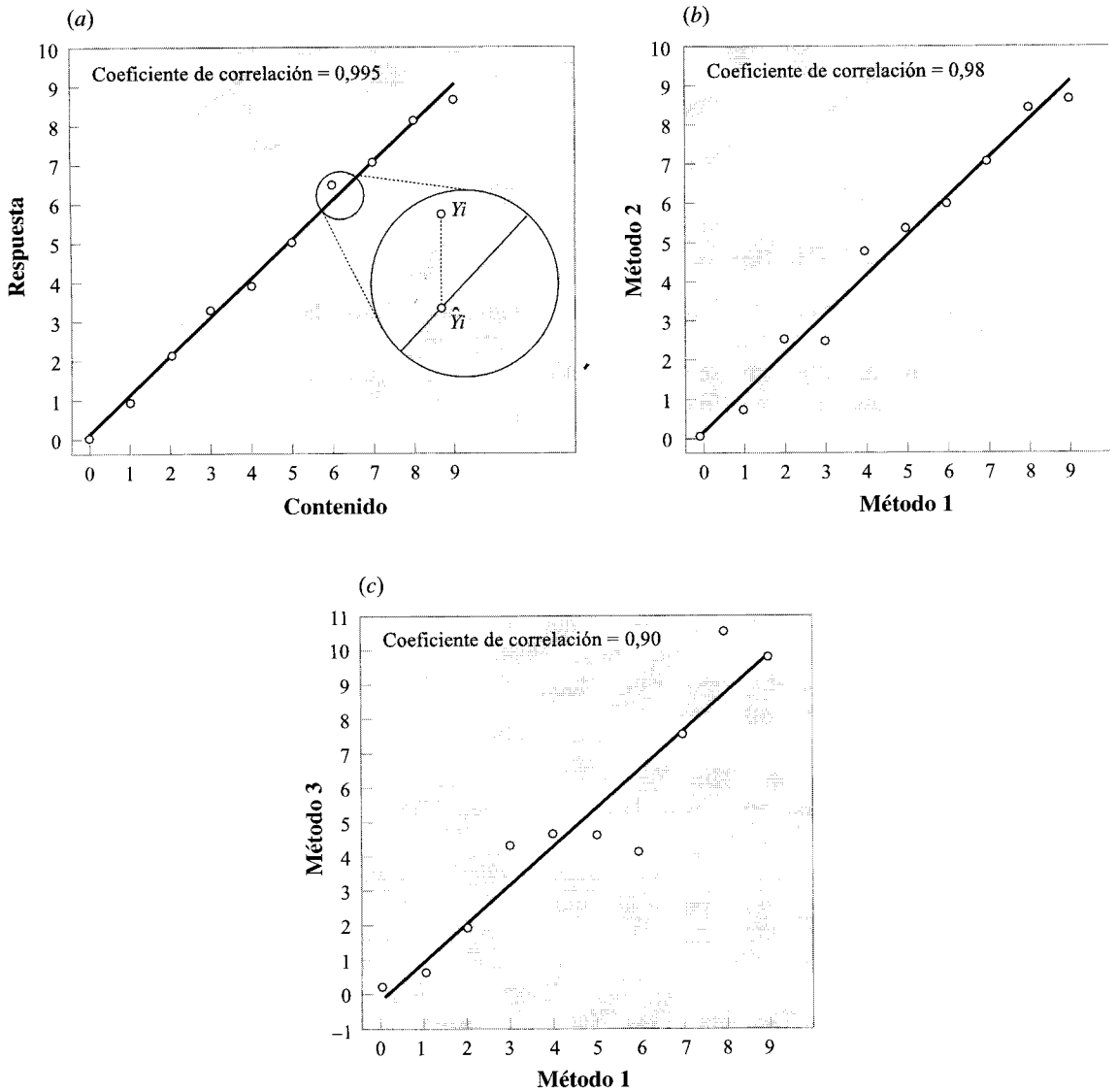


FIGURA 2.8 ▲
Ejemplo de una regresión lineal.

- (a) Muestra unos datos de calibración mediante la regresión de una recta por mínimos cuadrados. El coeficiente de correlación es 0,995. La zona aumentada muestra la relación entre Y_i y \hat{Y}_i . Se encuentran en el mismo valor de X_i .
- (b) Nos muestra una validación entre dos métodos con un coeficiente de correlación de 0,98.
- (c) Nos muestra otra validación para un método pero, para los datos que se muestran, parece no ser válido en la mitad del intervalo. De todos modos, el coeficiente de correlación es 0,90.

(Esto, por supuesto, es de donde viene el nombre de recta de mínimos cuadrados. Otro nombre para encontrar esta recta es la **regresión lineal**.) Expresamos estas ideas matemáticamente diciendo que queremos minimizar $\sum_i [Y_i - \hat{Y}_i]^2$. Las ecuaciones utilizadas para calcular el mejor ajuste de la recta (y mínimo de la suma de los cuadrados) se dan en la Tabla 2.7, Ecuaciones 2 y 3.

Table 2.7. Ecuaciones para los mínimos cuadrados lineales

$$\sum \equiv \sum_{i=1}^N \text{ en todas las ecuaciones}$$

Las maneras alternativas para escribir algunos términos son

$$\text{Valor promedio de } X_i = \bar{X} = \sum X_i / N$$

	Formato de diferencia	Formato de sumatorio
1)	$R = \sum [Y_i(X_i) - \hat{Y}(X_i)]^2$ $= \sum [Y_i(X_i) - (\bar{m}X_i + \bar{b})]^2$	
2)	$b = \bar{Y} - m\bar{X}$	$b = \frac{\sum Y_i}{N} - m \frac{\sum X_i}{N}$
3)	$m = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum (X_i - \bar{X})^2}$	$m = \frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{N}}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{N}}$
4)	$s_y = \sqrt{\frac{\sum [Y_i - (\bar{m}X_i + \bar{b})]^2}{N-2}}$	$s_y = \sqrt{\frac{\sum Y_i^2 - \frac{(\sum Y_i)^2}{N} - \frac{(\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{N})^2}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{N}}}{N}}$
5)	$s_{\text{pendiente}} = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum (\bar{X} - X_i)^2}}$	$s_{\text{pendiente}} = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{N}}}$
6)	$s_{\text{ordenada en el origen}} = s_y \cdot \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{N \sum (X_i - \bar{X})^2}}$	$s_{\text{ordenada en el origen}} = s_y \cdot \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{N \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}}$
7)	$\rho(X, Y) = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 \sum (Y_i - \bar{Y})^2}}$	$\rho(X, Y) = \frac{N \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i}{\sqrt{[N \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2][N \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2]}}$

Hay pocos motivos para profundizar en los detalles de los cálculos de los mínimos cuadrados; hoy en día sus cálculos los realizan la mayoría de las calculadoras científicas, casi todos los programas estadísticos, los softwares de dibujo científico y la mayoría de los programas. Veamos únicamente cómo dos parámetros estadísticos muy importantes pueden variar con la calidad de los datos introducidos.

Los dos parámetros más comunes por establecen la calidad de un ajuste son la *suma residual de cuadrados*, aquí como R , y el **coeficiente de correlación**, que se muestra en la tabla como $\rho(X, Y)$.

Para comparar la calidad del ajuste, se debe utilizar una relación relativa. Utilizaremos como medida de esta calidad el coeficiente de correlación. El coeficiente de correlación indica cómo un cambio en la variable independiente, X , se refleja en la variable dependiente, Y . Cuando $\rho(X, Y)$ es exactamente uno quiere decir que la correlación es perfecta. Las tres gráficas de la Figura 2.8 muestran cómo varía el coeficiente de correlación con un cambio de R . Es muy interesante ver cómo el ajuste se empobrece según nos alejamos de un ρ de 1,00.

2A. Profundizando: El test «F» para comparación de varianzas

Cuando probamos el significado de la diferencia entre dos medias utilizando la Ecuación 2-15 de la página 39 (un uso de un test- t), asumimos que las desviaciones estándar deben más o menos ser iguales a las tandas de datos que se están comparando. Un test estadístico, el test- F que se describe aquí, se puede utilizar para comprobar esta suposición. Si la suposición no está justificada (para algunos niveles de probabilidad), el resultado del test- t no es válido para comparar las medias de las dos tandas de datos.

Antes de continuar, observemos la Figura 2A.1. Las dos distribuciones de probabilidad que se muestran son diferentes. A la tabla de referencia de valores de t se la denomina **distribución con dos colas**. (La forma es similar, pero no igual, a una gaussiana.) La otra distribución se asocia con los valores de F dados en la Tabla 2A.1. Ésta es una **distribución de una cola**. El punto más importante es que el área sombreada en la curva de 2 colas corresponde al 5% de su área total y ésta a su vez es equivalente a un nivel de confianza de 2,5% en la distribución F de una cola. Como resultado, la tabla para el test- F al nivel 0,025 corresponde al 95% del límite de probabilidad que hemos estado usando como L.P. en el texto. Para utilizar la distribución de una cola, las dos varianzas s_1^2 y s_2^2 deben ser ordenadas como:

$$F = \frac{\text{varianza mayor}}{\text{varianza menor}} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \tag{2A-1}$$

De otra manera, $F \geq 1$, tal y como se puede ver en la tabla. También son necesarios los grados de libertad de las dos varianzas, las cuales están expresadas como $\nu_1 (= N_1 - 1)$ y $\nu_2 (= N_2 - 2)$. El rule del test- F es

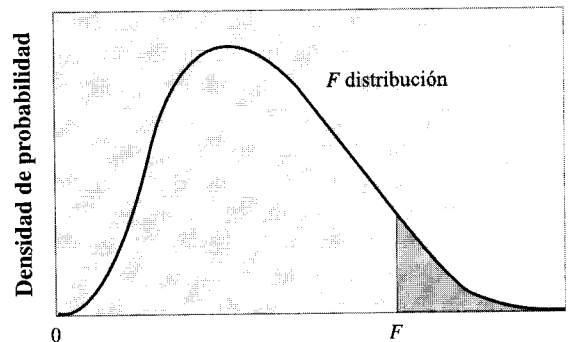
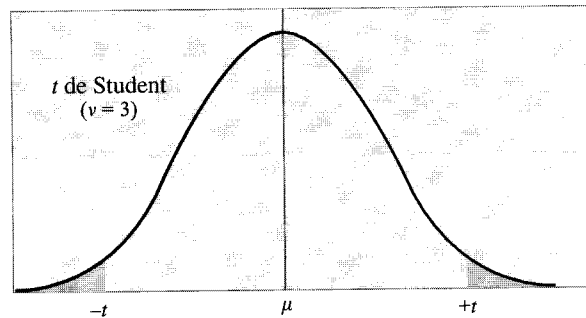


FIGURA 2A.1 ►
Comparación entre una distribución de una cola y dos colas.
Aquí ν significa grados de libertad.

Table 2A.1. test-F dados ν_1 y ν_2 para 0,025

Media cuadrática superior →											
Número de muestras		3	4	5	6	7	9	16	21	∞	
Grados de libertad, ν_1		2	3	4	5	6	8	15	20	∞	
Media cuadrática inferior ↓	Número de muestras	Grados de libertad, ν_2									
	3	2	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,37	39,43	39,45	39,50
	4	3	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,54	14,25	14,17	13,90
	5	4	10,65	9,98	9,60	9,36	9,20	8,98	8,66	8,56	8,26
	6	5	8,43	7,76	7,39	7,15	6,98	6,76	6,43	6,33	6,02
	7	6	7,26	6,60	6,23	5,99	5,82	5,60	5,27	5,17	4,85
	8	7	6,54	5,89	5,52	5,29	5,12	4,90	4,57	4,47	4,14
	9	8	6,06	5,42	5,05	4,82	4,65	4,43	4,10	4,00	3,67
	10	9	5,71	5,08	4,72	4,48	4,32	4,10	3,77	3,67	3,33
	16	15	4,77	4,15	3,80	3,58	3,41	3,20	2,86	2,76	2,40
	21	20	4,46	3,86	3,51	3,29	3,13	2,91	2,57	2,46	2,09
	∞	∞	3,69	3,12	2,79	2,57	2,41	2,19	1,83	1,71	1,00

Las dos varianzas no son iguales al nivel (doble cola) del 5% si el cociente de las varianzas $F = s_1^2 / s_2^2$ es mayor que (una cola) 2,5% del valor de F en la Tabla 2A.1.

La conclusión escrita del resultado de este test con este nivel de probabilidad será: «Las varianzas no son iguales ($P = 0,05$).»

EJEMPLO 2A.1

Un ensayo de un material estándar de referencia mediante un nuevo método arrojó los siguientes resultados:

1,96, 1,93, 2,09, 2,05, 2,11, 1,94, 2,07, 2,06, 2,10 ppm

Los valores del método validado fueron:

1,99, 1,94, 2,02, 2,02, 1,96, 2,02, 1,98, 2,01, 1,98, 1,93 ppm

¿Son las varianzas diferentes? Si lo son, ¿cuál es el método menos preciso?

Solución:

Recordemos

$$\text{Varianza} = s^2 = \frac{d_1^2 + d_2^2 + \dots + d_N^2}{N - 1} \quad (2-4)$$

De los datos obtenemos:

Nuevo método (subíndice n)

$$\nu_n = 9 - 1 = 8$$

$$\bar{x} = 2,03444$$

$$\sum d^2 = (5,54 + 10,91 + 3,08 + 0,24 + 5,71 + 8,92 + 1,26 + 0,65 + 4,30) \times 10^{-3} \text{ ppm}^2$$

$$s_n^2 = (40,62 \times 10^{-3})/8 = 5,08 \times 10^{-3} \text{ ppm}^2$$

Método antiguo (subíndice o)

$$v_o = 10 - 1 = 9$$

$$\bar{x} = 1,985$$

$$\sum d^2 = (0,02 + 2,02 + 1,22 + 1,22 + 0,62 + 1,22 + 0,025 + 0,62 + 0,02 + 3,02) \times 10^{-3} \text{ ppm}^2$$

$$s_o^2 = (10,05 \times 10^{-3})/9 = 1,11_6 \times 10^{-3} \text{ ppm}^2$$

y

$$F = s_n^2/s_o^2 = 5,08/1,11_6 = 4,55$$

Como $s_n^2 > s_o^2$, entonces $v_n = v_1$ en la Tabla 2A.1 y $v_s = v_2$. La entrada con $v_1 = 8$, $v_2 = 9$ es 4,10. Como el valor de $F = 4,45 > 4,10$, hay menos de un 5% de probabilidad de que las varianzas sean iguales. De otro modo, las varianzas de los dos métodos son diferentes ($P = 0,05$). Por otra parte, cualquier conclusión que deba ser dibujada sobre las diferencias de las medias utilizando la Ecuación 2-15 no es válida, ya que la Ecuación 2-15 no se aplica para estas dos series de resultados. (Se necesitarían otros métodos estadísticos más complejos para comparar las medias.)

Claramente, el test nuevo es menos preciso que el antiguo.

Bibliografía recomendada

MILLER, J. C., MILLER, J. N. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*. Chichester: Ellis Horwood.

Un texto introductorio que describe temas más avanzados que los mostrados aquí, pero que no se explican con suficiente detalle para ser aplicados por los lectores en sus técnicas de trabajo.

GRUBBS, F. E., BECK, G. 1972. «Extension of Sample Sizes and Percentage Points for Significance Tests of Outlying Observations.» *Technometrics* 14:847-852.

KELLY, P. C. 1990. «Outlier Detection in Collaborative Studies.» *Anal. Chem.* 73:58-64.

Trata sobre de la mejor manera de decidir si algunos datos son puntos externos.

MANDEL, J., LINNING, F. J. 1957. «Study of Accuracy in Chemical Analysis Using Linear Calibration Curves.» *Anal. Chem.* 29: 743-749.

Trata acerca de los límites de probabilidad por ajuste de mínimos cuadrados. Al principio es un libro descriptivo, para pasar a ser un libro matemático en su segunda mitad.

CAULCUTT, R., BODDY, R. 1983. *Statistics for Analytical Chemists*. London: Chapman and Hall.

Fácil de leer, libro ilustrado que cubre bien todos los aspectos. Incluye en los capítulos problemas resueltos.

HAMILTON, W. C. 1964. *Statistics in Physical Science*. New York: Ronald Press.

Tratamientos matemáticos rigurosos para la estimación, mínimos cuadrados e hipótesis de test.

YOUNDEN, W. J. 1951. *Statistical Methods for Chemists*. New York: Wiley.

Una monografía interesante con derivaciones matemáticas y ejemplos y recomendaciones para el diseño de experimentos.

GREEN, J. R., MARGERISON, D. 1968. *Statistical Treatment of Experimental Data*. Amsterdam: Elsevier.

Un tratamiento matemático completo.

MANDEL, J. 1978. In *Treatise on Analytical Chemistry*, Pt. 1, Vol. I, 2nd ed. I. M. Kolthoff and P. J. Elving, eds. New York: Wiley Interscience; Chap. 5.

Una breve y práctica revisión de la exacta evaluación y la precisión en los resultados experimentales.

CURRIE, L. A. 1978. In *Treatise on Analytical Chemistry*, Pt. 1, Vol. I, 2nd ed. I. M. Kolthoff and P. J. Elving, eds. New York: Wiley Interscience; Chap. 4.

Un capítulo muestra el tanteo del error en problemas prácticos. LITEANU, C., RICA, L. 1980. *Statistical Theory and Methodology of Trace Analysis*. Chichester: Ellis Horwood.

Un análisis exhaustivo de los temas mostrados en el título. MORITZ, P. 1981. En: *Comprehensive Analytical Chemistry*. Vol. 9. G. Svehla, ed. Amsterdam: Elsevier; Chap. 1.

Derivación de los tratamientos estadísticos utilizados a lo largo del análisis con diferentes programas de computadora utilizados para calcular alguno de ellos. Se incluyen ejemplos con referencias para numerosos métodos analíticos diferentes.

YOUNG, H. D. 1962. *Statistical Treatment of Experimental Data*. New York: McGraw-Hill.

Una monografía a nivel introductorio acerca de la probabilidad y la estadística.

YOUNG, W. J., STEINER, E. H. 1975. *Statistical Manual of the AOAC*. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Una compilación de métodos estadísticos, incluyendo métodos de comparación interlaboratorios; completo y detallado.

Ejercicios

2.1. Con una simple medición, $\sigma = 0,01$ cm. ¿Cuántas mediciones se requieren para dictaminar un resultado con $\sigma_m = 0,001$ cm?

2.2. Los resultados para la determinación del porcentaje de Cu en siete muestras fueron 39,3, 41,2, 40,4, 40,0, 41,1, 39,9 y 40,9 ppm Cu.

- (a) Calcúlese la media y la desviación estándar.
(b) ¿Cuál es el 95% del límite de confianza?

2.3. El error aleatorio general asociado con un método analítico depende del error aleatorio asociado con el muestreo, de la preparación de muestras y de la medida misma. La relación es

$$\sigma_{\text{global}}^2 = \sigma_{\text{muestreo}}^2 + \sigma_{\text{preparación}}^2 + \sigma_{\text{medida}}^2$$

La etapa de muestreo produce un error aleatorio de 0,2%, la preparación de muestras sólo 0,01% y la medida instrumental 0,1%. ¿Cuál es el error aleatorio global?

2.4. Un protocolo analítico proporciona un límite de confianza al 95% de probabilidad de $\pm 0,06$. Para cumplir con la reglamentación se requiere un límite de confianza al 90% de $\pm 0,06$. ¿Podría ser usado el protocolo?

2.5. Para disminuir en un factor de dos el valor de σ_m en un análisis, ¿en que factor se debe incrementar (o disminuir) el número de análisis?

2.6. Una inscripción en una pipeta indica que se puede utilizar para medir 5,000 mL de agua a 20 °C. Se realizaron una serie de experimentos para determinar los errores de la operación. El agua y la pipeta se encontraban a 20 °C, y los valores del volumen se determinaron por pesada del agua contenida en la pipeta. Las pesadas pudieron ser medidas hasta 0,0002 g, de tal manera que podemos ignorar cualquier error debido a la pesada. Repetidas medidas para una pipeta de 5,000 mL dieron los siguientes resultados:

4,985, 4,981, 4,989, 4,970, 4,974, 4,981, 4,976, 4,988, 4,993, 4,973, 4,970, 4,985, 4,988, 4,982, 4,977, 4,982, 4,974, 4,988, 4,979, 4,985.

Calcúlese el volumen, la desviación estándar, de límite de confianza al 95% y el recorrido de las medidas.

2.7. La ecuación de Nernst describe una relación entre el voltaje y una concentración química expresada como actividad, a_i .

$$E = E^\circ + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln a_i$$

Para $n = 1$, ¿cuál es el error relativo en a_i a 25 °C para una variación de 1 mV en E ?

2.8. Un método para la determinación de cloruro en NaCl puro da los siguientes resultados.

NaCl en la muestra (g)		Error en el análisis	
Usado	Encontrado	(en g)	(en %)
ninguno	0,0022		
0,1000	0,1023		
0,3927	0,3960		
0,8295	0,8311		
1,2976	1,3005		

- (a) Complétese la tabla.
(b) ¿Qué tipo de corrección se debe aplicar, y cuál es su valor?
(c) Después de hacer la corrección, ¿cuál es la naturaleza del error residual?
(d) Si se pudiera usar este método para NH_4Cl , ¿qué masa (en miligramos) deben tener las muestras para mantener este error residual menor que 0,1% en los valores reales después de hacer la correlación de la parte (b)?

2.9. Se analizó el contenido en etanol en diferentes cervezas y vinos por dos métodos. Uno empleaba un instrumento que utilizaba un método enzimático con detección electroquímica, que implicaba inyectar 25- μL de muestra dentro de una cámara de muestras y leer (precalibrado) el contenido de etanol en una pantalla digital después de un minuto. El otro método implicaba destilar un gran volumen de muestras y medir posteriormente las densidades de los destilados resultantes. Se encontraron los siguientes resultados % (en peso). [Ref.: Application note 110. Yellow Springs, OH: YSI, Inc.]

Muestra	Por análisis electroquímico	Por destilación y densidad
Cerveza A	3,80	3,82
Cerveza B	4,32	4,35
Cerveza C	3,48	3,47
Vino A	10,60	10,72
Vino B	5,90	5,83
Vino C	8,49	8,58

- (a) Para cada una de las seis medidas, encuéntrase la desviación relativa entre los dos métodos. (¿Importa en los resultados qué tanda se fija como «verdadera»?)
- (b) Calcúlese la desviación relativa promedio entre los dos métodos. ¿Existe una tendencia *relativa* en el método mayor que $\pm 0,005$?

2.10. Necesitamos analizar una muestra de aluminio. El error relativo inherente en todos los componentes es 0,1%. Las impurezas encontradas son Be, oxígeno y Sb, cada una como el 0,03% en peso de la muestra. El contenido medio de aluminio calculado en un análisis es 99,09% en peso de la muestra inicial de aluminio. ¿Es el contenido de aluminio más preciso tomando el análisis del aluminio o tomando el análisis de las impurezas? [Ref.: Benedetti-Pitchler, A. 1936. *Anal. Chem.* 8:373.]

2.11. Las siguientes cuestiones están referidas a la Figura 2.11.1. La figura muestra los resultados de un análisis por inyección en flujo (véase capítulo 4), en el que la altura del pico desde la línea base es directamente proporcional al contenido de la muestra. En el gráfico se muestran las me-

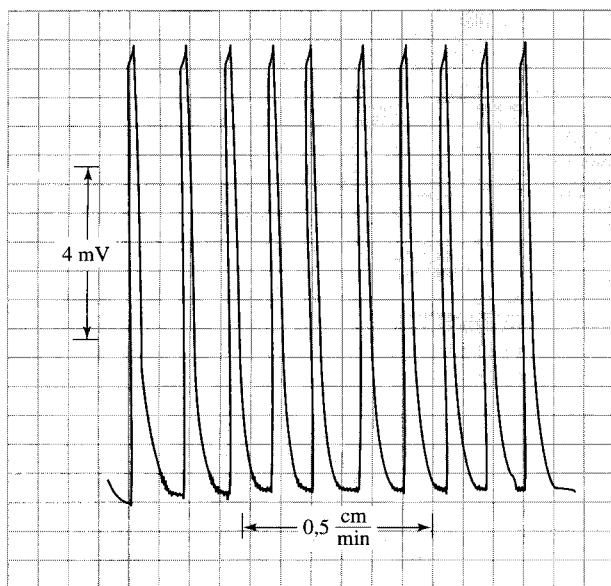


FIGURA 2.11.1 ▲
[Cortesía de Suzanne Lunsford.]

didias tomadas para determinar un neurotransmisor con un electrodo recubierto con un polímero especial que tiene como base la configuración 18-corona-6, un políéter cíclico.

- (a) ¿Cuál es la desviación estándar relativa de la altura del pico para las diez muestras? Supóngase que no hay fluctuación de la línea base.
- (b) Estímese la desviación relativa estándar debida a errores en la lectura de la gráfica incluyendo las medidas y la extrapolación de la línea base bajo el pico.

2.12. Calcúlese la incertidumbre propagada en el cálculo

$$\frac{81,32(\pm 0,09) \cdot 0,1399(\pm 0,0002)}{-3,21(\pm 0,01)} - 22,3323(\pm 0,0001)$$

$$= -25,8764 (\pm \quad)$$

Escríbese el número correcto de dígitos para el resultado y para la desviación estándar.

2.13. Seis réplicas de la determinación de zinc en un mismo cabello dieron los siguientes resultados (en ppm):

2,67 2,75 2,82 3,01 2,94 2,87

- (a) Determinése la media y la desviación estándar para los resultados anteriores.
- (b) Después de dos meses, se repitió el estudio. El resultado fue $(3,03 \pm 0,22)$ ppm (valor $\pm s$) para cinco muestras iguales. ¿Hay diferencias significativas entre las dos tandas de datos a un nivel de probabilidad del 95%?

2.14. El nitrato de boro se usa para la fabricación de semiconductores por crecimiento de cristales. Hasta el momento se utilizaba un método muy antiguo, largo y laborioso pero muy preciso y exacto para la determinación de hierro. Éste fue reemplazado por un nuevo método menos laborioso. Se aceptó el valor de 0,150 ppm en peso obtenido por el método antiguo como «valor real». El nuevo método arrojó un valor de $0,146 \pm 0,002$ cuando se utilizó para analizar ocho muestras idénticas a las usadas con el método antiguo.

- (a) Calcúlese el error medio del nuevo método.
- (b) Calcúlese la desviación estándar de la media (s_m) para el nuevo método de análisis.
- (c) ¿Está verificado el nuevo método frente al antiguo con un 95% de límite de confianza?

2.15. Para la función $R = A - B + C$ y la fórmula de la diferencia total de R , escríbase la expresión algebraica para la propagación del error sistemático (*no* aleatorio) con errores a , b y c .

2.16. Para la función $R = AB/C$, hállese la expresión algebraica para los errores sistemáticos absolutos y relativos si a , b y c son los errores en cada factor.

2.17. Basándose en la diferencial total, ¿cómo debe escribirse el valor de la siguiente cantidad?

$$\log_{10}(1,125 \times 10^{13})$$

- 2.18. Se empleó una cromatografía de capa fina de alta resolución para determinar la concentración de aspartano en bebida de cola sin calorías, hallándose los siguientes resultados de latas diferentes del mismo lote de fabricación.

Muestra	Aspartano encontrado (mg/100 mL)
Lata 1	10,1
Lata 2	11,9
Lata 3	10,1
Lata 4	9,34
Lata 5	9,38

[Datos en Sherma, J., Chapin, S., Follweiler, J. M. 1985. "Quantitative TLC determination of aspartame in beverages," *American Laboratory*, 17(3): 131-133.]

Calcúlense la media, la mediana, la desviación estándar y el L.P. al 95% para el contenido de aspartano en ese lote de producción.

- 2.19. Una prueba de calibración estándar para Pb^{2+} arrojó los siguientes resultados. La técnica analítica usada produjo una respuesta lineal para el contenido en plomo.

$\mu\text{g/L Pb}$	Respuesta instrumental
0,00	1
1,00	125
2,00	246
5,00	619
10,00	1250

- (a) Representéense los resultados con la respuesta en el eje y.
 (b) Mediante un programa, hállese la mejor recta para los puntos y señálense el coeficiente de correlación, la pendiente, la ordenada en el origen y cualquier otra información estadística.
 (c) Si en las mismas condiciones una muestra desconocida produce una respuesta de 1019, ¿cuál es la concentración de esta muestra desconocida?
- 2.20. Usando los datos del ejercicio 2.19 y la ecuación de la Tabla 2.7, calcúlense la pendiente y la ordenada en el origen para la calibración y compárense estos resultados con los valores obtenidos usando programas gráficos. Truco: Este proceso es menos tedioso si se construye una tabla con los valores del ejemplo que se indica a continuación:

X_i	Y_i	X_i^2	$X_i Y_i$
...
ΣX_i	ΣY_i	$\Sigma (X_i^2)$	$\Sigma (X_i Y_i)$

- 2.21. Muéstrase la expresión para el error relativo y el error absoluto para R en términos de A .

- (a) $R = \ln A$
 (b) $R = e^A$
 (c) $R = 2,193 / e^A$
 (d) $R = \log A$

- 2.22. Se analizaron por dos métodos diez muestras de melaza para conocer los «azúcares totales convertibles». El primero es un método instrumental relativamente rápido; el otro es un método por vía húmeda más tedioso. Se obtuvieron los siguientes resultados. [Ref.: Application note 100. Yellow Springs Instruments Co., Inc., Yellow Springs, OH.]

Muestra	Por análisis instrumental	Por vía húmeda
A	43,1	49,8
B	43,6	49,9
C	45,1	50,3
D	50,6	56,3
E	47,5	54,4
F	47,1	54,0
G	51,6	57,3
H	50,8	57,5
I	50,9	57,0
J	44,1	49,8

- (a) Tomemos el valor «real» como el encontrado por vía húmeda. Para cada una de las muestra A-J, calcúlese la desviación relativa entre los dos métodos.
 (b) Calcúlese la desviación relativa promedio. ¿Existe una tendencia significativa ($>0,5\%$) en el método instrumental?
 (c) ¿Hay suficiente información para decidir si se debe hacer un ajuste relativo o absoluto en alguna corrección necesaria?
 (d) Si la tendencia es significativa, ¿cuál es el valor de la corrección que podemos hacer a los resultados instrumental del método? Expresar la respuesta como:

$$\text{resultado instrumental (+ o } \times \text{) valor} \\ = \text{resultado (vía húmeda)}$$

- 2.23. La siguiente tabla contiene los datos de análisis elemental proporcionados por cinco diferentes grupos de investigación en una muestra de roca de la luna. La muestra fue recogida por la tripulación del Apolo 17 y fue denominada como muestra Mare Basalt 70215. [Reeditado con el permiso de Palme, C., Jagoutz, E. 1977. *Anal. Chem.* 40:717. Copyright 1977, American Chemical Society.]

- (a) Calcúlese la media y la desviación estándar del contenido de cada uno de los elementos.
 (b) Calcúlese la desviación estándar relativa para cada uno de los elementos,
 (c) ¿Es un punto externo el resultado del K en el grupo 4?

Datos de los elementos mayoritarios (% en peso)						
Grupo	Mg	Al	Si	Ca	Ti	Fe
1	4,82	4,69	17,72	7,70	7,84	15,51
2	5,14	4,64	17,39	7,45	7,88	15,25
3	4,77	4,77	17,98	7,82	7,48	15,08
4	5,63	4,65	17,58	7,73	7,91	14,94
5	4,98	4,57	17,90	—	7,70	15,70
6	5,03	4,64	17,82	7,62	7,66	15,83

Datos de los elementos minoritarios (ppm)					
Grupo	P	S	K	Cr	Mn
1	500	1880	340	2950	2044
2	390	1800	330	2870	2170
3	430	1700	415	2670	2250
4	300	—	660	2800	2090
5	—	—	340	2680	1940
6	440	1620	407	2820	2020

(d) ¿Qué serie de la tabla de los elementos minoritarios tiene el mayor recorrido? ¿Cuál fue el mayor recorrido relativo?

2.24. Para una medición simple, $\sigma = 0,035$ cm. ¿Cuántas mediciones se requerirán para conseguir una media con $\sigma_m = 0,01$ cm? (Recuérdese que es muy complicado hacer una medición fraccionada.)

2.25. Después de realizar una serie de estándares que contienen Cr^{3+} , se calculó una regresión lineal que relacionaba la concentración molar del patrón, C , con la respuesta instrumental, R .

$$R = 1,5 \times 10^{+4} C + 0,004$$

Si las siguientes réplicas dan respuestas de 0,556, 0,552 y 0,555,

(a) Calcúlese la correspondiente concentración de cada una de las respuestas instrumentales.

(b) Calcúlese la desviación común estándar para el contenido en cromo desconocido.

2.26. Se obtuvieron los siguientes resultados de componentes orgánicos en una zona donde se habían desinstalado varios tanques de gasolina. Se tomaron muestras duplicadas de los fondos de los huecos donde habían estado situados los tanques. Los componentes medidos correspondían a una serie de compuestos que constituyen lo que se denomina fracción diesel. Se realizó un análisis y un reanálisis para la fracción diesel en ambas muestras, y con las muestras duplicadas un segundo análisis por un laboratorio externo. Los resultados fueron:

	Muestra 1	Muestra 2
Análisis	603 ppm	84
Reanálisis	251	104
Laboratorio independiente	544	165

[Datos de Harnig, C. A. 1998. "Consistent Results through Consistent Sampling," *LC-GC*, 16:978.]

- (a) Calcúlese la desviación media y estándar para cada una de las muestras.
- (b) Entre las muestras duplicadas, ¿es significativa la diferencia entre ellas a un nivel de probabilidad del 95%?

2.27. Varios experimentos muestran que las partículas emitidas desde las plantas térmicas de producción de electricidad tienen diferente relación entre lantano y tierras raras (La/TRs) que en las partículas encontradas en los sustratos. (La relación se establece como la relación entre lantano obtenido frente a cada una de las tierras raras presentes en la muestra.) Se ha analizado el enriquecimiento en lantánidos de los aceites de usados. Se analizaron once aceites de varias plantas energéticas de Nueva York, reflejando los siguientes resultados (expresados en La/TRs).

Muestra #	Lantánidos							
	Ce	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Yb	Lu
22	1,2	2,4	13	465	32	—	270	200
23	1,0	1,6	13	88	—	—	—	194
24	2,1	3,0	48	403	42	452	237	1530
25	1,7	2,6	58	436	—	599	349	2070
26	0,8	1,8	16	738	51	357	647	6550
27	0,9	1,4	9	42	5	45	21	121
28	0,9	2,0	18	797	47	452	717	6270
29	1,6	2,5	30	881	73	810	1080	9530
30	1,0	2,2	29	152	34	289	96	530
32	1,9	2,4	36	303	31	369	121	677
38	1,8	2,2	26	100	19	142	65	385

[Datos de Kitto, M. E. 1993. "Trace-Element Patterns in Fuel Oils and Gasolines for Use in Source Apportionment," *J. Air Waste Manage. Assoc.* 43: 1381-1388.]

- (a) Por la lectura de la tabla, sin hacer ningún cálculo formal, ¿se observa algún punto externo obvio?
- (b) Para cada elemento, calcúlese la desviación media y la estándar y al 95% L.P. No incluir los puntos externos identificados en el apartado (a).
- (c) Una propuesta para explicar este enriquecimiento puede ser el paso al aceite de parte del catalizador

durante el proceso de craqueo. Se encontraron los siguientes La/TRs para un catalizador de craqueo:

Ce: 1,0 Nd: 1,8 Sm: 19 Eu: 847
Gd: 34 Tb: 565 Yb: 473 Lu: 7920

¿Son los resultados obtenidos en (b) consistentes con esta hipótesis (basada en al 95% L.P.)?

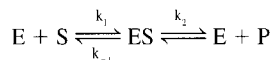
- 2.28. Se inició un análisis de la sangre almacenada en contenedores de PVC, para determinar si el plástico di(2-etilhexil) ftalato se desprendía de los contenedores. Las muestras de las bolsas fueron analizadas después de 1, 7 y 21 días de almacenamiento, dando los siguientes resultados (se tomaban muestras diferentes cada día).

Día 1:	5	6	6	7	8	9	$\mu\text{g mL}^{-1}$					
Día 7:	11	18	21	24	41	44	59	61	$\mu\text{g mL}^{-1}$			
Día 21:	21	34	50	54	60	61	64	69	71	75	77	81
	83	95,5	99									

[Datos de Bhujle, V. V., Nair, P. D., Sreenivason, K. 1984. *Analyst* 109:177-178.]

- (a) Calcúlense la desviación media y estándar para cada una de las series de muestras.
(b) ¿Tienen algún significado las diferencias entre las medias? (Compárense día 1 con día 7, día 1 con día 21 y día 7 con día 21.)

- 2.29. Algunas reacciones entre una enzima (E) y un sustrato (S) dan un producto (P), siendo



Para esta reacción, se define la constante K_M como:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

que es una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato.

Para una reacción con más pasos entre ES y E + P, se define una constante k_{cat} que se incorpora en todos los pasos. Una relación global V entre el tiempo de reacción t en términos de constante de velocidad y la concentración de las enzimas y el sustrato es:

$$V = \frac{k_{\text{cat}} [E][S]}{K_M + [S]}$$

Si la concentración de sustrato es muy alta, el valor de V se convierte en:

$$V = \frac{V_{\text{max}}[S]}{K_M + [S]} \quad ; \quad \frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\text{max}}[S]} + \frac{1}{V_{\text{max}}}$$

Tomando esta ecuación, se observa que conociendo V_{max} y K_M , y midiendo las velocidades iniciales con un valor fijo de $[E]$ para diferentes valores $[S]$, podemos representeas $1/V$ frente a $1/[S]$.

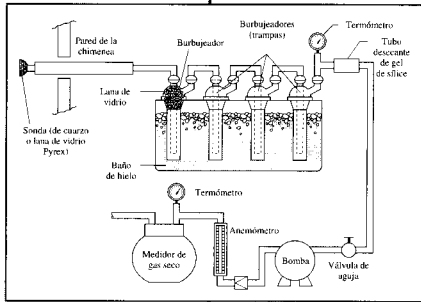
- (a) Dados los siguientes resultados para la reacción enzima-sustrato, represéntese una recta como se ha explicado anteriormente, enumerando la pendiente y la ordenada en el origen, así como la desviación estándar.

$[S], \mu\text{M}$	$V, \mu\text{M min}^{-1}$
0,281	3,70
0,644	6,18
0,952	7,89
1,19	8,82
1,56	10,7
1,94	11,3
2,42	13,0
2,59	13,2
3,17	15,4

- (b) Basándose en las respuestas de (a), encuéntrense V_{max} y K_M , además de los errores propagados en esos valores.

CAPÍTULO

Muestreo

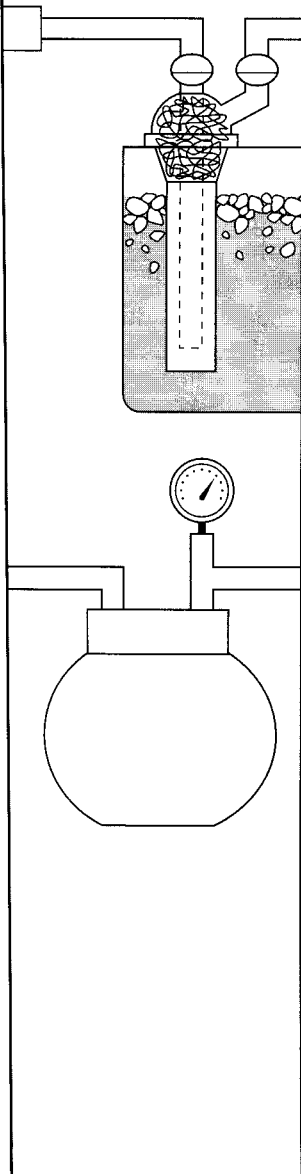


Contenido

- 3.1. Factores relacionados con un muestreo eficaz
- 3.2. Muestras válidas: representatividad y homogeneidad
- 3.3. Un modelo gráfico
- 3.4. Muestreo de mezclas
- 3.5. Integridad de las muestras
- 3.6. Separaciones físicas en el muestreo
- 3.7. ¿Cuántas muestras son necesarias?

Profundizando

- 3A. La distribución binómica



3.1. Factores relacionados con un muestreo eficaz

Supongamos que recibimos en una planta de tratamiento el envío de un barco cargado de mineral, del que necesitásemos conocer su contenido medio de metal con el fin de planificar el proceso de refinado. Cuando observamos a simple vista el material recibido, es fácil distinguir multitud de piezas de diferentes colores y tamaños. Las piezas grandes aparecerán estriadas, indicando que son **heterogéneas**; cada parte es diferente. Además, posiblemente las rocas más grandes, por efecto del movimiento en el transporte, se encuentren en la parte inferior de los montones —seguramente lejos de donde puedan verse—. ¿Cómo tomaríamos las muestras del envío para poder conocer el contenido medio de metal?

¿Qué necesitaríamos para establecer la concentración de un contaminante como el mercurio en una red de suministro municipal? Posiblemente queramos saber algo más que simplemente cuánto mercurio hay en una muestra extraída de un arroyo. Posiblemente necesitemos conocer algo más que simplemente la cantidad de mercurio que existe en una muestra cualquiera. Puede que necesitemos saber dónde y cómo se mueve el mercurio. ¿Estaba disuelto el metal en el agua? ¿Está o no como pequeñas partículas que se puedan sedimentar fuera del líquido? ¿Está el mercurio en el seno del líquido, o en la superficie como partículas tan pequeñas que puedan permanecer indefinidamente en suspensión?

¿Está el mercurio como un compuesto orgánico-mercúrico volátil? (Estos compuestos se producen por las interacciones del mercurio con las bacterias.)

Consideremos el caso de unas esferas microscópicas encontradas en el tejido de un suéter perteneciente a una persona sospechosa de disparar un arma en un asesinato. Las esferas pueden proceder del propulsor de las balas, pero el sospechoso afirma que es un soldador, así que las partículas podrían provenir de los desprendimientos de una varilla de soldadura. ¿De dónde provienen las partículas? ¿Cómo descubrirlo?

Éstos son tres problemas típicos que involucran los principios y métodos de muestreo de materiales para el análisis. Si las muestras de laboratorio no representasen el contenido real de un material, o mostrasen grandes fluctuaciones en cuanto al contenido, el error se sumaría a errores de otras partes del análisis y la determinación carecería de sentido.

Este capítulo presenta algunos de los fundamentos de los métodos de muestreo; sin embargo, los detalles son demasiado diversos, por lo que vamos a desarrollar sólo unos pocos. Debemos darnos cuenta de que la elección del método de muestreo a menudo depende de las propiedades químicas de las sustancias que se analizan, y de otros elementos y compuestos presentes en la muestra.

Decidir cómo obtener una muestra para su análisis depende de:

1. El *tamaño* del lote del que se ha de tomar la muestra, ya que puede variar de la carga de un barco de mineral a un organismo microcelular de una micra de diámetro.
2. El *estado físico* de la fracción de muestra que se ha de analizar, por ejemplo, un sólido cristalino, un sólido vítreo, un líquido o un gas.
3. Las características químicas del material que se ha de analizar. Si se buscara una especie específica, no se debería hacer nada que pudiera destruir o alterar la identidad o cantidad de analito antes de hacer el propio análisis.

Por consiguiente, el método de muestreo de una sustancia y su preparación para su análisis está, inevitablemente, unido al método —o a los métodos— de análisis. El método de muestreo es una parte integral y significativa del análisis químico.

La toma de muestras del progreso de una reacción, ya ocurra en un frasco de laboratorio, en un reactor o en una planta de proceso, en un río o en un campo abierto, o en un organismo biológico, se puede hacer tanto de forma intermitente como continua. Si la muestra fuese continua, el «laboratorio» debería estar conectado directamente con la

reacción. Esta idea, que puede parecer trivial al principio, no es tan sencilla si la muestra consiste en un gas a 600 °C o un metal fundido a 2000 °C en un fundidor. En biología, a menudo sólo es posible conseguir una fracción limitada de muestra de un organismo sin dañarlo irreversiblemente. También el tamaño de un sensor puede estar limitado por su colocación (por ejemplo, un sensor dentro de una aguja en una vena de un brazo). En un campo o en un río puede ser complicado decidir cuándo, dónde y qué equipo se ha de utilizar para tomar las muestras necesarias para un estudio medioambiental. Éstos son algunos de los retos que supone el muestreo en el análisis químico.

3.2. Muestras válidas: representatividad y homogeneidad

Las dos metas a lograr en el muestreo son asegurarse que las muestras sean representativas de la sustancia que se va a analizar, y que las muestras analizadas en el laboratorio sean **homogéneas**. El término *muestra representativa* tiene el mismo significado en este contexto que en el uso común: la composición de la porción de la muestra tomada para el análisis ha de ser la misma que la muestra de la que partió. *Homogéneo* significa que la muestra es similar en cualquiera de sus partes. Cuanto más representativas y homogéneas sean las muestras, menor será el error derivado de la toma de muestra. Tal y como se estableció al tratar la propagación de errores en el Capítulo 2, un análisis no puede ser más preciso que su operación menos precisa, y, frecuentemente, la toma de muestras es el factor que limita la precisión y exactitud de un análisis.

Muestra representativa

Si la muestra no fuese representativa en la sustancia que se quiere analizar, los resultados del análisis no reflejarían con exactitud su contenido en la muestra. Casi todos los materiales de los cuales se han de tomar muestras, con la excepción de pequeños volúmenes de líquidos y gases, son **heterogéneos** en su composición. Por ejemplo, un sólido heterogéneo podría estar compuesto de una mezcla que contenga partículas de diferentes tamaños, y, dentro de cada partícula individual, tenga una variación de la composición en diferentes zonas. Una piedra es uno de estos sólidos heterogéneos; es un conglomerado de pequeños cristales de composición variable. Otro material heterogéneo pudiera ser un campo de hierba donde se han de analizar nutrientes naturales como el fósforo o contaminantes como PCB.

La mezcla de los compuestos químicos de cualquier muestra debería ser una réplica en miniatura de la global. Se debería tomar una mezcla completa de las muestras y reducirlas a una fracción que represente con exactitud el total.

Consideremos nuevamente el carguero de mineral. ¿Cómo se podría tomar una muestra analítica cuando la gigantesca carga se compone de una enorme cantidad de pequeñas partículas y fragmentos? Una manera puede ser tomar diferentes porciones de mineral de la cinta que conduce la carga a la planta. Sin embargo, cuando la mena con fragmentos de distintos tamaños se sacude por vibración en la cinta, las partículas —de tamaño desde polvo a piezas de varios kilogramos de peso— generalmente se separan en diferentes puntos. Además, es posible que las partículas de diversos tamaños tengan composición diferente. De hecho, la diferente composición puede ser la causa de que el material se separe durante el transporte. De esta manera, para tomar una muestra representativa de la cinta transportadora, deberemos tomar muestras a través de la sección transversal del material. Estas muestras periódicas se denominan **incrementos**. Pueden ser analizadas individual o colectivamente para hacer una muestra representativa del total.

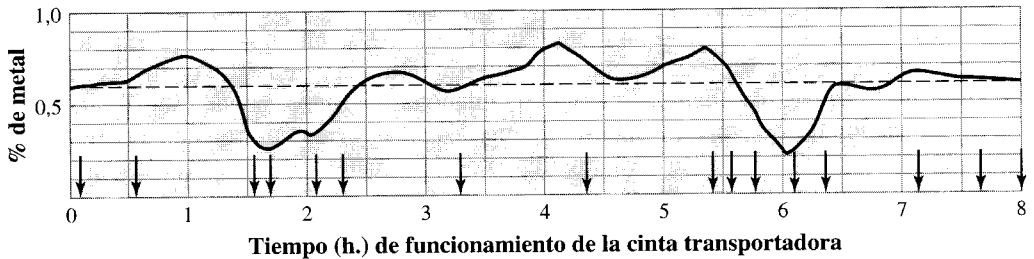


FIGURA 3.1 ▲
Dibujo del contenido real de metal en una sección transversal de mena frente a los tiempos de muestreo.

El contenido fluctúa alrededor de un valor medio del 0,6%. Las flechas indican 16 momentos aleatorios en los cuales se tomaron muestras de la mena; las muestras recogidas dieron un valor por debajo del valor real ponderado. Dieciséis muestras tomadas regularmente en el tiempo cada media hora habrían producido un resultado más exacto con referencia al contenido promedio.

La siguiente pregunta será: ¿cuándo se han tomado estas muestras? ¿Se han obtenido en tiempos regulares o irregulares? La Figura 3.1 demuestra que la toma de muestras de una cinta transportadora necesitó ocho horas, tiempo utilizado en descargar el barco. La línea nos indica una medida en continuo del contenido de metal en un punto fijo a lo largo de la cinta transportadora.

¿Qué encontraríamos si el muestreo hubiese sido realizado aleatoriamente y mucho menos a menudo (en los puntos que detallan las flechas)? En total se habrían analizado 16 muestras. Por casualidad, las muestras recogidas entre los intervalos de tiempo más cortos coinciden con los puntos donde la mena es baja en contenido de metal: horas 1,5-2,5 y 5,6-6,5. El valor global —el promedio de las 16 medidas— será significativamente bajo. Si, por el contrario, las muestras se hubieran tomado en intervalos regulares de media hora, el promedio se aproximaría al promedio real de la carga.

Téngase en cuenta que, para obtener una muestra representativa en el tiempo, parece razonable (y puede justificarse estadísticamente) tomar muestras regularmente y con mucha frecuencia. Incluso entonces podríamos obtener una representación imperfecta. Un muestreo perfecto requeriría un esfuerzo infinito.

La regla general para tomar muestras de una gran cantidad de producto de una cinta transportadora (o de cualquier corriente continua) es la siguiente: *El muestreo se ha de realizar en intervalos regulares y debe ser fijo en forma y método.* Recordemos que en cada muestra se ha de tomar una gran sección transversal.

Una regla similar se utiliza para analizar un montón de material: Para obtener una muestra aleatoria el muestreo ha de ser invariable en el método. Tal método se conoce como **apilar y dividir en cuartos**, y conlleva dividir en cuartos un montón de material (si es imposible físicamente se hace imaginariamente, ya que es difícil dividir un montón de 10.000 kg). Se toman muestras de cada uno de los cuatro cuartos (norte, sur, este y oeste). Estas muestras se muelen y se apilan en un pequeño montón cónico, el cual se alisa y se divide nuevamente en cuatro cuartos, eligiendo dos cuartos opuestos aleatoriamente. Estos cuartos se machacan y mezclan posteriormente para volver a apilarlos. Este procedimiento fijo (corte, elección aleatoria de dos cuartos opuestos, mezcla, molienda y reapilado) se realiza hasta que obtengamos una muestra de un tamaño adecuado para poder trabajar con ella en el laboratorio. Esta técnica reduce al mínimo la distorsión en el muestreo.

Si el montón original es tan grande que el muestreo no se puede hacer del total —ya que no se puede llegar al centro del montón—, debemos hacer el muestreo en la cinta transportadora, por donde pasa la totalidad del material, obteniendo así una muestra más

Esto se comprueba en el Ejercicio 3.1.

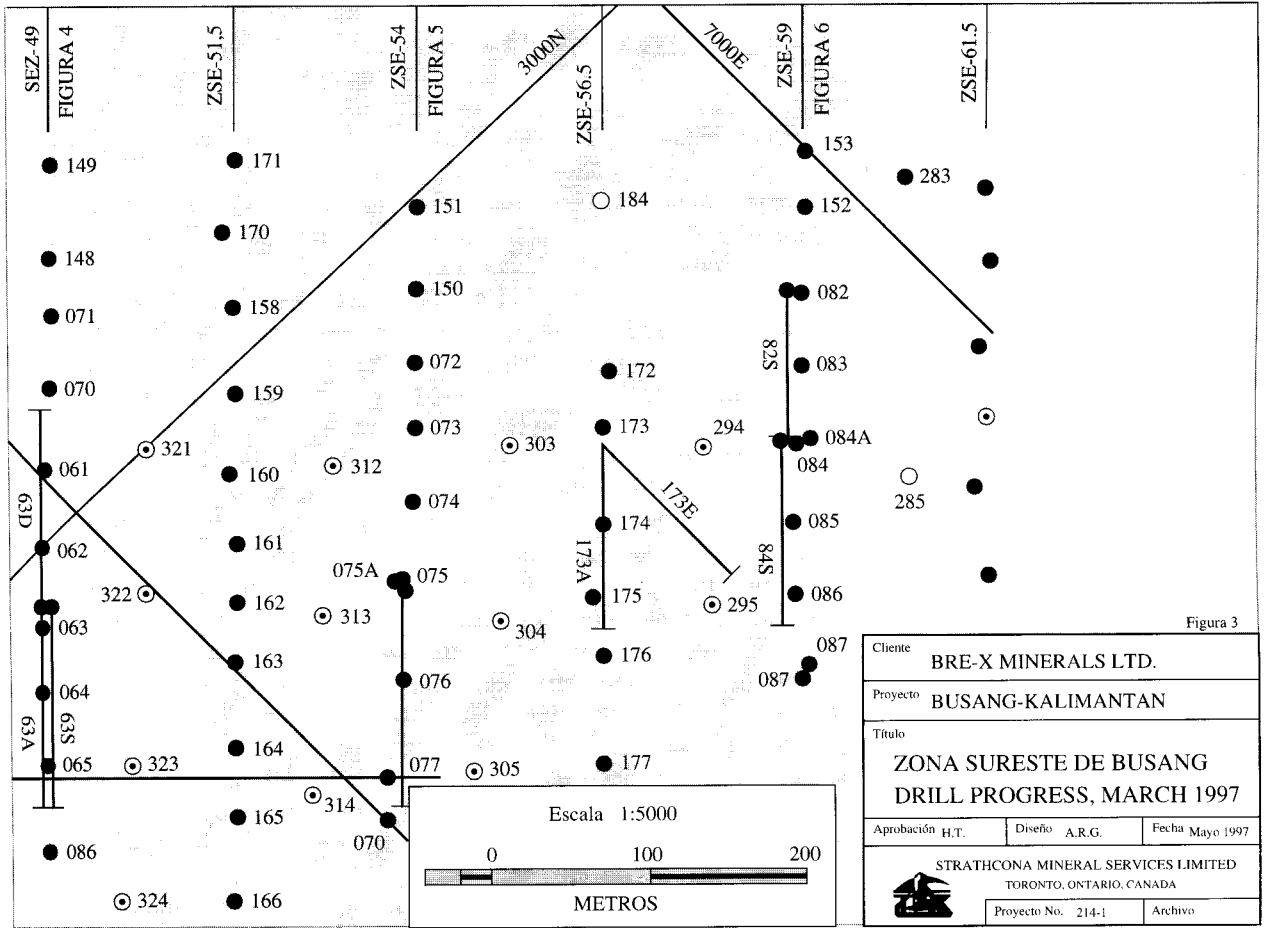


FIGURA 3.2 ▲
Porción de un mapa mostrando lugares regularmente espaciados donde se realizaron sondeos para una nueva explotación minera.

[Ref.: Informe interno del Proyecto Busang, cortesía de Strathcona Mineral Services, Ltd.]

representativa que con el método anterior. De manera similar, si las muestras se han de obtener de un área muy extensa, *el muestreo se debe realizar en puntos espaciados regularmente*. Como ejemplo fijémonos en la Figura 3.2. Espaciar los puntos en una superficie cubierta con hexágonos imaginarios e idénticos como una colmena también puede servir para el mismo propósito. El tamaño de los hexágonos se establece por el número de muestras deseadas en el área.

Tomar muestras regularmente en espacio y tiempo no es el único protocolo siempre que sea posible tomar muestras, analizarlas y devolverlas al lugar para poder analizarlas en posteriores análisis. Si esto ocurriese pudiera ser más eficaz analizar ciertas áreas más que otras, como se comenta a continuación.

Muestreo jerárquico múltiple

Cuando hacemos un muestreo en una zona muy extensa como un campo, y cuando el muestreo se puede hacer en más de una etapa, se pueden lograr resultados más precisos

obteniendo más muestras donde la concentración del analito sea muy alta y menos donde la concentración sea menor. Por ejemplo, se sospecha que pudieran existir, debido a unos vertidos, algunas sustancias indeseadas en un determinado suelo o terreno. Queremos saber dónde se encuentran y en qué cantidad. Debemos hacer el primer muestreo tomando muestras del suelo igualmente espaciadas. En el laboratorio descubrimos que una zona del terreno tiene niveles muy altos de analito y las demás tienen niveles muy bajos. Volveremos al terreno y tomaremos muestras de la zona de mayor nivel para establecer la extensión y la concentración del analito, ignorando el resto del área. Esto dará un resultado estimado más preciso de los contenidos del terreno.

La razón por la que esta aproximación es válida se discute fijándonos en un caso limitante. Supongamos que todo el analito se encuentra en un área y su nivel es cero en el resto de las áreas. Cualquier incertidumbre en las áreas cero rechazadas, no contribuye a la incertidumbre promedio de todo el terreno. Muy al contrario, toda la incertidumbre sobre el contenido reside en la región con mayores valores de analito. Claramente, si tomásemos una sola muestra de la región de mayor contenido, la incertidumbre en el contenido sería alta. Además, no conoceríamos la extensión de la distribución. Por consiguiente, si concentramos nuestra toma de muestras en la zona de mayor nivel obtendremos una estimación mejor de la concentración de analito debido a las múltiples muestras, y podremos definir más fácilmente la extensión espacial de nuestro contaminante. Nuestro conocimiento del contenido y la precisión de la medida será mucho mayor.

Cuando el contenido de analito puede tener cualquier valor —no únicamente un valor muy alto o cero—, tomar muchas muestras regularmente espaciadas de una extensa superficie o de un gran volumen de bajo contenido en la sustancia buscada, únicamente aportará una pequeña cantidad al total. Todo el muestreo añade poca información, y la precisión de las muestras es menos relevante que la cantidad más baja de analito. Como resultado vemos que se pueden realizar ensayos más sencillos y baratos, aunque sean menos precisos, para analizar las áreas de bajo contenido, guardando los más complicados y precisos, a la vez que caros, para las áreas de alto contenido en analito.

Por supuesto, si la parrilla de muestreo es grosera comparada con el tamaño de los trozos de alta concentración, debemos desechar completamente muchos de ellos. Pero si el terreno está cultivado de maíz, podríamos observar si el maíz que crece en un área se encuentra poco crecido o descolorido comparado con el que lo rodea. Esto nos puede llevar a tomar muestras en el área de bajo crecimiento. En efecto, la observación visual es el primer paso del muestreo, aun pensando que es una medida químicamente muy imprecisa. No obstante, el aspecto del maíz comporta el mismo resultado que tomar muestras cada pocos centímetros, y puede ser un primer paso muy efectivo del muestreo.

Se utilizan dos nombres para el tipo de análisis que dependen de las etapas de muestreo y análisis: **doblo muestreo** y **muestreo clasificado**. Ambos son diferentes en el tratamiento estadístico y el modo de operación, pero los dos dependen en gran manera de elegir una **parte** de las muestras que se han de medir con mayor precisión. Ambos métodos ahorran trabajo y esfuerzos comparados con el método de muestreo descrito al principio, el cual se denomina en lenguaje estadístico como muestreo aleatorio. No obstante, no es sencillo decidir entre precisión y localización frente al número de muestras que se obtienen y se analizan de un área de concentración y distribución desconocida.

Preparación de mezclas homogéneas

Uno de los tratamientos para una muestra sólida consiste en machacarla, pulverizarla, molerla o de alguna manera convertirla en un polvo mezclado completamente. Los métodos utilizados para reducir el tamaño de las partículas son tan diferentes como lo es la diferencia de naturaleza de las muestras que se han de analizar. Téngase en cuen-



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 3-1

Observar el mundo en una duna de arena (Archivos atmosféricos en dunas de arena).

El muestreo en el análisis medioambiental es una de las situaciones más difíciles de toda la Química Analítica. No sólo es que los materiales analizados generalmente son heterogéneos, sino que numerosos procesos naturales pueden alterar las especies químicas que se quieren analizar, así como su localización. La validación del muestreo se presenta dificultosa. En este caso de estudio, los científicos quieren validar una muestra de aire contenida durante más de un siglo dentro de una duna de arena. Si el aire fuese representativo, nos ayudaría a conocer la más reciente historia de la atmósfera (con una escala de tiempo geológico).

La arena de las dunas es permeable por debajo del nivel freático, y el aire puede difundirse desde la superficie al interior de la duna. Para obtener muestras representativas de la composición del gas se debe determinar la velocidad de difusión y la composición del aire no contaminado con las sustancias de interés. Las posibles fuentes de contaminación pueden ser un chorro de aire exterior, la contaminación debida a actividad microbiana y las diferentes solubilidades de los gases en el agua líquida que cubre las partículas de arena. (Por término medio, el contenido de agua disminuye paulatinamente por encima del nivel freático, por un equilibrio entre el efecto de la capilaridad y la gravedad).

Se probó si había habido mezcla con aire exterior a lo largo del tiempo midiendo las cantidades presentes en las muestras de clorofluorocarbonos y del gas inerte ^{85}Kr , de los cuales se conoce la cantidad que se ha añadido a la atmósfera durante los últimos cincuenta años (véase Figura 3-1.1). Se construyó un modelo del movimiento de los gases desde la superficie basado en los valores de las velocidades de difusión en la arena, en la solubilidad de los gases en agua y en la estratificación gravitacional (los isótopos más pesados se hunden antes). Para probar el modelo se compararon las predicciones con el análisis del aire de una duna estable (migración inferior a 250 cm/año).

El aire se obtuvo taladrando agujeros de 60 metros de profundidad, introduciendo tubos de varias profundidades y rellenando los agujeros alrededor de los tubos. Para permitir la eliminación del aire superficial que ha entrado durante la operación de taladrado, se bombearon las muestras cerca de un mes después de esta operación. Antes de tomar muestras de aire de la duna, los tubos interiores se cambiaron con un tiempo suficiente para llenarlos de gas puro de la

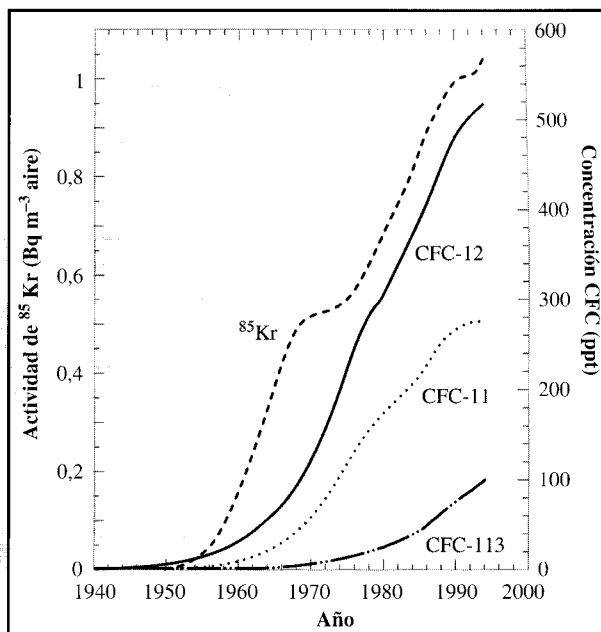


FIGURA 3-1.1 ▲

duna. Las muestras para la determinación de CFC, CCl_4 , CH_4 y N_2O se tomaron de los conductos superiores de las bombas mediante la adaptación de válvulas a los frascos de acero inoxidable electropulido. Las muestras para analizar el kriptón se obtuvieron de dos maneras: ambas comprimían el gas a 1000 atm para después almacenarlo en un globo de 1000 litros y a continuación pasarlo por una trampa criogénica. Sin embargo, ambos métodos podían traer consigo una contaminación significativa. Las muestras para el análisis de oxígeno, dióxido de carbono e isótopos se bombearon de 2 a 5 litros/min, secadas criogénicamente y almacenadas en frascos de cristal de 2 litros de capacidad.

Las Figuras 3-1.2 a 3-1.4 muestran algunos de los resultados. La concentración de sustancias inertes ponen de manifiesto que el flujo de los gases tiene efecto únicamente cerca de la superficie; la edad de la muestra crece con la profundidad, tal y como se esperaba según el modelo de difusión. Estas características se muestran en la Figura 3-1.2. Sin embargo, el perfil de concentración del metano (Figura 3-1.3) muestra que las bacterias consumen esa molécula rápidamente. A lo largo de 10 metros el metano casi

Observar el mundo en una duna de arena. . . (continuación)

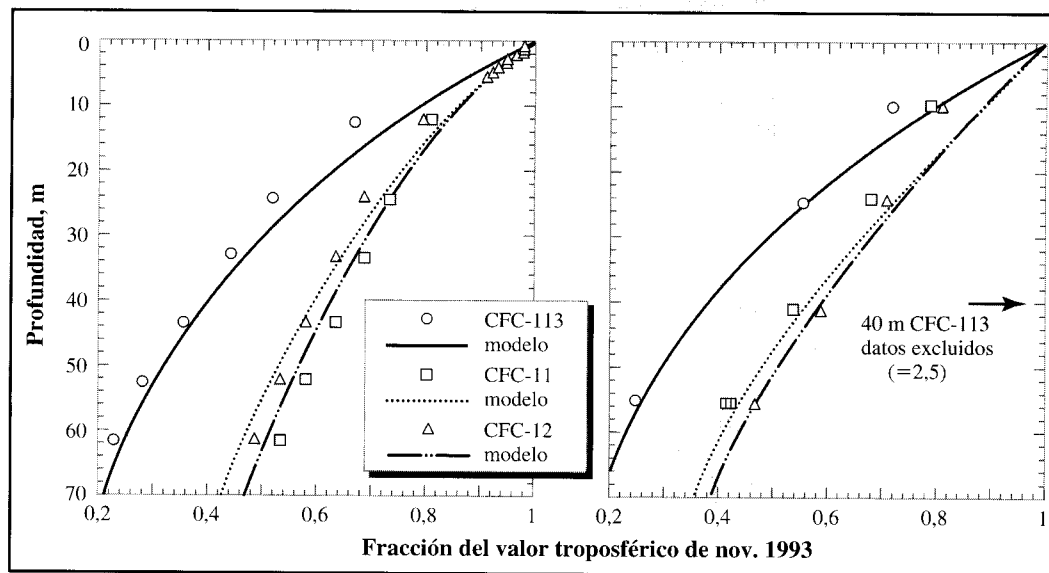


FIGURA 3-1.2 ▲

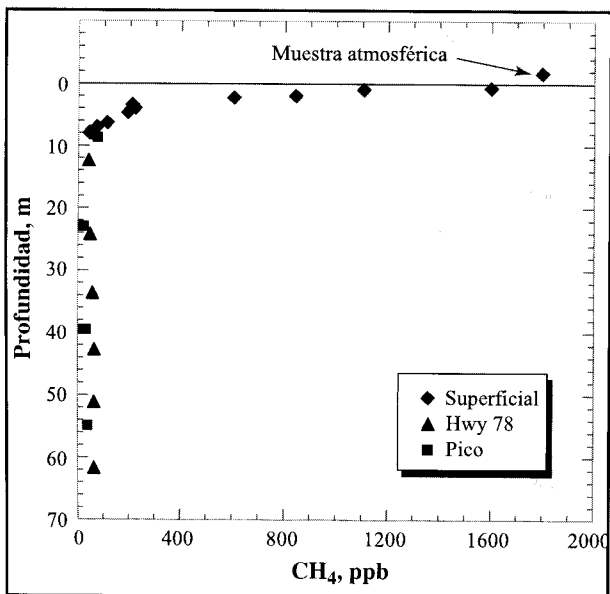


FIGURA 3-1.3 ▲

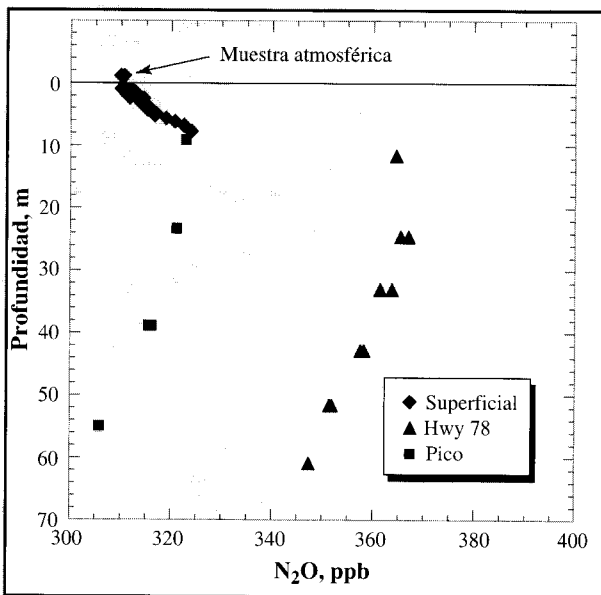


FIGURA 3-1.4 ▲

ha desaparecido. Este metabolismo bacteriano también invalida cualquier medida de oxígeno y de dióxido de carbono que pudiera haber sido útil históricamente. Finalmente las concentraciones de óxido nitroso en la superficie (Figura 3-1.4) indican que las transformaciones microbianas del nitrógeno contribuyen a su abundancia. Se concluye que, debido a la

concentración microbiana en los intersticios húmedos de las dunas, las muestras tomadas no fueron útiles para medir la química de la atmósfera de hace algunas décadas.

[Ref.: SEVERINGHAUS, J. P. *et al.* 1997. «Feasibility of using sand dunes as archives of old air», *J. Geophysical Research*, **102**, 16,783-16,792. Courtesy American Geophysical Union.] ■

ta que se pueden analizar muestras tan diversas como tejidos musculares, sales contenidas en rocas, cuero, madera, plumas, escamas de pescado, álabes de turbinas de aviones, caliza, algas marinas, granito, tomates, pelo, componentes cálcicos, vainas de legumbres, menas de hierro, caucho, cartón, mantequilla, láminas de acero y otros muchos materiales.

Subdividir y mezclar un material se hace para aumentar la homogeneidad de la muestra. Cuanto menor sea el tamaño de partícula menor será el error analítico para una masa dada de material. Consideremos, por ejemplo, una muestra consistente en un número de pequeñas partículas esféricas de igual tamaño y densidad. Alguna de estas partículas contienen ejemplo puro (un material nada común que raramente se encuentra fuera de este texto); el resto no contiene nada de este material. Las partículas se mezclan bien siendo su distribución aleatoria, tal y como se ilustra en la Figura 3.3. Supongamos que las partículas de ejemplo constituyen el 20% de las totales.

Supongamos también que conocemos un análisis tan preciso para el ejemplo que podemos ignorar cualquier error aleatorio del mismo. Consideremos los dos métodos extremos de muestreo. En un extremo podemos tomar toda la muestra y utilizarla para el análisis. Lógicamente, la muestra será perfectamente representativa, encontrando con seguridad el 20% de ejemplo en ella. Sin embargo, como únicamente tenemos una muestra no podemos obtener un análisis estadístico de los datos. En el otro extremo tomamos una sola partícula y realizamos un ensayo. En la mayoría de los ensayos no encontraremos la presencia de ejemplo. En los otros encontraremos ejemplo al 100%. Estos análisis tendrán un gran error aleatorio, que solamente podrá subsanarse analizando más muestras y calculando el valor medio estadístico. Posiblemente encontremos este valor en el 20%.

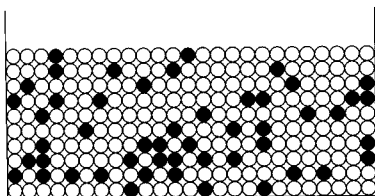
De las dificultades que entrañan los dos métodos extremos podemos convenir que será mucho mejor tomar un término medio. Tomemos un número moderado de muestras, cada una con un número de partículas aleatoriamente mezcladas. Lógicamente, si las partículas son grandes la muestra pesará miles de kilogramos. Las partículas pequeñas nos permiten maximizar el número de partículas presentes en una muestra de tamaño razonable, además de permitirnos una buena mezcla y, por consiguiente, reducir al mínimo la variación de contenido entre las muestras. En general, las partículas pequeñas proporcionan muestras más homogéneas.

Nos debíamos preguntar: ¿por qué no molem siempre las partículas tan finamente como sea posible? La respuesta es que existe un límite para tal molienda. Conseguir polvos muy finos conlleva una mayor contaminación debida a una manipulación excesiva. Incluso puede ser difícil manejarlos y transportarlos, ya que se comportan como el polvo.

En resumen: las muestras deben contener un gran número de partículas, por dos razones:

1. Se reduce al mínimo la variación del contenido entre las diferentes muestras individuales.
2. La muestra será más representativa.

Estas conclusiones se justifican con mayor detalle matemático en la sección siguiente.



◀ FIGURA 3.3.
Un material constituido por partículas de ejemplo puro (negro) y de un relleno (blanco).

La masa total tiene un 20% de ejemplo. En el texto anterior se analizaban dos casos extremos de muestreo del material: un simple ensayo de toda la muestra o analizar una por una todas las partículas.

3.3. Un modelo gráfico

Consideremos un modelo con una muestra de tierra bien mezclada y bien molida. Este modelo está un muy simplificado, pero nos servirá para ilustrar la tendencia de los resultados después de varias subdivisiones de las muestras (mediante molienda). Podemos creer en los resultados de los cálculos que han sido, durante más de dos siglos, ejemplo de cómo reflejar los resultados reales de los experimentos, desde que Bernoulli los hiciese por primera vez. (Después de todo, no se puede confiar en todos los cálculos: hay ecuaciones que están bien planteadas pero que no reflejan el mundo real.)

Imaginemos tres muestras sencillas iguales a la representada en la Figura 3.3. Como anteriormente, cada vaso contiene esferas de la misma densidad. El 20% de las esferas son de ejemplo, y el 80% son relleno. Sin embargo, tal y como se muestra en la Figura 3.4, las esferas del vaso A son de tamaño dos veces mayor que las del vaso B, y cuatro veces mayor que las del vaso C. Se toman muestras de igual masa, una por cada vaso. Sin embargo, debido a las distintas masas de las esferas, el número de partículas en cada muestra es diferente.

La concentración promedio de ejemplo en cada uno de los tres vasos es del 20%. Sin embargo ninguna de las muestras tomadas de cada vaso para su análisis, contiene exactamente el 20%. Algunas contienen más y otras contienen menos. La probabilidad de obtener un porcentaje dado se calcula mediante la distribución binómica. En la Figura 3.5 se representan unas gráficas de la probabilidad de que una muestra tenga una concentración dada.

Los cálculos de las curvas de la Figura 3.5 con distribución binómica se describen en la Sección 3A.

Si tomamos partículas más pequeñas de las muestras obtenemos el mismo resultado que si aumentamos el número de experimentos. Estas dos actuaciones hacen que el valor medio medido sea más preciso. La principal diferencia entre ambas estriba en que es más sencillo moler la muestra para obtener partículas más pequeñas.

La mejora cuantitativa de la precisión que se obtiene reduciendo el tamaño de las partículas tiene un paralelismo con la mejora que se obtiene examinando más réplicas. Como vimos en el capítulo anterior, cuantas más réplicas se analicen, el error de la media

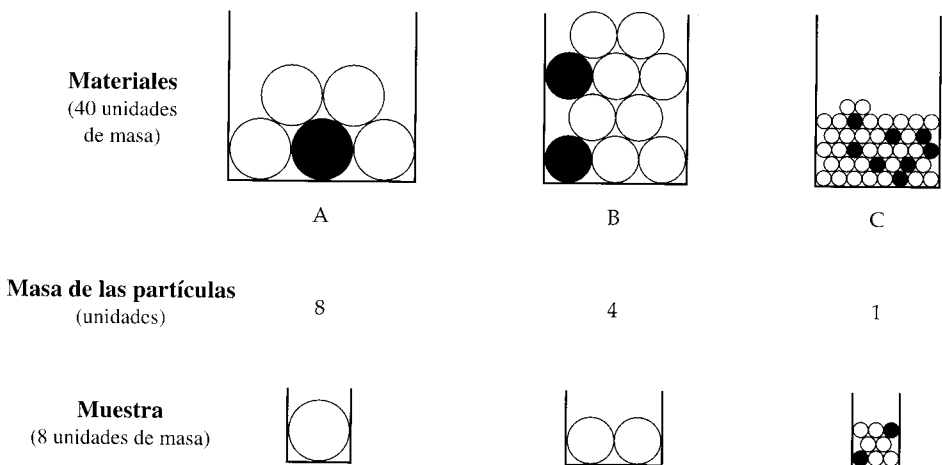


FIGURA 3.4 ▲
Tres experimentos imaginarios para demostrar el efecto del tamaño de partículas en las muestras.

Los tres materiales A, B y C tienen partículas de masa 8, 4 y 1, respectivamente. Las partículas negras son de ejemplo, y las blancas son de relleno. Todas las muestras contienen un 20% de ejemplo.

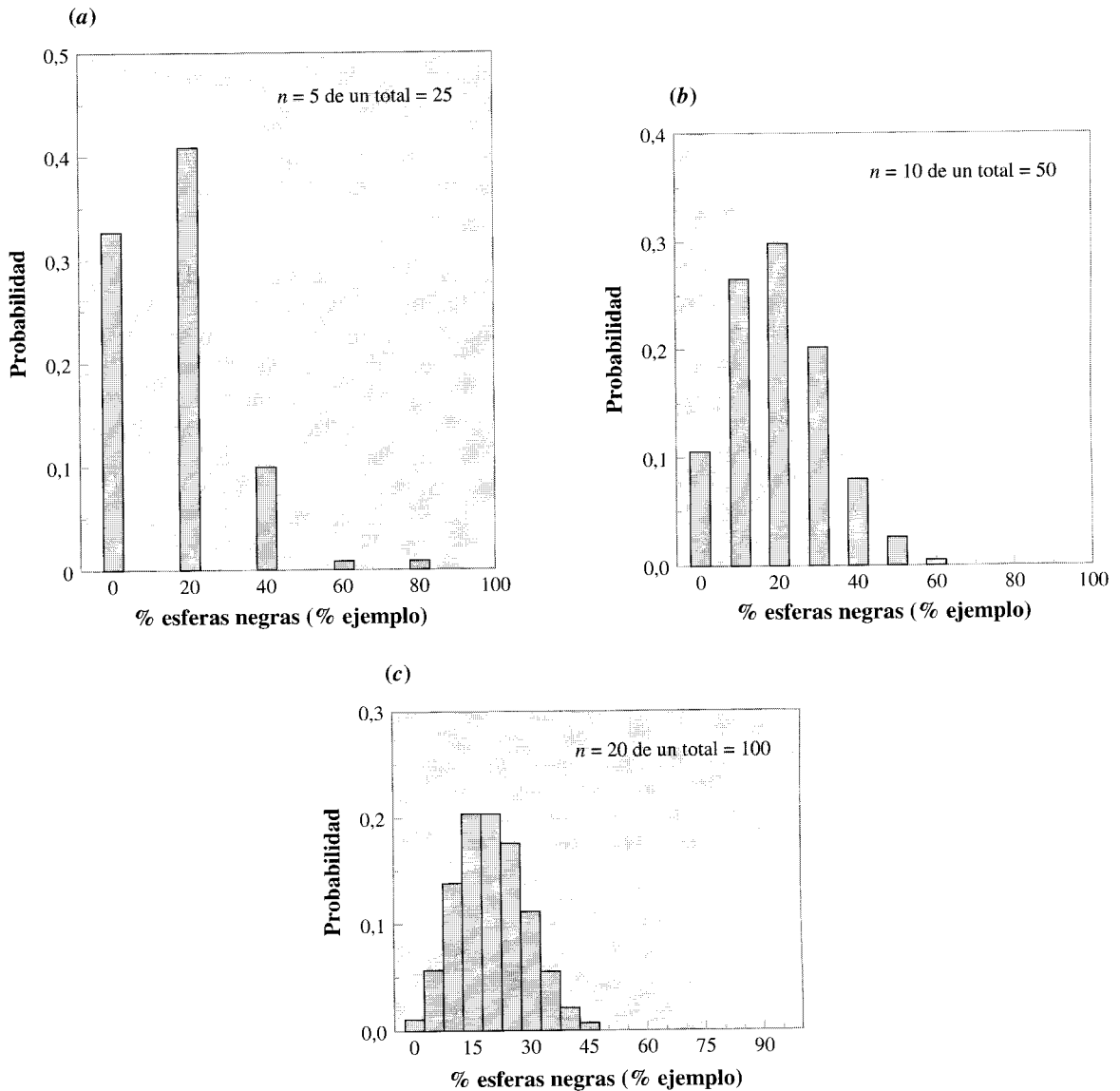


FIGURA 3.5 ▲
Probabilidad de que una muestra tenga un porcentaje dado de esferas negras.

La masa de material es constante e igual a 100 unidades, y las masas de las muestras son constantes e igual a 20 unidades. Estos casos se muestran en A, B y C.

	A	B	C
Número total de partículas en el material	25	50	100
Masa de las partículas	4	2	1
Número de partículas en cada muestra	5	10	20

Obsérvese que la desviación estándar decrece con las partículas menores. La derivación de estos histogramas puede encontrarse en la Sección 3A.

se reduce como la raíz cuadrada del número de muestras realizadas: $\sigma_m \propto 1/\sqrt{N}$. La misma regla se aplica a la reducción del tamaño de las partículas. El error esperado del muestreo disminuye en un factor de 10 si se reduce la masa promedio de las partículas en un factor de 100, siempre que se mantenga constante la masa total de las muestras analíticas.

3.4. Muestreo de mezclas

Parece razonable pensar que obtener muestras homogéneas de líquidos y gases no debe presentar ningún problema. Sin embargo, la experiencia demuestra lo contrario para muestras mucho mayores que las que se pueden guardar en un recipiente de laboratorio. Consideremos nuevamente la muestra para medir el mercurio en el agua de un arroyo. Tomamos una botella con agua de esa corriente y la almacenamos durante un corto espacio de tiempo. Una vez en la botella, el agua no se mezclará más por el propio movimiento de la corriente, de tal manera que el material particulado caerá al fondo, haciéndolo más deprisa las más grandes o pesadas. Si se han de incluir los sólidos en el análisis, el contenido de la botella se debe mezclar concienzudamente antes de tomar una **alícuota** para el análisis. (A la fracción conocida de una muestra líquida, como por ejemplo la tomada con una pipeta, se la denomina alícuota, palabra proveniente del latín *alius: otro* y *quot: cuanto*.) Si las partículas son suficientemente pequeñas, las muestras que se toman de una solución bien agitada serán homogéneas. Los problemas pueden aparecer si sólo unas pocas partículas grandes están presentes, debido a que una alícuota puede tener más o menos partículas que otra. Estas variaciones en el contenido de partículas nos conducen a análisis menos precisos. Estos efectos descritos para partículas sólidas también ocurren en mezclas de líquidos y sólidos en suspensión en un gas.

3.5. Integridad de las muestras

A las muestras no se les debería añadir ningún componente, ni deberían perderlo entre los períodos de muestreo y análisis. Esta idea puede parecer obvia, pero asegurarse de que las muestras permanecen invariables requiere un profundo conocimiento del comportamiento químico de todos los componentes y del medio de donde han sido tomados. Por ejemplo, si se fuese a determinar la concentración residual de un insecticida, deberíamos considerar la estabilidad de la molécula. Si el insecticida fuese uno de los más sofisticados, estará diseñado para descomponerse rápidamente. Además del tiempo, habría que tener en cuenta otros factores importantes como la temperatura, el grado de humedad, la acidez de la muestra, el contenido en oxígeno y la exposición a la luz.

Tampoco el contenedor debe causar interferencias ni adsorber o absorber ninguna de las sustancias que se van a medir. Por ejemplo, si el analito puede traspasar o ser absorbido por el polietileno y perderse, posiblemente debamos utilizar un recipiente de cristal. Por otro lado, la superficie del cristal es relativamente activa y podría catalizar la descomposición del analito o absorberlo fuertemente. No se prevé ningún problema si la muestra es un suelo y el analito no volátil. Sin embargo, si la muestra estuviese suficientemente húmeda —agua de un lago o un sedimento cenagoso— la migración hacia la superficie puede ser fácil. Todos estos problemas de almacenamiento ocurren especialmente a concentraciones bajas de analito. Así, por ejemplo, el efecto de la adsorción puede reducir en un 1% al analito más concentrado, pero la misma cantidad adsorbida en una disolución menos concentrada de analito podría estropear la disolución.

La contaminación por otras sustancias también se debe minimizar. Por ejemplo, cuando se toma una mezcla del fondo del mar, el contenedor se sella a dichas profundi-

dades, de forma que el agua de los niveles superiores no pueda contaminar a la que se toma para el análisis.

Todos estos problemas se reducen significativamente cuando los análisis se realizan inmediatamente en el lugar del muestreo —**muestreo *in situ***— con equipos portátiles (por ejemplo, una fluorescencia por rayos X para el análisis de plomo en la pintura), o con equipos en continuo que toman las muestras de una corriente de proceso directamente para el análisis.

3.6. Separaciones físicas en el muestreo

Cuando realizamos el muestreo de un material heterogéneo (sólido, líquido o gas), la finalidad es convertirlo en homogéneo. Por otro lado, cuando se quiere analizar únicamente una parte de una mezcla física compleja, y es necesario separar las partes heterogéneas, la misma separación puede introducir errores. Por ejemplo, ¿qué ocurre si se quiere analizar el polvo del aire cerca de un fundidor de cobre? El polvo se puede separar del aire con un filtro de papel, pero dependiendo de las calidades del papel podemos descubrir que se escapa el 1% de todas las partículas mayores que $1\ \mu\text{m}$. La recuperación sería cercana al 100% si todas las partículas fuesen mayores o iguales a $1\ \mu\text{m}$, pero el muestreo sería deficiente si las partículas inferiores a $1\ \mu\text{m}$ formasen una fracción significativa del sólido.

La separación del polvo de los gases en los que está suspendido, nos ofrece un ejemplo de una **separación física**, en la cual la separación de los componentes de la muestra se lleva a cabo gracias a sus diferencias físicas. Hay una gran variedad de métodos para realizar separaciones físicas; se enumeran algunos ejemplos en la Tabla 3.1. Sin embargo, diferenciar una separación física de una **separación química** no es tan sencillo. Ciertamente, recoger un precipitado sólido de una gas o un líquido con un papel de filtro es una separación física; sin embargo, existen filtros con poros tan pequeños que separan moléculas en función del tamaño molecular. A este nivel, desaparecen las diferencias entre separación física y química.

Tabla 3.1. Ejemplo de las separaciones físicas cuantitativas utilizadas en el muestreo y en el análisis

Separación del material que a temperatura ambiente es . . .			
	Sólido	Líquido	Gas
En un sólido	Por flotación Por diferencia de solubilidad	Por calentamiento y trampa (p. ej., Agua contenida en el CaCO_3)	Por fusión del sólido y posterior purga del gas (p. ej., radón contenido en rocas)
En un líquido	Por filtración (p. ej., eliminación del precipitado) Por destilación	Por destilación Por decantación de líquidos inmiscibles	Por purga y trampa (burbujeo de un gas inerte en el líquido y atrapamiento de los gases a baja temperatura) Por membranas permeables a los gases
En un gas	Por filtración (eliminación de las partículas suspendidas)	Por filtración (eliminación de aerosoles, partículas sólidas)	Por difusión diferencial (utilizada en el acoplamiento CG/MS) Por enfriamiento selectivo

Como ejemplo, consideremos un método de producción que utiliza una bacteria o una enzima inmovilizada (enzimas químicamente ancladas a un soporte sólido) para la síntesis de un producto. Supongamos que la molécula que se ha de analizar es un azúcar con un peso molecular cercano a 300. Supongamos también que hay proteínas presentes en la disolución (un ejemplo perfecto de una disolución de azúcares y proteínas es la cerveza). La proteína se puede eliminar y prevenir sus interferencias en el análisis de los azúcares utilizando un filtro de membrana que no permite el paso de moléculas de peso molecular superior a 2000.

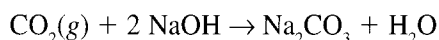
De igual modo, es difícil decidir si la separación de oxígeno gaseoso del agua es una separación física o química. En este caso, el gas puede difundirse a través de una membrana de un polímero que no permite el paso a los otros componentes de la disolución.

Como puede deducirse de la información precedente, una separación física/química se hace, generalmente, inmediatamente antes de llevar a cabo el análisis, y es parte del mismo. Esta relación tan cercana hace que muchos instrumentos sean mucho más selectivos que los métodos de análisis en los que se basan.

Muestreo de gases y sustancias volátiles

Los gases incluyen sustancias volátiles en estado vapor y aquellas de menor punto de ebullición como el CO_2 o el oxígeno. En otras palabras, por gases queremos decir aquellas sustancias que son gaseosas a la temperatura y presión a las cuales se toma la muestra.

Un muestreo de gases puede ser tan simple como abrir y llenar una bolsa de plástico con aire del ambiente, sellar la bolsa y enviarla al laboratorio para el análisis e introducirlo directamente en un espectrómetro de masas. Sin embargo, es más común recoger las sustancias gaseosas en un pequeño volumen y condensarlas mediante enfriamiento al estado líquido, para posteriormente atrapar el líquido mediante reacciones químicas como



o mediante su adsorción (no absorción) en la superficie de sólidos. Hay un gran número de métodos posibles; la elección de cada uno de ellos depende del analito, la **matriz de la muestra** y del método de análisis utilizado.

A menudo se realiza en el muestreo una **preconcentración**, mediante la cual conseguimos que la materia de interés se transforme en una muestra más pequeña y concentrada. Las sustancias se extraen de una enorme cantidad de matriz durante este proceso. La matriz de muestra es un término para referirnos a la materia que no es de nuestro interés en el análisis. Por ejemplo, la matriz de aire se elimina cuando la materia en suspensión (por ejemplo, humo) se recoge en un filtro; de manera simultánea, el proceso concentra las partículas.

La preconcentración se utiliza generalmente cuando es necesario analizar sustancias de la muestra en cantidades de trazas o microtrazas, donde la sustancia se encuentra en una concentración alrededor de 10 ppm.

La Figura 3.6 muestra un equipo para fijar un gas en un líquido. El gas se introduce en el equipo mediante una bomba con un caudal de 1 l/min, la lana de vidrio atrapa las partículas (ceniza). El dibujo adjunto realiza tres procesos simultáneamente: 1) el gas atrapado se concentra; el SO_2 presente en 20 litros de emisión de humos se recoge en 100 mL de solución en menos de una hora; 2) el gas se convierte en una especie química que no se pierda durante el almacenamiento; el SO_2 se convierte mediante su oxidación con peróxido de hidrógeno a sulfato soluble en agua; 3) los demás gases se elimi-

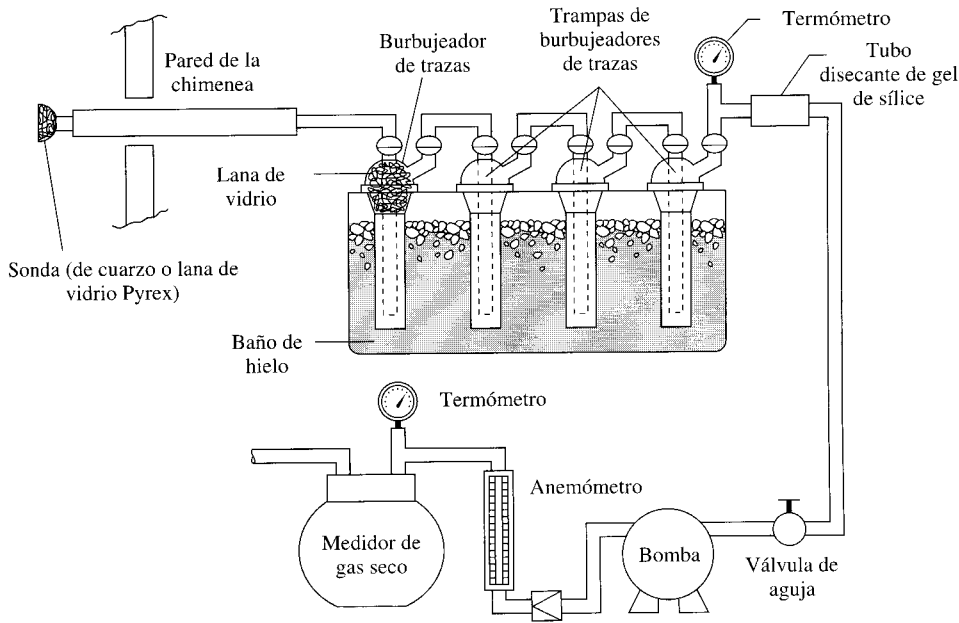


FIGURA 3.6 ▲
Esquema de un aparato para la recogida de gases aprobado por la EPA, utilizado para la cuantificación de dióxido de azufre de diferentes corrientes de humos.

La cantidad mínima detectable de SO_2 es de $3,4 \text{ mg SO}_2 \text{ m}^{-3}$. Este método es efectivo hasta $80.000 \text{ mg de SO}_2 \text{ m}^{-3}$.

nan; los gases como el O_2 y el N_2 no siguen la misma reacción, y así el SO_2 queda retenido, mientras que los demás gases pasan de largo. El gas se seca en el cuarto burbujeador, que contiene gel de sílice, al igual que un segundo tubo de secado en la parte superior derecha. El volumen de gas seco se mide en un medidor de «gas seco». El termómetro permite relacionar el volumen de gas a la temperatura estándar.

3.7. ¿Cuántas muestras son necesarias?

En esta sección volveremos sobre el tema principal del muestreo. Imaginemos que queremos estar casi seguros (digamos, con un 95% de certeza) de que el error relativo de la media de una análisis no exceda de un límite específico. Como se indica en el Capítulo 2, si elegimos el límite superior y el nivel de probabilidad se debe ajustar el número de muestra para satisfacer ambos criterios al mismo tiempo. ¿Cuántas muestras son necesarias?

Inmediatamente surge una pregunta: ¿se conoce el error aleatorio de los análisis individuales? Si la respuesta es negativa, será necesario realizar algunos análisis de prueba para conocer una estimación de este error. Entonces, recordando la Ecuación 2-12:

$$\mu = \bar{X} + t(\sigma/\sqrt{N}) \quad \text{cuando } \sigma \text{ se desconoce}$$

Nuestro objetivo es encontrar el valor de N , que mediante la aplicación de un método de desviación estándar s , proporcione un límite de probabilidad que sea una fracción de \bar{X} . A partir de ahora, representaremos como R al máximo error relativo permisible. Entonces

$$t \frac{s}{\sqrt{N}} = R\bar{X}$$



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 3-2

Por el humo se sabe dónde está el fuego.

Por el fuego se sabe . . .

Un problema a considerar en el muestreo es producir una muestra representativa de una cantidad muy grande de material. Otro problema de muestreo se describe en el siguiente caso para encontrar posibles combustibles utilizados en incendios provocados. La toma de muestras se realiza en un medio extremadamente heterogéneo.

Los detectives investigan un incendio en su totalidad y deben probar el móvil, el motivo y factores similares. La reconstrucción de los hechos que producen un incendio y la determinación de su origen y causas conlleva determinaciones físicas de los materiales. En muchos casos, pero no en todos, un análisis químico corrobora la evidencia física si encuentra el combustible que se intuía... Cuando se realizan independientemente los análisis físicos y químicos sin que exista comunicación entre el detective y el químico, la distorsión se elimina automáticamente. Un detective que investigue una muestra claramente quemada puede estar más predisuesto a interpretar restos de un combustible en una gráfica cromatográfica que un químico que no ha estado en la escena del incendio.

Aunque los pirómanos utilizan diversos sólidos incendiarios o mezclas como azúcar y cloratos en alguna ocasión (<3%), en los casos criminales de incendio se utilizan generalmente combustibles líquidos, en particular los fluidos provenientes del petróleo.

... Un proceso analítico con diferentes pasos es tan sólido como lo sea el paso más débil, y es necesario mirar los escombros del incendio en su totalidad. Se pueden definir los siguientes pasos: selección de la muestra sobre el terreno; recogida y envío al laboratorio; inspección física de la muestra en el laboratorio; preparación de la muestra para el análisis instrumental; análi-

sis instrumental, generalmente cromatografía de gases; interpretación de los resultados, documentación e información...

... Las muestras recogidas en el lugar de un incendio a menudo son materiales chamuscados recogidos de los bordes de objetos quemados. Los detectives de incendios experimentados toman muestras de zonas donde la adsorción y la acción de la capilaridad puedan haber preservado trazas de combustibles... Los materiales absorbentes, y en especial las alfombras y moquetas, son obviamente los preferidos...

... Entre los combustibles se encuentran una amplia gama de sustancias, desde cetonas y alcoholes de bajo peso molecular a sustancias sólidas en condiciones normales. La preparación ideal de las muestras debe permitir la recuperación de sustancias con un punto de ebullición que puede superar los 1000 °C. Como los combustibles son polares o no polares, también el método ha de ser efectivo para los dos casos. Aunque la cuantificación en este tipo de casos no es necesaria, una indicación de la cantidad aproximada de combustible siempre es deseable...

... Los investigadores de incendios experimentados siempre tienen cuidado con sustancias interferentes, como el alquitrán, el papel, las colas de contacto y otras matrices provenientes del petróleo. Generalmente se analiza una muestra control para conocer los interferentes potenciales. Una muestra control consiste en analizar un material de composición similar a la matriz que se está investigando. Idealmente debería haber sido tomada de un lugar muy parecido al lugar del incendio...

[Ref.: BERTSCH, W., ZHANG, Q.-W. 1990. «Sample preparation for the chemical analysis of debris in suspect arson cases.» *Analytica Chimica Acta* 236:183-195.] ■

Así encontramos:

$$N = \frac{t^2 s^2}{R^2 \bar{X}^2} \quad (3-1)$$

donde s/\bar{X} es la desviación estándar relativa actual (encontrada), mientras R en la ecuación es la desviación estándar relativa deseada. Podemos volver a escribir la Ecuación 3-1 como

$$N = t^2 \frac{s^2}{R^2 \bar{X}^2} = t^2 \left(\frac{R_{\text{encontrada}}}{R_{\text{deseada}}} \right)^2 \quad (3-1)$$

Dividir por N no sería exactamente correcto; sin embargo, el valor de t por sí mismo depende de N . Como resultado, la ecuación se resuelve por iteración. El resultado de un ensayo lo reemplazamos nuevamente en la ecuación, y así repetidamente, hasta que el resultado no varíe. En este punto, la manera más eficiente de trabajo es utilizar t para un nivel de confianza del 95%, pero para un número infinito de muestras, esto es, $t = 1,96$, N se redondea al siguiente número entero mayor y se sustituye en la ecuación. De esta manera se encuentra un nuevo valor de N , y así sucesivamente.

EJEMPLO 3.1

Supongamos que un método para la determinación de ácido bórico en una disolución para la producción de un colirio da un valor de $3,0 \pm 0,1$ mg mL⁻¹ de ácido bórico. Esto supone $s = 0,17$ mg mL⁻¹. Si el proceso requiere que la disolución esté dentro del 5% de la concentración establecida, ¿cuántos análisis se deberían hacer de cada lote para alcanzar los límites prescritos con un nivel de probabilidad del 95%?

Solución:

De los datos: $R = 0,05$, $s = 0,17$, $\bar{X} = 3,00$.

Comenzando por el valor de t para un número infinito de muestras, para un nivel de confianza del 95%

$$N = t^2 \cdot \frac{s^2}{R^2 \bar{X}^2} = (1,96)^2 \cdot \frac{(0,17)^2}{(0,05)^2 (3,00)^2} = 3,8 \cdot 1,28 = 4,9 \quad \text{se redondea a 5 ensayos}$$

Para $N = 5$, $t = 2,78$ a un nivel de confianza del 95%. Este valor de t se sustituye y

$$N = (2,78)^2 \cdot 1,28 = 7,7 \cdot 1,28 = 9,9 \quad \text{se redondea a 10 ensayos}$$

Para $N = 10$, $t = 2,26$, se llega a $N = 7$. La siguiente iteración será $N = 8$, seguida de otra iteración de $N = 7$.

Para obtener el resultado con la certeza deseada, se deben analizar ocho muestras. Claramente, si esto fuese un análisis rutinario, se debería perder algo de tiempo en mejorar la precisión del método analítico.

3A. Profundizando. La distribución binómica

Esta sección muestra las matemáticas empleadas para calcular la probabilidad de encontrar diferentes niveles de ejemplo en las muestras de suelo para los diferentes tamaños de partículas mostradas en la Figura 3.4. Las matemáticas se basan en la **distribución binómica**. La distribución binómica trabaja con si-no, encendido-apagado, cara-cruz, tipos de situaciones donde se puede asignar una probabilidad a cada resultado, siendo los acontecimientos independientes.

Por ejemplo, para una moneda que se lanza al aire cuatro veces podemos preguntarnos cuál es la probabilidad de que salgan tres cruces. El lanzamiento de cada moneda es independiente del anterior. Veamos todas las posibilidades para cuatro lanzamientos (H = cara, T = cruz):

HHHH	HHHT	HTTH	TTHH
THHH	TTHH	HTHT	THTT
HTHH	THTH	HHTT	HTTT
HHTH	THHT	TTHH	TTTT

Hay diferentes resultados posibles del «experimento». Podemos reorganizar estos dieciséis resultados en cinco grupos diferentes:

4H	3H, 1T	2H, 2T	1H, 3T	4T
HHHH	THHH	TTHH	TTTH	TTTT
	HTHH	THTH	THTT	
	HHTH	THHT	THTT	
	HHHT	HTTH	HTTT	
		HTHT		
		HHTT		

Ahora nos preguntamos: ¿qué proporción de los experimentos da como resultado tres cruces? La cuarta columna de arriba indica los cuatro experimentos de los dieciséis donde coinciden tres cruces en el resultado. La proporción será: $4/16 = 0,25$.

Las estadísticas de la tabla de resultados pueden reproducirse con la **fórmula combinatoria**. Esta fórmula se utiliza tanto que se emplea un símbolo especial: ${}_n C_r$, n es el número de muestras (en el caso del lanzamiento de la moneda, $n = 4$; el experimento tenía cuatro lanzamientos) y r es el número de veces que se produce un resultado ($r = 3$, tres cruces). La fórmula utiliza **factoriales**, escritos como $n!$ Recordemos, por ejemplo:

$$4! = 4 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 1 = 24$$

Por otra parte, $0! = 1$. La formula combinatoria general es:

$${}_n C_r = \frac{n!}{r!(n-r)!}$$

Para cuatro lanzamientos,

$${}_4 C_3 = \frac{4!}{3!(4-3)!} = \frac{4!}{3!1!} = \frac{4 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 1}{(3 \cdot 2 \cdot 1)(1)} = \frac{24}{6} = 4$$

Esto coincide con nuestra tabla superior: cuatro posibles resultados tienen tres cruces. (Nótese que se necesitan cuatro lanzamientos para obtener tres caras; la fórmula combinatoria es consistente).

La proporción de caras se obtiene aplicando la **ecuación de probabilidad** con ligeros cambios de nomenclatura. Cambiamos la nomenclatura de cruces por «resultado deseado» y la de caras por «resultados que no dan el resultado deseado». Entonces la proporción que se calcula se denominará probabilidad, y la ecuación que describe el lanzamiento de la moneda será:

$$\text{Pr}[3 \text{ cruces}] = {}_n C_r p^r q^{n-r}$$



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 3-3

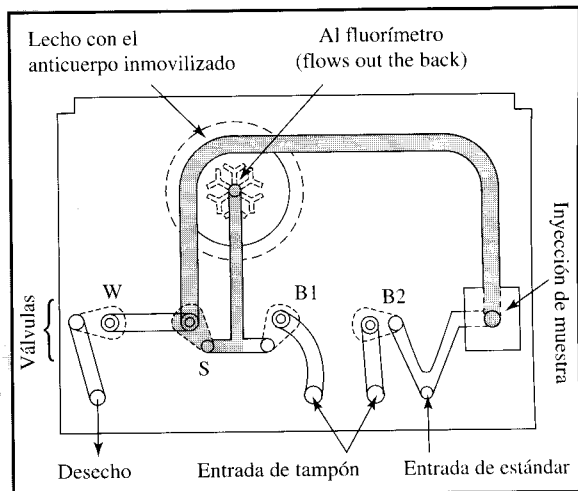
¿Una bebida muy fuerte?

Análisis *in situ* para descubrir explosivos

Cuando se cierra una base militar, se encuentra que muchas están contaminadas con restos de explosivos militares, que posteriormente pasan por filtración a los acuíferos. Los explosivos más comunes son el 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) y el hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triacina (RDX). Los análisis de estos explosivos se realizan para definir la localización de la contaminación y conocer las áreas más afectadas para proceder a su limpieza y estar seguros de que la contaminación no producirá daños posteriores. La técnica más utilizada como método analítico para la caracterización de explosivos, sus impurezas y sus restos de descomposición, es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Sin embargo, las pruebas con HPLC son muy caras, y los costes de los análisis son iguales, haya contaminación en la muestra o no. Sería deseable encontrar un método más económico para analizar las muestras *in situ* y mandar al laboratorio únicamente aquellas que estuvieran contaminadas.

Se desarrolló un equipo portátil en cooperación con el Laboratorio Naval de Investigación de Estados Unidos. Este equipo podía caracterizar *in situ* la humedad TNT y RDX, con un límite de detección de 5 ppb, mientras que no le afectaban otros componentes de la matriz. Por ejemplo, el agua en una zona podía tener un alto contenido en nitratos mientras que en otra zona podía ser turbia y contener altos niveles de orgánicos disueltos. El análisis duraba dos minutos. En el dibujo se muestra un croquis del cartucho reemplazable (4 × 6 cm), donde se distingue el recorrido de la muestra en la zona sombreada.

Cada prueba funcionaba de la siguiente manera. Se añadía a la muestra de agua un tampón de fosfato de pH 7,4 concentrado en etanol y un surfactante. Se inyectaba una alícuota de 100 µL. La mezcla pasaba a través de un lecho con un sustrato que captaba el TNT. Cuando esto ocurría se



desplazaba un análogo fluorescente que se encontraba presente en el lecho del sustrato. Esta mezcla fluorescente pasaba a través de un fluorímetro donde se medía la fluorescencia asistida con láser a una longitud de onda de excitación a 635 nm. La fluorescencia era proporcional a la cantidad de TNT presente. Otro cartucho contenía otro sustrato para RDX con otro análogo fluorescente para la medida de RDX.

Este instrumento portátil no se utilizaba para realizar un análisis exhaustivo, debido a que únicamente era sensible al TNT y RDX (y a alguna estructura similar) y no era sensible a los productos de descomposición e impurezas que se debían analizar para su limpieza. Sin embargo, por este método se podían evitar multitud de análisis muy caros, siendo aplicable esta estrategia a otros numerosos análisis *in situ*.

[Ref.: Figura, información y detalles de la operación cortesía de Research International. Published reference: BART, J. C., JUDD, L. L., HOFFMAN, K. E., WILKINS, A. M., KUSTERBECK, A. W. 1997. «Application of a Portable Immunosensor to Detect the Explosives TNT and RDX in Groundwater Samples.» *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1505-1511.] ■

donde

p es la fracción de veces que encontramos el resultado deseado en un lanzamiento individual,
 q es la fracción de veces que no tenemos el resultado deseado en un lanzamiento individual y
 r y n son iguales que anteriormente.

Aplicando la fórmula al ejemplo del lanzamiento de la moneda, la mitad de las veces se espera cara y la otra mitad se espera cruz. Así, para nuestro caso: $n = 4$, $r = 3$, $p = 0,5$, $q = 0,5$, y:

$$\text{Pr}[3 \text{ cruces}] = \frac{4!}{3!1!}(0,5)^3(0,5)^{4-3}$$

$$\text{Pr}[3 \text{ cruces}] = \frac{24}{6}(0,125)(0,5) = 0,25$$

Lo cual coincide con nuestro valor de 4 de 16. Se observa claramente que utilizar la fórmula de probabilidad para un número alto de muestras es más eficiencia (y menos tedioso).

EJEMPLO 3A.1

Utilizando la muestra descrita en la Figura 3.5b, calcúlese la probabilidad de encontrar exactamente 4 esferas negras de las 10 en la muestra a partir de las 50 esferas totales.

Solución:

Las probabilidades totales son $p = 0,2$ y $q = 0,8$. Buscamos $r = 4$ esferas negras de $n = 10$ muestras. Esto se representa por la altura de la barra en el 40%.

$$\text{Pr}[4 \text{ negros}] = \frac{10!}{6!4!}(0,2)^4(0,8)^6 = (210)(0,0016)(0,2621) = 0,088$$

Podemos observar que corresponde de hecho a un resultado de 40% de esferas negras para $n = N = 10$ como se indica en la Figura 3.5b.

Una aclaración

El análisis de las partículas del suéter en la primera página de este capítulo mostró que provenían de una varilla de soldadura. El hombre era inocente.

El muestreo no fue difícil en este caso, ya que las partículas individuales se pudieron analizar por técnicas microanalíticas. Las partículas se recogieron pasando por la superficie del suéter un paño adherente.

Las técnicas microanalíticas se estudian en el Capítulo 5.

Bibliografía recomendada

BICKING, C. A. 1978. In *Treatise on Analytical Chemistry*, Pt. 1, Vol. I, 2nd ed. I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds. New York: Wiley Interscience. Chap. 6.

Una guía práctica para el muestro de líquidos y sólidos a granel con referencias adicionales.

SMITH, R. JAMES, G. V. 1981. *The sampling of Bulk Materials*. London: Royal Society of Chemistry.

El más sencillo y de fácil lectura sobre muestreo. Se divide entre teoría y práctica. La teoría se desarrolla en lenguaje matemático.

STOEPLER, M. 1997. *Sampling and Sample Preparation: Practical Guide for Analytical Chemists*. Berlin: Springer.

Una guía muy práctica. Si está incluido en este libro el tipo de muestras con las que se está trabajando, leer el capítulo relacionado ahorrará tiempo y reducirá posibles errores.

JENNIS, S. W., KATZ, S. A., LYNCH, R. W. 1997. *Applications of Atomic Spectrometry to Regulatory Compliance Monitoring*. 2nd ed. New York: Wiley-VCH.

En este excelente trabajo se incluye un breve capítulo sobre muestreo que merece la pena ser estudiado.

MARKERT, B. 1994. *Environmental Sampling for Trace Analysis*. Weinheim: VCH.

Un libro muy variado con excelentes secciones sobre principios generales de métodos de muestreo de gases, líquidos y sólidos, análisis molecular y aplicaciones.

GY, P. 1998. *Sampling for Analytical Purposes*. Chichester, UK: Wiley.

El contenido de este libro refleja la larga experiencia del autor sobre la materia, y su importancia en la secuencia de comprobación analítica. Por desgracia es de difícil lectura.

KEITH, L. H. 1996. *Principles of Environmental Sampling*. 2nd ed. Washington D.C.: American Chemical Society.

Una fuente excelente de buenas ideas sobre muestreo medioambiental. Sin embargo, los capítulos generales son muy lige-

ros. Los capítulos de matemática orientada tienen un nivel muy alto y requieren mucho estudio para entender la estadística que se aplica al texto.

KRATOCHVIL, B., TAYLOR, J. K. 1981. «Sampling for Chemical Analysis.» *Anal. Chem.* 53: 924A-938A.

Un artículo revisado que cubre el contenido de este capítulo desde muchos diferentes puntos de vista.

LÖVKVIST, P., JÖNSSON, J. Å. 1987. «Capacity of Sampling and Preconcentration Columns with a Low Number of Theoretical Plates.» *Anal. Chem.* 59:818-821.

Este artículo presenta una teoría sobre la toma de muestras y la recogida de muestras en columnas cromatográficas de pequeña longitud.

MCINTYRE, G. A. 1951. «A Method for Unbiased Selective Sampling Using Ranked Sets.» *J. Agricultural Res.* 3: 385-390.

Este trabajo describe cómo obtener muestras con menos esfuerzo que con el muestreo aleatorio.

CORNELIS, R. *et al.*, eds. 1996. «Sample Collection Guidelines for Trace Elements in Blood and Urine.» *J. Trace Elements Med. Biol.* 10: 103-127.

Este artículo sugiere la participación en análisis interlaboratorios para mejorar los resultados Al, As, Cd, Cr, Co, Cu, Pb, Li, Mn, Hg, Ni, Se y Zn. Se eliminan claramente las fuentes de contaminación.

Revisión de conceptos

- ¿Cuáles son las tres consideraciones más importantes que debemos tener en cuenta cuando decidimos un procedimiento de toma de muestra?
- ¿Es importante que las muestras sean representativas y homogéneas? ¿Qué significa esto?
- ¿Qué regla para la toma de muestras en diferentes tiempos o en diferentes puntos aumenta la probabilidad de que las muestras sean más representativas? ¿Cuándo se produce una excepción?
- Muéstranse dos razones por las cuales es una buena idea moler una muestra para producir pequeñas partículas y mezclarlas posteriormente antes de tomar una pequeña muestra para el análisis.
- Utilizando la Tabla 3.1, dígame cómo se pueden separar:
 - una sustancia gaseosa disuelta en un medio acuoso que forma un sulfato insoluble con BaO.
 - Una sustancia líquida presente en una muestra de aire que se adsorbe fuertemente en la lana de vidrio.
 - Una mancha de pintura (soluble en hexano) presente en una camisa de algodón de un sospechoso de robo.
 - Dos líquidos que se mezclan íntimamente y tienen puntos de fusión que difieren en 40 °C.

Ejercicios

- Utilizando los datos de la Figura 3.1 para este ejercicio:
 - Calcúlese, con un error del 0,1%, la concentración promedio de las 16 muestras tomadas en los tiempos aleatorios indicados por las flechas.
 - Repítanse los cálculos realizados en (a) para 16 muestras tomadas con media hora de intervalo, comenzando en la primera media hora. Repítase el cálculo pero utilizando otro comienzo en otro intervalo.
 - Compárense las medias de los análisis espaciados en el tiempo con la media de las muestras tomadas aleatoriamente en el tiempo.
- Se quiere validar un nuevo método instrumental para determinar mercurio en agua. Este nuevo método consiste en reducir el mercurio iónico a su forma atómica para eliminarlo de la solución como vapor. Este vapor se separa del agua con una corriente de aire que se pasa posteriormente través de un equipo instrumental especialmente construido

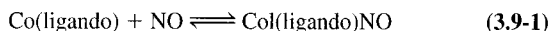
para medir el Hg en aire. Los resultados se muestran a continuación (triple determinación); en cada análisis se añadieron 50 ng de Hg metal. [Ref.: Murphy, P. J. 1979. *Anal. Chem.* 51:1599.]

Aireación y tiempo de recogida (s)	Hg medido (ng)
5	6
15	13
30	22
60	35
120	50
300	52
600	51

- (a) ¿Cuál es el tiempo mínimo de aireación para obtener los resultados más precisos?
- (b) ¿Se deterioran los resultados utilizando más tiempo?
- (c) Imaginemos que los tiempos de análisis fueron 60 s y que la fracción de mercurio es reproducible. ¿Por qué factor debemos multiplicar los resultados medidos para obtener los resultados correctos?
- 3.3. Tenemos que hacer antes de una hora un análisis de una muestra que contiene una considerable cantidad de agua. Parte de esta muestra se secó durante una hora mientras que se hacía el análisis de la parte no seca. Los resultados mostraron que la muestra húmeda contenía un 32,4% de analito. Si la muestra tenía un peso húmedo de 0,1362 g y un peso seco de 0,1128 g, ¿qué porcentaje de la muestra de analito hay en la muestra con respecto a su *peso seco*? (Es decir, *como si la muestra estuviese seca*.)
- 3.4. Una muestra de gas se pasa a través de un tren de muestreo como el que se muestra en la Figura 3.6. Se recogió un volumen de 20,00 L. La muestra de gas estaba a una temperatura de 544 K y una presión de 751 mm Hg.
- (a) ¿Cuál es el volumen de la muestra en condiciones normales (273 K, 760 mm Hg) suponiendo un comportamiento de gas ideal?
- (b) Si la muestra contenía 32,02 mg de SO₂, ¿cuál era la concentración de SO₂ (en g m⁻³) en la muestra original en condiciones normales?
- (c) La muestra original contenía un 20% de agua en volumen [% volumen = % (v/v)]. Corríjase el contenido de SO₂ como contenido de SO₂ por metro cúbico de gas seco en condiciones normales.
- 3.5. Se analizó el contenido de arsénico en un contenedor de residuos químicos. El contenido consistía en una capa superior de agua, una capa inferior de un líquido inmiscible con el agua y algunos metales en forma de partículas sólidas en el fondo. El volumen total era de 55 galones americanos (1 galón americano = 3,785 litros). El volumen de los sólidos, medidos por desplazamiento, era de 1,44 galones. Una porción húmeda de sólido de 5,14 mL pesó 9,364 g después de haber sido secada. El volumen de agua era el 62% del volumen de líquido. El arsénico presente en cada una de las partes se determinó de la misma manera con un método que requería una muestra sólida. Una parte alícuota de 10 mL de agua se colocó en una placa de muestras, evaporando el agua a baja temperatura. Posteriormente los sólidos se secaron a 110°, dando un peso de 83,2 mg. De igual modo se evaporaron 10 mL de capa inmiscible, redisolviendo los sólidos en una pequeña cantidad de ácido y secándolo. Su peso era de 55 mg. Los sólidos se redujeron a partículas menores de 5 mm. Se tomó una porción de cada sólido, se secaron y se redujeron a un polvo muy fino que se utilizó directamente. Se encontraron los siguientes resultados: los sólidos de la muestra acuosa contenían 220 ppm de As, los que provenían del otro líquido contenían 43 ppm de As, y los sólidos 157 ppm de As.
- (a) ¿Cuáles son los volúmenes de cada una de las dos capas líquidas?
- (b) ¿Cuál es la masa total de arsénico de cada una de las capas?
- (c) ¿Cuál es la masa seca de sólidos no volátiles en el barril?
- (d) ¿Cuál es la masa total de arsénico en los sólidos no volátiles?
- (e) Se utilizó un método alternativo de análisis. Su resultado fue que el agua contenía 2,2 ppm (peso/volumen) de As. ¿Estaban presentes compuestos volátiles de arsénico (bajo las condiciones desecado) en el agua? Si la respuesta es positiva, ¿en qué porcentaje con relación al total?
- 3.6. La desviación estándar relativa (en porcentaje) de una distribución binómica puede ser descrita matemáticamente como:
- $$\sigma_{rel} = 100 \sqrt{\frac{(1-p)}{np}}$$
- Aplicamos esta ecuación a una muestra como la que se ilustra en la Figura 3.3: p es la fracción de partículas de componente puro y n es el número total de partículas en la muestra. Para un análisis, la desviación relativa debería ser inferior a 0,1%. Imaginemos que la muestra se compone de esferas perfectas de densidad 3 gr cm⁻³, el 10% es ejemplo puro y el 90% está constituido por un relleno inerte.
- (a) ¿Cuál es el mínimo número de partículas que se necesitan en cada muestra para conseguir una desviación estándar relativa inferior al 0,1%?
- (b) ¿Qué peso mínimo (de muestra en gramos) se necesita para asegurarnos que $\sigma_{rel} = 0,1\%$ si el diámetro de las partículas es 1 μm? ¿Y para 10 μm? ¿Y para 100 μm?
- (c) Si la balanza utilizada para pesar las muestras marcaba 160 g con una exactitud de 0,1 mg, ¿qué tamaño de partículas se debe utilizar?
- 3.7. ¿Diferirían los resultados del Ejercicio 3.6 si utilizásemos cubos con las aristas de igual longitud que el diámetro de las esferas? (Esto equivale a aumentar la masa de cada partícula.)
- 3.8. Se ha utilizado un método para la determinación del PA6-5000 (un antibiótico experimental) en unas muestras de grageas de 100 mg que contienen 7,5 mg del compuesto. El método proporcionó un resultado de 7,50 mg con

$s = 0,04$ mg. Se ha adoptado el método para la evaluación de la mezcla de componentes en la fabricación de las grageas. ¿Cuántas muestras se necesitan para saber con certeza (a un nivel de probabilidad del 95%) que el contenido de cada cápsula es $7,50 \pm 0,03$ mg en muestras de 100 mg de la mezcla de componentes?

- *3.9. Se recogieron mediante bombeo de aire a través de una solución absorbente monóxido de nitrógeno (NO) y dióxido de nitrógeno (NO₂). La solución contenía un compuesto de coordinación de cobalto —escrito Co(ligando)— que reacciona con el NO según la reacción:



La constante de equilibrio para la reacción es:

$$K_p = \frac{[\text{Co(ligando)NO}]}{[\text{Co(ligando)}] \cdot P_{\text{NO}}} \quad (3.9-2)$$

= $4,5 \times 10^7 \text{ atm}^{-1}$ a 35 °C, empleando *o*-diclorobenceno como disolvente. (Nota: según las unidades de K_p , P_{NO} debe expresarse en atmósferas). Asumiendo que se establece el equilibrio entre el gas y el compuesto de coordinación, de las ecuaciones 3.9-1 y 3.9-2 se deduce que:

$$P_{\text{NO}} = \frac{[\text{Co(ligando)NO}]}{[\text{Co(ligando)}]_{\text{inicial}} - [\text{Co(ligando)NO}]} \cdot \left(\frac{1}{K_p}\right) \quad (3.9-3)$$

Considérese que la presión de salida del NO después de pasar a través de la disolución viene expresada por la ecuación 3.9-3. La presión (en atmósferas) en el caudal de salida es el producto de la presión atmosférica, $P_{\text{atmosférica}}$, y la concentración relativa de NO en el efluente, C_{salida} en ppm. Algebraicamente,

$$P_{\text{NO}} = C_{\text{salida}} P_{\text{atmosférica}}$$

Teniendo en cuenta que la $P_{\text{atmosférica}}$ es 1 atmósfera. La eficiencia de atrapamiento es:

$$\frac{\% \text{ eficiencia de atrapamiento}}{100} = 1 - \left(\frac{C_{\text{salida}}}{C_{\text{entrada}}}\right)$$

Considérese que $[\text{Co(ligando)}]_{\text{inicial}} = 1$ mM en 5 mL de disolución, concentración de NO de entrada: 9,8 ppm (v/v), caudal de gas: 130 mL/min, temperatura de la trampa 35 °C. [Ref.: Ishii, K., Aoki, K. 1983. *Anal. Chem.* 55:604.]

- (a) Considerando despreciables los efectos de una variación de volumen del 1%, ¿qué eficiencia de atrapamiento se obtiene en el inicio del proceso? ([Co(ligando)NO] es muy pequeña).
- (b) ¿Cuántos moles de NO pueden ser absorbidos en el colector manteniéndose una eficiencia constante superior al 98%?
- (c) ¿Qué volumen de NO, en condiciones normales, puede atravesar el colector manteniéndose una eficiencia constante y superior al 98%?

- (d) ¿Qué volumen de gas ensayo, en condiciones normales, puede atravesar el colector manteniéndose una eficiencia constante y superior al 98%?
- (e) Bajo las condiciones del apartado d), ¿cuánto tiempo tarda en absorberse un volumen de gas de 5 mL?

- 3.10. Una muestra de 10.45 m³ de un gas (310 K, presión 745 mm Hg) se pasa a través de una serie de trampas para eliminar el agua presente. Si el gas de salida de las trampas tiene una presión de 780 mm Hg a 273 K y un volumen de 8.73 m³, ¿cuál es el porcentaje de vapor de agua (v/v) contenido en la muestra original, si el comportamiento de gas es ideal para todos los componentes gaseosos?

- 3.11. Se llevó a cabo el análisis de Al, expresando su contenido como Al₂O₃, en una muestra de bauxita almacenada en un camión, se muestreó a intervalos de tiempo regulares tomando porciones de 1 pie de longitud. Cada porción fue empacutada y trasladada al laboratorio central donde se molieron y mezclaron. Se seleccionaron 4 muestras (cuyos pesos aparecen recogidos en la tabla) para su posterior análisis. Las muestras sobrantes se almacenaron para su posible utilización. Cada una de las submuestras seleccionadas se disolvieron en 5,00 mL de NaOH y se diluyeron a un volumen final de 50,00 mL con agua destilada. Este protocolo proporcionó un factor de dilución de 10 veces. La concentración de Al encontrada en cada una de las disoluciones aparece recogida en la tabla.

Muestra #	Peso de muestra (g)	Concentración Al en disolución (ppm)
1	0,6500	50,0
2	0,6450	48,0
3	0,6623	52,3
4	0,6557	55,3

- (a) Calcúlese el peso de aluminio en las submuestras sólidas seleccionadas.
- (b) Determinése el contenido medio de Al, expresado como % (p/p) de Al₂O₃, en la muestra de mineral y el límite de confianza para un nivel de probabilidad del 95%.
- 3.12. La aleación empleada para la construcción de un magnetrón contiene un 7% de vanadio. Se ha desarrollado un método exacto para la determinación de vanadio que proporciona desviaciones estándar de $s = 0,2\%$. El fabricante está ligado a un contrato en el que se especifica que el contenido de vanadio debe ser de 7,00 (± 0,05)%. ¿Cuántas muestras debe analizar la compañía para asegurar que su producto cumple las especificaciones establecidas?

- 3.13. Los gases desprendidos por la chimenea de una fábrica han sido causa de preocupación del vecindario durante años. Se encargó a un laboratorio independiente que determinase el contenido de SO₂ en los gases de la chimenea. Para ello se tomó un volumen de gas de 20 L, recogidos a 1 pie por debajo de la zona superior de la

* Indica más problemas involucrados.

chimenea, y se analizó dando como resultado una concentración de 30 ppm de SO_2 . Después del análisis, el equipo de gestión de la compañía instaló un sistema que permitía llevar a cabo el atrapamiento químico del SO_2 desprendido. De nuevo se encargó al laboratorio independiente que realizase la determinación de SO_2 y estableciese su nueva concentración. El muestreo se llevó a cabo a 1 pie por debajo de la zona superior de la chimenea, recogiendo en esta ocasión un volumen mayor de muestra. Mediante el empleo de una bomba, los gases fueron dirigidos a través de una serie de trampas que contenían bolitas de una sustancia que reacciona con el SO_2 en la relación: 100,0 milimoles SO_2 /100 g de sólido, pero que no reacciona con otros componentes de los gases de la chimenea. Cada una de las trampas contenía 20,000 g de bolitas. Después de un período de bombeo de 24 horas a un caudal de 100 L/minuto, las trampas se vaciaron y se determinó la variación de peso. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Trampa #	Peso de bolitas (g)
1	20,100
2	20,060
3	20,035
4	20,000

- Calcular el número de moles de SO_2 atrapados, considerando que la variación de peso es debida exclusivamente al SO_2 .
- ¿Cuántos litros de SO_2 se atraparían si el gas de la chimenea estuviera a una temperatura de 250 °C y a una presión de 0.98 atmósferas?
- ¿Cuál es la concentración, en ppm, de SO_2 después de la instalación de las trampas?
- ¿Cuál es la eficiencia del proceso de atrapamiento?

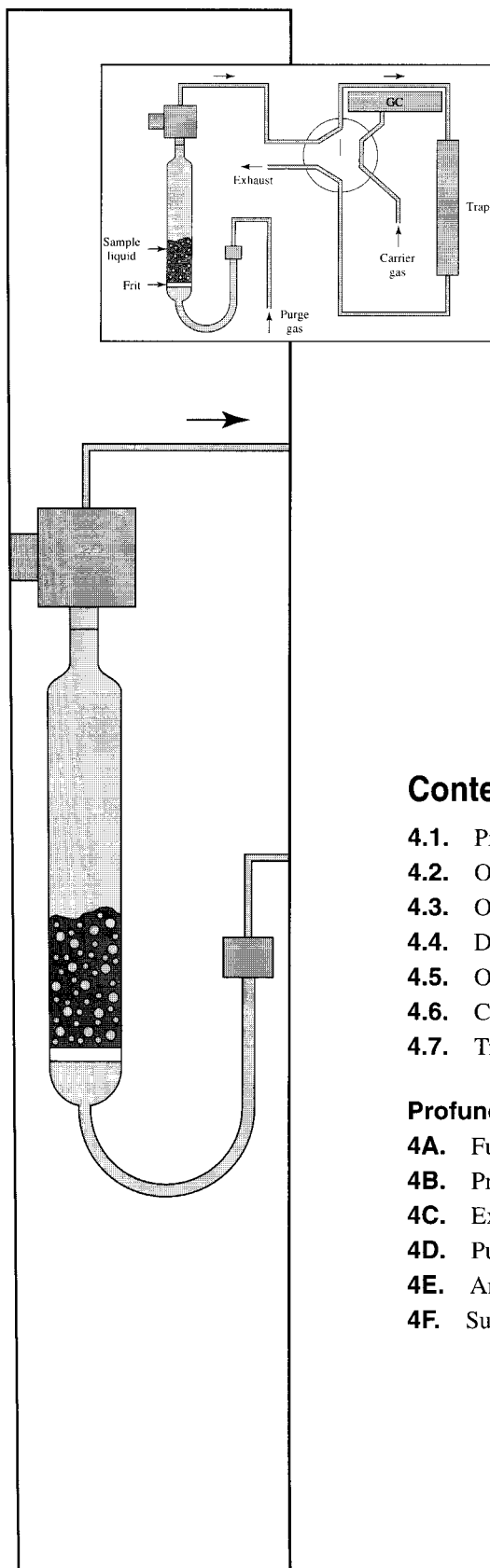
Tratamiento de la muestra, interferencias y estándares

Contenido

- 4.1. Preparación de la muestra
- 4.2. Optimización de la recuperación
- 4.3. Optimización de la forma química
- 4.4. Disminución de las interferencias
- 4.5. Optimización del intervalo de concentración
- 4.6. Calibración y estándares
- 4.7. Tipos de estándares

Profundizando

- 4A. Fundamento de la disolución asistida por ultrasonidos
- 4B. Preparación de la muestra asistida por microondas
- 4C. Extracción con fluidos supercríticos
- 4D. Purga y trampa
- 4E. Análisis por inyección en flujo
- 4F. Sustancias estándares de referencia



4.1. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra (también llamada **tratamiento de la muestra** o **pretratamiento de la muestra**) es el paso del análisis que mayor tiempo ocupa, con mayor tendencia a cometer errores, y el más laborioso. Además, la preparación de una muestra para un análisis requiere pericia química. No importa lo simple o complejo que parezcan los procedimientos, los cinco principios generales que a continuación se indican deben tenerse en cuenta en esta etapa del análisis.

1. **La preparación de una muestra debe hacerse sin perder ningún analito.** El analito no debe perderse en la preparación, pero si ocurriera, debe encontrarse la manera para descubrir cuánto se ha perdido. La medida cuantitativa de la cantidad de analito que queda para el análisis, después del tratamiento, se llama recuperación del procedimiento.
2. **La preparación de una muestra debe transformar el analito(s) en la mejor forma química para el método de ensayo a utilizar.** Algunos métodos de análisis requieren la muestra en forma sólida, otros líquida, y algunos gaseosa. Si la muestra debe transformarse, el analista se ocupa de ello (como disolver la sal en una disolución). A veces la transformación es una parte intrínseca del instrumento analítico y generalmente no se separa de la propia técnica, como cuando una llama caliente se usa para descomponer la matriz de la muestra. No es raro que el paso de la transformación sea la mayor contribución al error analítico. Por otro lado, la forma química específica puede ser determinante. Por ejemplo, quizá la forma atómica de un elemento sea necesaria frente a la forma iónica.
3. **La preparación de la muestra debe, si es necesario, incluir la eliminación de interferentes en la matriz.** Como se apuntó en el Capítulo 1, todos los métodos de análisis presentan un mayor o menor grado de interferentes—moléculas, átomos, o iones algunos de los cuales están ensayándose—. De un método de análisis que es poco propenso a interferencias, se dice que tiene una gran **especificidad**. La elección del procedimiento de tratamiento de muestra más adecuado es función de la técnica de medida. Cuando se mejora la especificidad de un análisis, los pasos para la preparación de la muestra pueden **simplificarse considerablemente**.
4. **La preparación de la muestra debe hacerse sin agregar ningún nuevo interferente.** Deben escogerse las condiciones de pretratamiento evitando la adición de algún nuevo interferente procedente de reactivos o de recipientes de reacción. El problema más común en este aspecto es **la contaminación cruzada**, que ocurre cuando el material de alguna muestra llega a introducirse en otra muestra. La contaminación cruzada surge cuando parte de los restos de una muestra anterior permanece en la zona cuando llega una muestra posterior. La contaminación cruzada resulta más difícil de eliminar cuando los niveles del analito varían mucho entre muestra y muestra: cuanto más varían las concentraciones, mayor es el efecto de contaminación cruzada. Aunque aquí la mencionamos en primer lugar, ésta puede ocurrir en cualquier fase de un análisis.
5. **La preparación de la muestra debe considerar, siempre y cuando sea necesario, la dilución o la concentración del analito hasta obtener una concentración del mismo que esté dentro del intervalo óptimo del método de análisis utilizado.** Es esencial conocer dicho intervalo para cada método de análisis. El análisis no saldrá bien si la concentración (sólido,

líquido o gas) es demasiado elevada o si es demasiado pequeña. Existen muy pocos métodos que proporcionen la misma precisión para más de unos tres órdenes de magnitud de concentración —donde el límite superior es mil veces la concentración del límite inferior—. De nuevo se deduce que la preparación de la muestra y el método de análisis están íntimamente ligados.

Estos cinco requisitos normalmente incluyen limitaciones; por ejemplo, un tratamiento que consigue un alto rendimiento también conlleva un gran número de interferencias.

Por otro lado, existen dos factores del análisis actual que también influyen en la preparación de la muestra. El primero es la rapidez de las técnicas instrumentales actuales. Si, en el transcurso de un minuto, se ha podido llevar a cabo un análisis completo, el resultado obtenido por **el sistema de gestión de la información del laboratorio (LIMS)** a través de un ordenador, y la siguiente muestra inyectada mediante algún tipo de inyector automático, entonces para utilizar el aparato a pleno rendimiento, se han de preparar 60 muestras por hora. No hace mucho, cuando sólo los métodos de análisis de una química incipiente eran posibles, y todos los análisis se realizaban de forma manual —como la adición manual de estándares—, una persona eficiente podía hacer de diez a quince análisis por hora. En el caso de que se determinase más de un analito en patrones separados, entonces sólo se preparaba una muestra por hora. En otras palabras, se ha incrementado dos órdenes de magnitud el **procesado** de la muestra.

Un segundo factor es el rápido incremento de los costes asociados con la compra y la eliminación de residuos de disolventes (y compuestos químicos en general), sin mencionar el deseo de disminuir el gasto a todos los niveles de los procesos químicos. La respuesta a este deseo ha sido el uso de cada vez menores cantidades tanto de disolventes orgánicos como de ácidos, e incluso de encontrar sustitutos para el proceso completo. Por ejemplo, es bastante corriente extraer compuestos orgánicos de muestras acuosas mediante agitación en un embudo de decantación. (Así, el éter puede evaporarse para concentrar una alícuota.) Sin embargo, muchas de las extracciones con éter son sustituidas por la comodidad de hacer pasar la muestra acuosa a través de una columna rellena de un sólido no polar. La adsorción de compuestos orgánicos sobre superficies no polares permite **separar** los componentes de la muestra. Una alícuota de disolvente orgánico como el metanol, puede utilizarse para recuperar el analito adsorbido, o la superficie sólida puede calentarse hasta la evaporación del analito trasladándole así desde su superficie hasta el instrumento de análisis.

Por todos estos factores, así como por el coste de la preparación de la muestra, gran parte de la investigación se dedica al desarrollo de mejores métodos para la preparación de muestras. Los apartados siguientes, 4.2-4.5, explican cómo los requisitos antes expuestos, 1-5, influyen en los análisis químicos.

4.2. Optimización de la recuperación

Lo fundamental de la idea de recuperación es la existencia de un analito en un medio o matriz del cual se va a recuperar. Para la selección de uno o varios métodos de preparación de la muestra hay que considerar los siguientes requisitos:

1. La química de los analitos.
2. La química del medio o matriz.
3. La química de las interacciones entre la matriz y los analitos.

El proceso químico, llegado a este punto, tiende a complicarse. El resultado deseado sería recuperar todos los analitos, en la forma deseada, durante la separación de los componentes de la matriz que provocan interferencias. Nos gustaría ser capaces de establecer algunas normas de este proceso, pero, dado el intervalo de posibilidades expuesto en la Tabla 4.1, las generalizaciones son casi imposibles.

El sueño de todo químico analítico sería una matriz sólida soluble por completo en agua; una técnica de análisis que utilice disoluciones acuosas de un analito (soluble); y que no haya interferencias de otras sustancias presentes en la matriz. En este caso solamente se necesitaría tomar una alícuota de un volumen determinado, no existiendo problemas de pérdidas de analito. (Situaciones en las que a menudo nos podemos encontrar, pero ¡no nos asustemos!)

Pérdidas de analito

Por tanto, ¿cómo se puede perder analito? Una manera muy obvia es mediante su adsorción, absorción, o penetración en las paredes del recipiente durante el tiempo transcurrido desde la toma de muestra hasta el proceso de análisis. Por ejemplo, los iones metálicos se pueden adsorber sobre las superficies de cristal. Por tanto, cuando se van a analizar para almacenar la muestra de metales a nivel de trazas, se necesitan recipientes de plástico liso (normalmente polipropileno). Sin embargo, algunos compuestos orgánicos se pueden absorber sobre plástico y perderse. En algunos casos, el analito puede difundirse a través de las paredes del recipiente hasta el exterior, siendo los recipientes de cristal liso los más adecuados para estos casos. Sin embargo, incluso en el cristal, para que los analitos no se pierdan a través de los tapones hay que sellarlos. Las pérdidas de analitos producidas de esta manera son irrelevantes cuando se realiza el análisis *on-line* o *in situ*.

Los analitos también se pierden o transforman mediante su descomposición, por ejemplo, la oxidación de compuestos orgánicos por contacto con el oxígeno del aire; esto implica la eliminación del oxígeno o bien la adición de antioxidantes. Otras sustancias se pueden descomponer por la luz, por lo que se han de mantener en la oscuridad. Un problema común en muestras acuosas y biológicas, es que las bacterias crezcan y descompongan partes de la muestra, por tanto los bactericidas o bacteriostatos pueden añadirse para mantener la integridad de la muestra. Por otro lado, los tejidos biológicos contienen numerosas enzimas que pueden degradar una amplia gama de analitos.

El caso estudiado en la página siguiente trata de que las proteínas de almidón muestren otras maneras de evitar la degradación.

Tabla 4.1. Combinaciones de analitos y matrices

Analito	Matriz	Ejemplo
Sólido	Sólido	Molibdeno en acero; polímero en polímero, grasa en pescado.
	Líquido	Partículas en suspensión en agua de lago, ketchup.
	Gas	Humo.
Líquido	Sólido	Aceite en conglomerados.
	Líquido	Compuesto orgánico volátil en agua, mayonesa.
	Gas	Aire expirado.
Gas	Sólido	Argón en basalto.
	Líquido	Lluvia ácida.
	Gas	Ozono en la atmósfera, aire expirado.



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 4-1 Romperlo es muy fácil

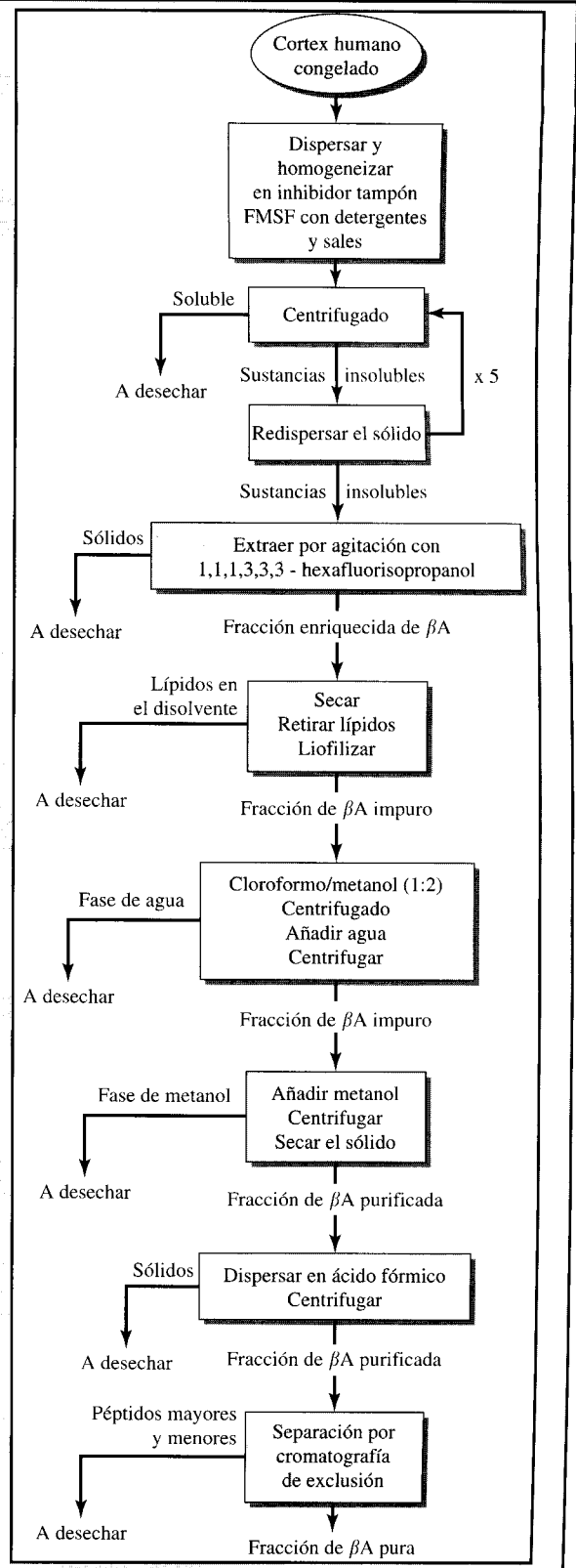
Los polipéptidos y las proteínas son moléculas relativamente débiles, y se han de escoger las condiciones de extracción y purificación cuidando de no romper los enlaces intramoleculares que forman la cadena. Durante la extracción de un tejido, el procedimiento debe reducir al mínimo la ruptura de la proteína por medio de enzimas (proteasas) que están inherentemente presentes ahí. Para frenar el proceso de la proteína, se introduce un inhibidor; en este caso, añadimos a la mezcla el inhibidor fenilmetil-sulfonilfluoroso (FMSF). Por otro lado, debemos tomar otra precaución y es que durante el proceso de preparación la muestra debe estar refrigerada, incluso durante el centrifugado.

La disposición del esquema de la derecha representa los pasos que hay que tomar para el aislamiento de los depósitos de uno o más de la β -proteína amiloide (abreviado con las siglas βA), que se encuentra en el tejido de la enfermedad de Alzheimer. Alzheimer es una demencia progresiva, y el propósito del estudio es examinar la estructura primaria de la proteína y el tamaño de los polipéptidos solubles que posteriormente puedan formar depósitos. Los péptidos aislados tienen pesos moleculares de unos 4.000 Daltons (4 kDa) que se están preparando para ser analizados por espectrometría de masas*.

[Ref.: NÄSLUND, J. *et al.* 1994 «Relative abundance of Alzheimer βA amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging.» *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:8378-8392.] ■

Aislamiento de la β -proteína amiloide. ►

* Espectrometría de masas: Capítulo 12.



Repaso: Algunas causas de pérdida, aparte de los accidentes o descuidos, son la adsorción del analito en las superficies de los recipientes, la evaporación de las muestras volátiles, pérdidas en reacciones químicas marginales no previstas y fugas por parte de los instrumentos de transferencia para gases y líquidos.

Todas estas pérdidas potenciales impiden la **transferencia cuantitativa de sustancias**. La medida cuantitativa de estas pérdidas normalmente se expresa como *porcentaje de recuperación*. Este valor es simplemente la relación entre la concentración de analito obtenida en el ensayo con la concentración de analito que realmente está presente en la muestra.

$$\% \text{ de recuperación} = 100 \times \frac{\text{concentración del analito encontrada}}{\text{concentración de analito en la muestra}} \quad (4-1a)$$

O,

$$\% \text{ de recuperación} = 100 \times \frac{\text{peso del analito encontrado}}{\text{peso del analito en la muestra}} \quad (4-1b)$$

Un ejemplo y el desarrollo de cómo se determinan los porcentajes de recuperación viene dado en la Sección 4.7.

Corrección por pérdida de analito

Una baja recuperación relativa no debe descartar automáticamente un método de análisis. Si la recuperación es constante, podemos corregir los datos tal como lo hacemos con cualquier error constante de una determinación. Por ejemplo, supongamos que el método para la preparación de una muestra da una recuperación de 87% del analito en todos los análisis. Entonces, lo único que necesitamos es multiplicar el resultado por 1,149 para corregir el efecto ($1,149 \times 0,87 = 1,00$).

Sin embargo, los procedimientos con baja recuperación suelen ser menos precisos. Una simple comparación ilustra este punto. Supongamos que un procedimiento de preparación de muestras produce recuperaciones del 99%. Desde el punto de vista opuesto esto quiere decir que hay una pérdida de un 1%. Si la pérdida se dobla o es la mitad, la recuperación varía del 98 al 99,5%, con un intervalo relativo del 1,5%.

En contraposición, consideremos el método de preparación de una muestra con una mala recuperación (de, digamos, un 60%). Con este método el 40% de analito se ha perdido. Si de nuevo la pérdida se dobla o es la mitad al azar, las recuperaciones variarán del 40% al 80%, lo que representa un intervalo de alrededor del 66%. Por tanto, hay una imprecisión inherente mayor, asociada a las bajas recuperaciones, y las conclusiones que se saquen de tales análisis son consecuentemente menos fiables.

A pesar de que son preferibles recuperaciones de analito elevadas, sin embargo muchas metodologías analíticas están oficialmente aceptadas por regulaciones gubernamentales con recuperaciones repetitivas tan bajas como del 50% para algunos de los analitos. Mientras la preparación de la muestra sea reproducible, se pueden obtener recuperaciones repetitivas. Para determinar si un tratamiento con baja recuperación puede usarse, podemos establecer un nivel máximo de error estadístico, tal como definir una desviación estándar máxima relativa para la recuperación. El error de recuperación se suma a los demás errores estadísticos de la misma forma.

$$\frac{\sigma_{\text{tot}}}{\text{contenido de analito}} = \text{RSD} = \frac{\sqrt{\sigma_{\text{muestreo}}^2 + \sigma_{\text{recuperación}}^2 + \sigma_{\text{análisis}}^2 + \dots}}{\text{contenido de analito}} \quad (4-2)$$

EJEMPLO 4.1

Durante la validación de un análisis de hidrocarburos poliaromáticos (PAH) en suelo húmedo y viejo, se estimó la desviación estándar relativa σ asociada a cada etapa para un intervalo de concentración del analito de 1-100 ppb. En la aplicación de la técnica (cromatografía de gases) $\sigma = \pm 1\%$. En el muestreo (muestreo de núcleos y combinación de núcleos de los centros de cuatro rejillas adyacentes de 10 m \times 10 m) se estima $\sigma = \pm 20\%$ entre cada grupo de muestras, debido principalmente a la heterogeneidad del suelo. La recuperación durante la preparación de la muestra se evaluó adicionando al suelo cantidades conocidas del analito, obteniéndose una estimación de $\sigma = \pm 7\%$. ¿Cuál es la desviación estándar relativa total? El contenido de analito es 3 ppb.

Solución:

Se utiliza la Fórmula 4-2.

$$\text{RSD} = \sqrt{0,2^2 + 0,07^2 + 0,01^2} = \sqrt{0,045} = 21\%$$

El conocimiento de la concentración del analito no es necesario para calcular el error relativo total, pues los valores son desviaciones estándar relativas y se aplican a muestras de este tipo y a este intervalo de analito. El error se debe principalmente al muestreo, lo cual es de esperar en un área tan grande y heterogénea.

4.3. Optimización de la forma química

A menudo el analito en la muestra no se encuentra en la forma química apropiada para el análisis. La transformación que requiere el analito para alcanzar la forma química óptima no se limita a cambios en el mismo analito, sino que puede requerir la transferencia de algunos analitos de una matriz a otra. En la Tabla 4.2 se definen algunos términos que describen dichas transformaciones. La Figura 4.1 recoge un diagrama-resumen de los distintos tipos de transformaciones.

El recordatorio de esta sección describe algunos métodos específicos utilizados para optimizar la forma química de los analitos. No hay una división clara entre compuestos orgánicos e inorgánicos, pero sí que hay una diferencia razonable entre el análisis elemental y el análisis molecular. Para el análisis elemental existen técnicas de digestión de gran potencia que rompen la matriz y la dividen hasta llegar a su composición elemental.

Trabajando directamente con muestras sólidas

En el capítulo anterior se argumentó sobre la posibilidad de mejorar la homogeneidad de la muestra reduciendo los sólidos contenidos a partículas de pequeño tamaño o polvos. En ciertos análisis este tratamiento es suficiente pues es posible utilizar estos polvos directamente para el análisis. Como ejemplos caben citarse el análisis térmico, la fluorescencia de rayos X, la activación neutrónica, y otras técnicas de análisis de superficies. De hecho, una de las mayores ventajas de estas técnicas de análisis es que pueden utilizarse sobre muestras sólidas.

La fluorescencia de rayos X, la activación neutrónica y las técnicas de superficies se estudian en el Capítulo 9.

Calentamiento o enfriamiento

En ocasiones, cuando el analito requiere una transformación en su forma física, ésta puede hacerse simplemente cambiando la temperatura. Un sólido heterogéneo puede fundirse y transformarse en líquido homogéneo o bien un líquido puede evaporarse transformándose

Tabla 4.2. Tipos de transformaciones de formas químicas

Término	Significado
Disolución:	Descomponer un soluto en sus componentes mediante enlaces soluto-disolvente.
Digestión:	Descomponer en partes de componentes, que se disuelven en un líquido; mediante aplicación externa de energía.
Descomposición:	Reaccionar químicamente para producir partes de componentes más pequeños.
Solubilización:	Romper una estructura para que la disolución interna quede libre para mezclarse con el disolvente que lo rodea. Muy usado en biología.
Desorción:	Despegarse de la superficie.
Atrapar:	Retirando y fijando en cualquiera de las diferentes formas: congelación, adsorción a un sólido o reacción química en una disolución.
Evaporar:	Transformar en gas a temperaturas relativamente bajas.
Ablación:	Descomponer en pequeñas partículas o producir gases calentando rápidamente la superficie.
Vaporización:	Genéricamente transformar en gas; normalmente implica un fuerte calentamiento.
Volatilización:	Evaporación o vaporización.
Atomización:	Romper un conjunto de átomos en átomos individuales.
Ionización:	Convertir a los átomos en iones.
Neutralización:	Producir la neutralización de las disoluciones ácidas o básicas.
Condensación:	Convertir por enfriamiento un gas en líquido.
Licuefacción:	Convertir un gas en líquido o por enfriamiento o por aumento de la presión.
Fusión:	Convertir un sólido en líquido añadiéndole calor.
Extracción:	Transferir analitos de una matriz a otra. La primera matriz es sólida o líquida, la segunda es un fluido.
Adsorción:	Unir a una superficie.
Oxidación:	Transformar el estado de oxidación de un elemento o de un compuesto haciéndolo más positivo.
Reducción:	Transformar el estado de oxidación de un elemento o de un compuesto haciéndolo más negativo.

en gas. Otros métodos de calentamiento incluyen el bombardeo con un haz de moléculas o átomos de alta energía de la superficie de la muestra líquida o sólida, o la exposición de una muestra sólida a la radiación láser de alta energía que evapora la superficie de la muestra.

Disolución

Si es necesario que la muestra esté en forma líquida para el ensayo y el sólido fundido no es adecuado (por ejemplo, por estar demasiado concentrado) o está demasiado caliente, entonces hemos de preparar una disolución homogénea. La forma más sencilla de hacerlo es disolviendo un sólido en un disolvente apropiado. Ejemplos típicos son la disolución de bicarbonato sódico o cloruro sódico en agua y la disolución de sustancias orgánicas como el naftaleno o polímeros como el poliestireno en tolueno u otros disolventes orgánicos. El proceso de disolución del soluto en el disolvente puede acelerarse por agitación o calentando suavemente.

En otras ocasiones la preparación de la disolución se puede facilitar utilizando **ultrasonidos**. Una disolución ayudada por ultrasonidos se describe con más detalle en la Sección 4A.

Digestión

Cuando una parte o la totalidad de una muestra no se disuelve en un disolvente, como es muy común, entonces se requieren unas condiciones vigorosas. El proceso se denomina **digestión** y requiere poner el sólido en disolución con la ayuda de ácidos, base, agentes oxidantes o enzimas. Algunas mezclas de digestión quedan recogidas en la Tabla 4.3.

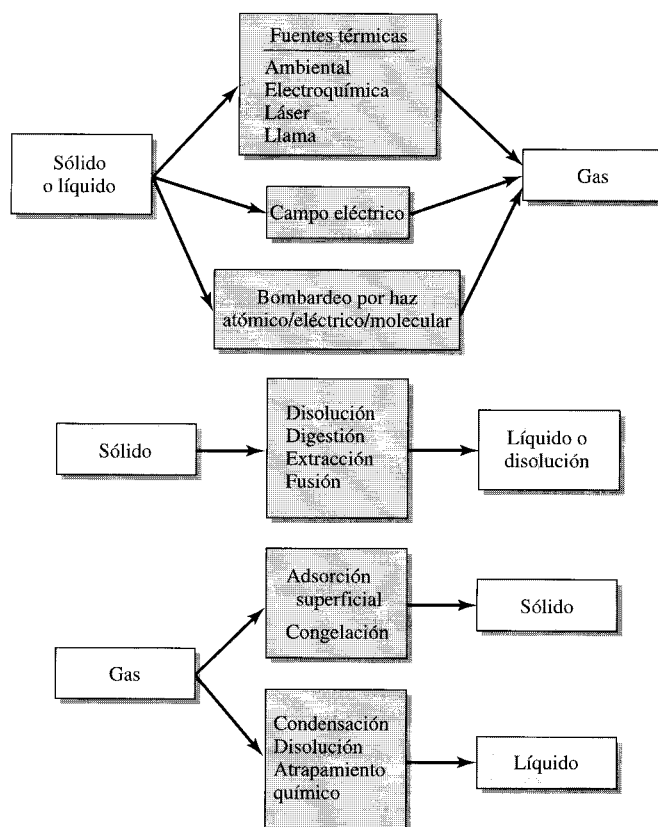


FIGURA 4.1 ►
Mecanismos de cambio
de estado-estado.

Tabla 4.3. Reactivos utilizados para la digestión

Disolución, concentración	Propiedades	Uso
Ácido		
Clorhídrico (38% p/p)	Reductor	Metales que se oxidan más fácilmente que el hidrógeno
Nítrico (70% p/p)	Oxidante	Metales que no reaccionan con HCl; sustancias orgánicas oxidadas
Sulfúrico (98,3% p/p)	Alto punto de ebullición ($\approx 340^{\circ}\text{C}$)	Metales; destruye materia orgánica
Perclórico (70% p/p)	Oxidante fuerte	Metales; NO SE PUEDEN UTILIZAR CUANDO EXISTEN AGENTES REDUCTORES
Fluorhídrico (49% p/p)	Forma fluoruros estables	Sílice y silicatos; utilizado con otros ácidos
Base		
Hidróxido sódico	Base fuerte; oxidante cuando es concentrada	Aluminio y óxidos anfóteros de Sn, Pb, Zn, Cr

Una complicación que hay que tener en cuenta en la digestión de una muestra para análisis es que uno o más de los componentes a ensayar podría transformarse en un producto volátil por causa de este proceso. Si esto ocurriera, los componentes pueden perderse en forma de gas, y su análisis produciría un resultado inferior al esperado. Si la volatilidad pudiera constituir un problema, el material se debe digerir en un recipiente cerrado para evitar las pérdidas. Tales recipientes se construyen normalmente con paredes gruesas de acero inoxidable (2-5 cm) y se denominan **bombas de digestión**. El nombre es algo que puede inducir a error ya que están contruidos de tal manera que no estallen incluso cuando la presión en su interior aumenta hasta grandes valores cuando se calientan.

Otro método de digestión implica la destrucción de los componentes orgánicos de la matriz mientras que se dejan los inorgánicos. Esto se realiza, normalmente, mediante la oxidación de los compuestos orgánicos, quedando los compuestos inorgánicos en las cenizas resultantes. Estas cenizas, además, se pueden digerir mediante uno de los métodos descritos anteriormente. La calcinación, normalmente, se lleva a cabo en un horno calentado eléctricamente, pero, con materiales adicionales especiales, se puede llevar a cabo en hornos microondas, como se comenta brevemente a continuación.

La **digestión con microondas** ofrece una nueva alternativa para ayudar a la disolución y digestión de la muestra. Algunos de estos microondas están diseñados específicamente para el laboratorio, tienen compartimientos para calentar que están cubiertos de materiales inertes, e indicadores de presión y temperatura. Además, el uso de la digestión con microondas permite un control mayor sobre la temperatura de la muestra y la velocidad de calentamiento que el de las placas calentadoras u otros sistemas de calentamiento. La llegada de la digestión asistida por microondas facilita ampliamente la digestión en recipientes sellados, que es obviamente un paso para asegurar que los análisis de trazas y ultratrazas sean exactos y precisos. La pérdida de analito está limitada, y son más fáciles de eliminar las interferencias.

La fabricación de un horno microondas de laboratorio difiere significativamente de un horno microondas doméstico. Normalmente es peligroso utilizar un horno microondas de cocina en el laboratorio. Además, hay una serie de inconvenientes que impiden que la digestión con microondas reemplace completamente los métodos de calentamiento convencionales. Éstos se pueden ver en la Sección 4B.

Si la digestión no destruye la muestra, un método todavía más drástico es el de la **fusión**. Esto implica calentar la muestra del sólido con aproximadamente 10 a 20 veces su peso de un **fundente**. Los fundentes son sólidos a temperatura ambiente. Un fundente es un agente oxidante fuerte, ácido o base, que formará una disolución homogénea (un fundido) con el material de la muestra cuando se calientan juntos. Al enfriar, el fundido solidifica en un sólido homogéneo. A menudo, después de la fusión, el fundido enfriado se puede disolver en un disolvente apropiado. En la Tabla 4.4 se exponen algunos fundentes.

Tabla 4.4. Reactivos para la digestión con fundente (fusión)

Fundente para la fusión	Propiedades	Uso
Carbonato sódico	Básico	Silicatos, sulfatos insolubles
Hidróxido sódico	Básico	Óxidos y sulfuros; minerales de Sn, Zn, Cr, Zr
Peróxido sódico	Alcalino y oxidante	Minerales de, por ejemplo, Sb, Sn, Mo, V, Cr; acero cromado
Pirosulfato potásico	Ácido	Óxidos de Fe, Co, Ni, Cr, Ti, W, Al; aceros
Nitrato potásico	Utilizado con Na ₂ CO ₃ para	Sulfuros de metales insolubles en ácido
Clorato potásico	fundentes alcalino y oxidantes	

Hay varias razones para utilizar la fusión cuando no se puede realizar la digestión ácida o básica:

1. La temperatura de fusión es normalmente superior (300-1000 °C) a los puntos de ebullición de las disoluciones acuosas de ácidos concentrados (alrededor de 100-200 °C).
2. Las concentraciones del reactivo fundente (del orden de 10-20 M) son normalmente mayores que las de una disolución ácida (0,1-10 M).
3. En una disolución acuosa, el agua limita el máximo poder oxidante y la máxima acidez y basicidad que se puede llegar a obtener. En un fundente, esta restricción no está presente.

En ocasiones se necesitan la digestión ácida y la fusión para la preparación de la muestra. La elección del método de tratamiento de muestra requiere el conocimiento de las propiedades químicas de la muestra, llegándose a una primera elección para una muestra específica sólo con la experiencia.

Por supuesto que existen limitaciones, como para cualquier método de digestión. Una de las principales es que las condiciones de digestión se vuelven más drásticas, pudiendo dificultar el encontrar un recipiente que no se disuelva con la mezcla. (Esto nos lleva a la vieja cuestión: si se necesita un disolvente universal, ¿cómo lo contendríamos?) Un camino para contrarrestar este problema es utilizar recipientes fabricados con elementos que no se van a determinar y que no actúan como interferentes si se corroen. Un material que se utiliza normalmente es el circonio purificado.

La digestión y la fusión utilizan condiciones químicas extremas, y las medidas de seguridad deben estar integradas en estos procesos. Un conocimiento de química descriptiva y la práctica cautelosa en el laboratorio previenen los peligros de las condiciones experimentales, como el uso de productos explosivos o de agentes corrosivos.

Vaporización

Algunos de los instrumentos utilizados para el análisis requieren que la muestra se introduzca en forma de vapor. Si la muestra es un sólido o un líquido, se debe vaporizar primero el material a un gas —atómico, molecular o ionizado (plasma).

Si el instrumento trabaja a alto vacío y la muestra es suficientemente volátil, la vaporización se lleva a cabo introduciendo la muestra a vacío. O, si es necesario, el material se calienta. También puede ser necesario vaporizar la muestra si el instrumento trabaja a presión atmosférica o superior. La vaporización, tal como se ha mencionado anteriormente, se puede llevar a cabo mediante bombardeo de partículas de alta energía (alta temperatura) tales como átomos de xenón.

La vaporización se utiliza para convertir las muestras en la forma correcta (gas) para su análisis en técnicas tales como cromatografía de gases, espectrometría de masas y espectrometría atómica. Los detalles sobre la vaporización en estos instrumentos que se describen en los capítulos correspondientes, incluyen el uso de chispas eléctricas y pulsos de láser de alta intensidad. Tales vaporizaciones se pueden clasificar como partes del ensayo. Pero, por coherencia, se tratará este paso por separado.

En la Tabla 4.5 se puede ver un resumen de algunas formas de muestra compatibles con diversos métodos o técnicas de análisis. Se puede hacer una conclusión general: lo mejor es que se utilicen los menos pasos necesarios para convertir la muestra en una forma que pueda ser precisa y exactamente analizada.

Los Capítulos 15, 12 y 9 incluyen, respectivamente, cromatografía de gases, espectrometría de masas y espectrometrías atómicas.

Table 4.5. Diversas técnicas de análisis empleadas según la fase de la muestra

Fase	Técnicas de análisis que aceptan esta fase de la muestra
Gas	Espectrometría infrarroja Raman (camino largo) Espectrometría UV-VIS Emisión y absorción atómica Luminiscencia Espectrometría de microondas Cromatografía de gases Espectrometría de masa Métodos radioquímicos Espectrometría de movilidad de iones
Disolución/líquido	Cromatografía líquida Cromatografía de gas Cromatografía de fluidos supercríticos Volumetrías Resonancia magnética nuclear Espectrometría infrarroja Espectrometría Raman Espectrometría UV-VIS Resonancia de spin electrónico Gravimetría Métodos electroquímicos Absorción, emisión atómica Espectrometría de masas Métodos de radiofrecuencia Métodos radioquímicos Dispersión por luz de polímero
Sólido	Fluorescencia de rayos X Cristalografía de rayos X Espectrometría infrarroja (reflexión y transmisión) Espectrometría Raman UV-visible (reflexión y transmisión) Espectrometría fotoacústica Activación neutrónica Métodos radioquímicos Métodos de análisis térmicos Resonancia magnética nuclear de estado sólido Técnicas de análisis de superficie (ESCA, Auger, microscopía de efecto túnel, microscopía de fuerza atómica, retrodifusión de Rutherford, difracción electrónica) Espectrometría de Moosbauer Resonancia de spin electrónico

4.4. Disminución de las interferencias

Aspectos como la optimización de la forma química, la reducción de las interferencias y la optimización de la recuperación están claramente interrelacionados: los requisitos y las limitaciones están establecidos por la naturaleza de la muestra y el método de análisis escogido. A veces, para reducir al mínimo las interferencias puede ser aconsejable eliminar o cambiar la matriz que rodea a los analitos. En los dos casos de estudio de este capítulo se procede a eliminar la matriz.

Tabla 4.6. Métodos de intercambio/Separación de la matriz

Extracción Soxhlet
Embudo de decantación/extracción líquido-líquido
Purga y atrapamiento
Extracción con fluido supercrítico (SFE)
Extracción a alta presión/temperatura
Extracción acelerada con disolventes (ASE™)
Extracción asistida por microondas
Extracción asistida por ultrasonidos
Extracción en fase sólida (SPE)
Liofilización (deshidratación mediante congelación y sublimación)
Precipitación

En esencia, los cambios en la matriz requieren una separación de los analitos de los componentes de la matriz original. Para hacer tal separación, durante un tiempo debemos desplazar los analitos a una fase que sea físicamente separable de la fase de la matriz original. (Aquí, por fase consideramos sólidos, líquidos y gases.) Existen numerosos métodos, y algunas técnicas más nuevas han demostrado ser mejores y/o más rápidas que las tradicionales. Véase en la Tabla 4.6 una lista de algunos de estos métodos.

Extracción

Consideremos, brevemente, las **extracciones sólido-líquido**. Experimentalmente, la idea es bastante sencilla: se pesa un sólido y se introduce en un recipiente que pueda cerrarse, y agregamos un disolvente. Mezclamos bien el sólido y el líquido, y posteriormente los separamos. Este procedimiento utiliza un líquido para disolver los analitos que forman parte del sólido (pero que no forman enlaces covalentes con él). Esta distinción entre el «material» que se disolverá y el «sólido» que no lo hace, la hacemos sólo en este estudio en concreto. Después de todo, si pesamos el sólido antes y después de la extracción, veríamos que parte del sólido se ha disuelto. Esto ocurre porque el material disuelto interactúa más fuertemente con el disolvente que con el sólido restante, y así pasa a la disolución. Describimos esta preferencia por una fase sobre la otra con un **coeficiente de distribución**, K_D , basado en la masa/volumen del analito i (m_i/V) en las dos fases.

$$K_D = \frac{(m_i/V)_{\text{disolvente}}}{(m_i/V)_{\text{sólido}}} \quad (4-3)$$

Con esta ecuación podemos comprender que es más débil la interacción del analito con la matriz sólida y más fácil la separación en el disolvente. Por tanto, cuanto más fácil sea esta separación mayor será el valor de K_D .

Tenemos un analito con $K_D = 2,0$. Esto significa que la concentración del material en el disolvente es el doble que en el sólido. Ésta no es una proporción grande, pero la tomamos para aclarar un punto sobre las extracciones cuantitativas: ¿cómo podemos lograr una extracción cuantitativa cuando ésta es relativamente ineficaz? (Después de todo, en la extracción, si usamos volúmenes iguales de disolvente y sólido, aproximadamente el 33% del analito queda en el sólido.) Una manera obvia sería escoger un disolvente mejor, pero nosotros consideramos que éste es el mejor, o el más seguro, o

el más eficaz de los disponibles. La próxima sugerencia podría indicar que hay un 66% de recuperación, y considerar esta baja recuperación como un error determinado. Esta táctica lo solucionaría probablemente, pero hay que recordar que la cantidad que sale del sólido depende del volumen de extractante. La mitad, como mucho (en masa), quedará en el sólido si doblamos la cantidad de disolvente. Entonces, podríamos decir: «¡Bueno, utilizar diez veces más disolvente, mezclarlo, y luego concentrar la sustancia!» Esto daría como resultado veinte veces más analito en el disolvente que en el sólido. Pero se corre el riesgo de pérdida de analito durante la eliminación del disolvente.

Hay una manera más simple, y es usar menos disolvente y hacer varias extracciones secuenciales.

EJEMPLO 4.2

Se desea extraer 1 g de analito de 10 mL de un polvo. (Nota: normalmente los sólidos los medimos en peso y no en volumen.) Para la extracción:

$$K_D = \frac{(m_i/V)_{\text{disolvente}}}{(m_i/V)_{\text{sólido}}} = 2$$

Calcúlese el porcentaje de analito extraído con sólo una extracción de 100 mL comparado con 5 extracciones secuenciales de 20 mL cada una.

Solución:

(En la tabla de la siguiente página aparecen resumidos los resultados de estos cálculos). Para una única extracción de 1 g, encontraríamos $(1 - x)$ g de analito en 10 mL de sólido y x g en 100 mL de disolvente. Esto es:

$$K_D = \frac{x/100}{(1-x)/10} = 2$$

Realizando los cálculos, tenemos:

$$\begin{aligned} 21x &= 20 \\ x &= 0,95 \end{aligned}$$

Ahora, hacemos los cálculos para 20 mL de disolvente y, a continuación, para las cuatro extracciones siguientes de 20 mL. El primer cálculo es el mismo que el anterior, pero con un volumen de 20 mL en lugar de 100 mL. Esto es:

$$K_D = \frac{x/20}{(1-x)/10} = 2$$

La solución es $x = 0,8$.

Los cálculos para la segunda extracción se hacen igual, pero ahora sólo hay 0,20 g de material para distribuir entre el sólido y el líquido. Así,

$$K_D = \frac{x/20}{(0,2-x)/10} = 2$$

y de esta expresión obtenemos $x = 0,16$. La segunda porción de disolvente (contiene 0,16 g de analito) se añade a la primera fracción, dándonos 40 mL con 0,96 g de material o el 96% de analito extraído. La comparación de la extracción simple con 100 mL con las múltiples extracciones de 20 mL aparece en la tabla. Está claro que es mejor utilizar extracciones múltiples, ya que con sólo dos extracciones de 20 mL obtenemos un porcentaje un poco más alto que con sólo una extracción de 100 mL.

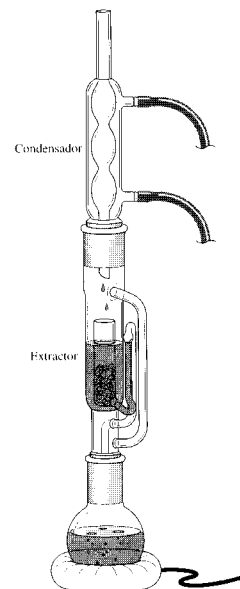
Volumen/mL	Cantidad extraída (g)	% total extraído
<i>Extracción simple</i>		
100	0,95	95
<i>Extracción múltiple</i>		
20	0,80	80
20	0,16	96,0
20	0,032	99,2
20	0,0064	99,84
20	0,0013	99,97

Los mismos principios y cálculos son válidos para la extracción líquido-líquido; se pueden utilizar volúmenes de disolvente de extracción más pequeños cuando extraemos éste de otro líquido. Una verdadera limitación es la recuperación del disolvente que contiene al analito cuando el volumen es demasiado pequeño. Por ejemplo, puede resultar difícil decantar 1 mL de disolvente a partir de 10 mL de sólido.

Los beneficios de la extracción múltiple, puestos de manifiesto en el ejemplo anterior, explican las ventajas de la extracción por recirculación continua del disolvente **extracción Soxhlet**. La Figura 4.2 muestra un dispositivo de extracción por recirculación continua del disolvente. Mediante destilación y condensación del disolvente, el dispositivo permite realizar una extracción múltiple, repetidamente, utilizando una pequeña cantidad de disolvente. Éste se redestila numerosas veces dentro de un recipiente que contiene un filtro de fibra sobre el que se deposita la muestra. La masa extraída acaba disuelta en el matraz inferior. La extracción por recirculación continua del disolvente ha sido durante décadas un método de referencia y es, a menudo, un método de contraste para medir y verificar otros métodos de extracción.

Cuando hablamos de un disolvente en el procedimiento de extracción anterior, donde un material se extrae de una matriz sólida, pensamos normalmente en agua o en algunos disolventes orgánicos como el dietiléter o el etanol o, incluso, en un hidrocarburo puro como el hexano o el tolueno. Todos ellos son líquidos a temperatura (20-25 °C) y presión (1 atm) ambiental. Sin embargo, en ciertos casos, es preferible trabajar con presiones mucho más altas como en la **extracción con fluidos supercríticos (SFE)**, la cual se describe con mayor profundidad en la Sección 4C. Un fluido común de este tipo es el dióxido de carbono supercrítico. Una de las ventajas del SFE es la posibilidad de usar CO₂ líquido, el cual es esencialmente no tóxico y presenta mínimas dificultades trabajando con un cierto orden. Un inconveniente de esta técnica es que requiere un equipamiento especial capaz de mantener las condiciones de trabajo necesarias.

Una técnica de extracción relativamente nueva es aquella que utiliza equipos que mantienen la muestra en un medio cerrado a alta presión, lo que permite trabajar con disolventes convencionales a mayores temperaturas. Este método se denomina extracción acelerada por disolvente (ASETM). Al poder trabajar a mayores temperaturas sin ebullición, la ASETM permite el uso de menores volúmenes de disolvente en una sola etapa de extracción. Además, las cinéticas de extracción son más rápidas debido al aumento de la temperatura, por lo que el proceso completo es mucho más rápido que la extracción por recirculación continua del disolvente. Tras el calentamiento, la celda se enfría por debajo del punto de ebullición normal del disolvente. En ese momento se presuriza la celda, lo que hace que el disolvente y el material extraído fluyan a través del filtro.



▲ FIGURA 4.2
Dispositivo de extracción por recirculación continua del disolvente.

El disolvente se evapora en el matraz inferior, pasa a través de la derivación exterior (bypass) y condensa en un receptáculo recubierto en su interior con papel de filtro. Cuando el nivel del disolvente está cercano al máximo se produce su succión mediante el sifón interior, regresando al matraz inferior.

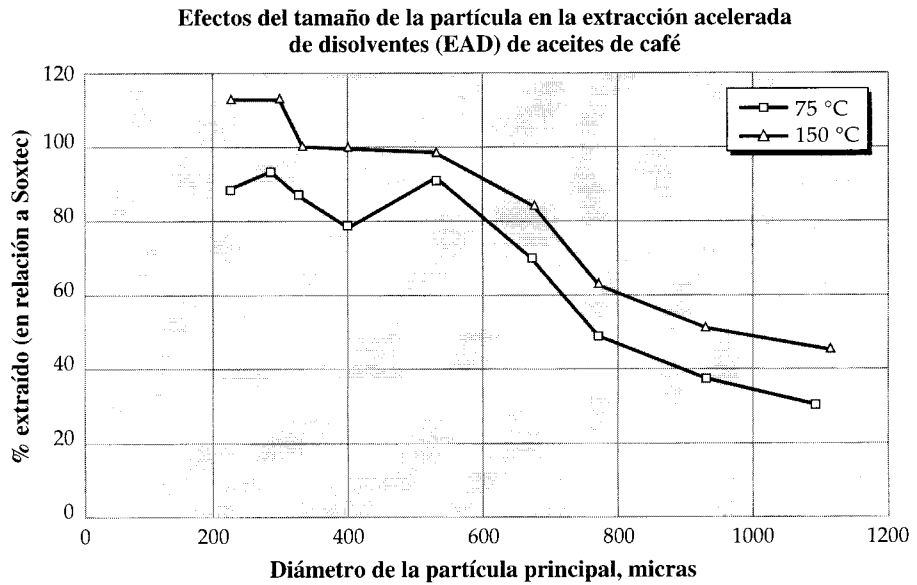


FIGURA 4.3 ▲
La dependencia de la extracción respecto del tamaño de la partícula.
 [Ref.: Cortesía de Douglas E. Raynie.]

También se acelera la extracción sólido-líquido con el empleo de calentamiento por microondas tanto en contenedores abiertos como cerrados (véase Sección 4B). Por otro lado, se puede acelerar y cambiar la efectividad de la extracción sólido-líquido empleando ultrasonidos (Sección 4A).

Se necesita una cuidadosa validación de las recuperaciones para la extracción sólido-líquido, porque puede que la alícuota obtenida no contenga todo el analito, a pesar de ser el extracto una solución homogénea. Por ejemplo, el tamaño de las partículas controla el transporte del analito desde el interior al extracto. Los resultados de la influencia del tamaño se pueden ver en la Figura 4.3; la recuperación disminuye al tiempo que el tamaño de la partícula aumenta en las mismas condiciones.

La extracción líquido-líquido es un método común y estándar para transformar la muestra y/o separar los analitos. Muchos de los lectores habrán hecho ya una extracción líquido-líquido en un embudo de extracción. Los dos líquidos son, a lo sumo, un poco solubles el uno en el otro; son **inmiscibles**. (Su antónimo, **miscible**, significa que dos disolventes se disuelven el uno en el otro en cualquier proporción.) Los líquidos inmiscibles, después de ser bien mezclados —por ejemplo, agitándolos—, se separan en dos capas. Entonces las dos capas se separan drenando una de ellas hasta que se alcanza la interfase. La extracción líquido-líquido se usa frecuentemente para extraer analitos orgánicos de soluciones acuosas. Los analitos se concentran, y las sales inorgánicas existentes se dejan en la fase acuosa. Como se dijo antes, gracias a la extracción líquido-líquido el analito puede extraerse en una cantidad más pequeña y, así, concentrarse y aislarse.

A pesar de todo, los actuales esfuerzos por reducir el uso de disolventes orgánicos han facilitado que la extracción líquido-líquido se sustituya en muchos casos por la **extracción en fase sólida (SPE)**. La extracción en fase sólida se hace pasando una disolución que contenga analito(s) sobre una fase sólida que absorba específicamente a los analitos. En la Tabla 4.7 se recogen fases sólidas y sus usos, junto con algunos disolventes utilizados para eluir los analitos de esas fases. La fase sólida normalmente tiene un volumen menor que la disolución que contiene el analito: la fase sólida puede ser desde

En este texto se usa adsorción para referirse tanto a la quimisorción como a la fisisorción.

Table 4.7. Medios de extracción de fase sólida

Nombre	Identidad soporte	Carac. soporte	Tipo, afinidad y ejemplos
Octadecyl	$(-C_{18}H_{37})$	Hidrófobo No polar	Especies hidrófobas en disoluciones acuosas. Ej.: compuestos orgánicos péptidos y oligonucleótidos
Octyl	$(-C_8H_{17})$	Hidrófobo	Especies hidrófobas en disoluciones acuosas (unidas menos fuertemente que C_{18})
Sflice	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ -\text{O}-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-\text{O}- \\ \quad \end{array}$	Hidrófilo Polar Neutro	Especies de polaridad baja o moderada en disoluciones no acuosas. Ej.: vitaminas solubles en grasas
Fluorisil	Silicato magnésico	Hidrófilo Polar Débilmente básico	Especies de polaridad baja o moderada en disoluciones no acuosas. Ej.: grasas, bifenilos policlorados
Alúmina A (Alúmina ácida)	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ -\text{O}-\text{Al}-\text{O}-\text{Al}-\text{O}- \end{array}$	Hidrófilo Polar Ácido Afinidad catiónica	Especies hidrófilas en disoluciones no acuosas. Ej.: antibióticos, cafeína
Alúmina N (Alúmina neutra)	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{O}^- \\ \quad \\ -\text{O}-\text{Al}-\text{O}-\text{Al}-\text{O}- \end{array}$	Hidrófilo, Polar Neutra	Especies hidrófilas en disoluciones no acuosas. Ej.: petróleo
Alúmina B (Alúmina básica)	$\begin{array}{c} \text{O}^- \quad \text{O}^- \\ \quad \\ -\text{O}-\text{Al}-\text{O}-\text{Al}-\text{O}- \end{array}$	Hidrófilo Polar Básico Afinidad catiónica	Especies hidrófilas no acuosas. Ej.: esteroides, pesticidas
Aminopropil	$-C_3H_6NH_2$	Hidrófilo Polaridad moderada Débilmente básico Afinidad aniónica	Analitos en disolventes acuosos u orgánicos. Ej.: fenoles, petróleo y sacaridos
Cyanopropil	$-C_3H_6CN$	Hidrófobo Casi no polar Neutro	Analitos en disolventes acuosos Ej.: pesticidas hidrófobos, pesticidas
Diol	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ -\text{CH}_2-\text{CH}_2- \end{array}$	Hidrófobo Casi no polar Neutro	Elementos traza en agua; proteínas y péptidos en agua y disolventes orgánicos
Estireno <div>divenilbenceno</div>		Hidrófobo Neutro	Compuestos orgánicos en agua; hidrocarburos poliaromáticos, vitamina B ₁₂
Afinidad aniónica (Aniones con fuerte capacidad de cambio)	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Hidrófilo Afinidad aniónica	Aniones en agua o medios hidroalcohólicos Ej.: Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}

un disco de papel de filtro químicamente modificado, de unos pocos cm de diámetro, hasta el relleno de una pequeña columna (de 1 a 35 mL); un cartucho tubular de la forma de una jeringuilla hipodérmica; o un pequeño embudo parcialmente relleno con pequeñas partículas adsorbentes. Después de la adsorción, los analitos se eluyen con una pequeña cantidad de disolvente ya que con él interaccionan más fuertemente que con la fase sólido-

da. Por tanto, la extracción en fase sólida no sólo transforma la matriz de la disolución, sino que al mismo tiempo reduce el volumen de la muestra. Por lo tanto, es claro que se necesitan superficies grandes para retener elevadas cantidades de analito, de manera que la cantidad de fase sólida para la extracción depende tanto del tamaño de la muestra como de la concentración de analito presente. Si la cantidad de adsorbente es demasiado pequeña, parte del analito puede pasar sin ser retenido. Esto se denomina **ruptura**.

Como se puede ver en la Tabla 4.7, el soporte sólido se puede clasificar atendiendo a diferentes características químicas: polar y no polar; ácido, neutro o básico; hidrófilo o hidrófobo; y afinidad catiónica o afinidad aniónica. Estas diferentes fases sólidas se utilizan para aislar diferentes tipos de compuestos. Finalmente, dos de las ventajas de la extracción en fase sólida con respecto a la extracción líquido-líquido son la considerable disminución de la cantidad de los disolventes necesarios para preparar las muestras y la posibilidad de automatizar los procesos de extracción.

Diálisis

La diferencia de solubilidad no es la única propiedad que puede aprovecharse para transformar una muestra líquida. Usando **diálisis**, se pueden separar los solutos por tamaño molecular. La diálisis se realiza con una membrana con poros de tamaño molecular, conocida como **membrana de diálisis**. Las moléculas de tamaño superior al poro no pueden atravesar la membrana, mientras que las que tengan un tamaño inferior la atravesarán fácilmente. Hay dos aplicaciones fundamentales de la diálisis. La primera es cambiar la distribución de moléculas pequeñas entre disoluciones de macromoléculas (normalmente una proteína u otro biopolímero). En este caso, la disolución del polímero se lleva a una cubeta de diálisis (un recipiente en el que al menos parte de la superficie tenga una membrana de diálisis). El recipiente se pone en contacto con un gran depósito (aproximadamente cien veces el volumen de la muestra) que contiene una disolución con la composición deseada para la macromolécula. Con el tiempo, la composición de la disolución de la cubeta de diálisis estará próxima a la del depósito grande, y la de este último depósito tendrá una pequeña concentración de los solutos que estuvieron inicialmente en la cubeta de diálisis y que pudieron atravesar la membrana. En la segunda aplicación, la diálisis se usa para aislar moléculas pequeñas excluyendo las grandes. En este caso, se implantaría un tubo de diálisis en miniatura que permitiera a las pequeñas moléculas neurotransmisoras (los mensajeros entre células nerviosas) difundir a través del fluido del cerebro pero excluyendo las proteínas. El **dializado** dentro del tubo se recoge para su análisis o, en algunos casos, las moléculas dializadas se dirigen hacia un flujo de corriente que las lleva fuera donde se analizan continuamente.

Precipitación y flotación

Debemos mencionar también el método clásico de transformación de una matriz líquida: la precipitación. Hay que precipitar el analito, filtrar o decantar el disolvente y volver a disolver el analito en una nueva disolución. Sin embargo, este método no es muy usado para el análisis de trazas.

Un método menos conocido para separar partículas en un líquido es aislarlas burbujando un gas, por ejemplo aire, a través de la disolución. Las partículas pasan del líquido a la superficie de las burbujas del gas. La separación y aislamiento pueden mejorarse por adición de surfactantes o coprecipitantes, como el hidróxido de Fe (III). El precipitado de hidróxido de hierro atrapa otros metales pesados y actúa como **vehículo** para los analitos que sean iones metálicos de baja concentración. Este método se denomina **flotación**.

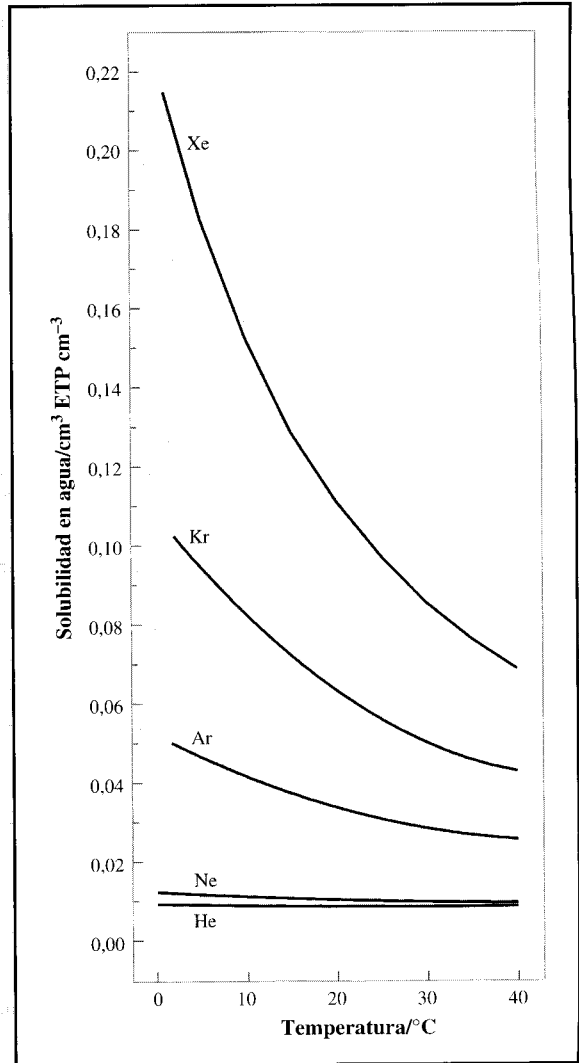


CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 4-2

Patinar sobre una gruesa capa de hielo (período de tiempo, 30.000 años)

Para predecir correctamente el futuro clima de la Tierra se necesita comprender los cambios ya ocurridos y sus causas. Una de las actuales polémicas gira en torno a los cambios en la última era glacial, donde la caída de la temperatura del océano no concuerda con la de la tierra. Un test para comprobar si esta diferencia es real (y contraria a muchos modelos climáticos) es medir la proporción de gases nobles (He, Ne, Ar, Kr y Xe) en agua subterránea, cuya antigüedad puede obtenerse por el método radioquímico del ^{14}C . La base del método se refleja en la figura, que muestra la solubilidad de estos gases en función de la temperatura. Lo que ocurre es que el agua de lluvia penetra en la tierra hasta la fuente de los acuíferos, y, mientras fluye hacia el nivel del agua subterránea —nivel freático—, se equilibra con los gases de la atmósfera. Después de entrar en el acuífero, ya no intercambia gases. El agua fluye despacio desde la fuente y, tomando muestras a lo largo del acuífero, se pueden obtener datos en diferentes tiempos. El método ha demostrado ser válido para mostrar las principales temperaturas anuales de áreas suministradoras del acuífero hasta alrededor de un grado.

Las muestras, después de comprobar que no están contaminadas llevando a cabo varios análisis, se preparan de la siguiente forma para ser analizadas: se bombean a través de un tubo de cobre de un metro de largo y 8 mm de d.i., que tiene un tubo transparente y una válvula restrictiva en el extremo de la salida. La válvula se cierra progresivamente hasta que no queda ninguna burbuja en el tubo transparente, lo que significa que no hay ningún escape de gas con esa presión final. Luego se sella el tubo plegándolo. En el laboratorio, cada muestra se traspasa a una ampolla de cristal, en la que el agua se agita cada 45 minutos y el tubo de cobre se calienta periódicamente. Los dos procesos aseguran que los gases disueltos pasen a estado gaseoso. Se hace pasar al gas por una trampa de alcohol/hielo carbónico, y luego se introduce en un contenedor vacío de 1 L. De éste, 25 mL se ponen en contacto con una esponja de titanio a 800 °C durante 10 minutos, lo cual elimina todos los gases químicamente activos menos el hidrógeno. El hidrógeno se elimina cuando el horno se enfría a 100 °C durante 30 minutos. Los gases nobles purificados son adsor-



[Información de Clever, H. L. 1979. *Krypton, xenon, and radon: gas solubilities*. Oxford: Pergamon. Weiss, R. F. 1971. *J. Chem. Engin. Data* 16: 235-241.]

bidos por carbón vegetal activado, a 14 K, y son liberados uno a uno calentando gradualmente el carbón. Se mide por espectrometría de masa.

Los resultados se corrigen por el aire que entra en la muestra en forma de burbujas (basán-

Patinar sobre una gruesa capa de hielo... (continúa)

dose en el hecho de que las burbujas tienen composiciones iguales a la proporción atmosférica). Después de compensar la diferencia normal entre la temperatura del aire y del suelo, los resultados indican que la media de temperatura durante la última era glacial era 5,4 °C menor que la actual en el área del experimento, que está situada al noroeste de Nuevo México. Esta cifra concuerda con otros datos, como la localización del polen, que indica el nivel cambiante del tipo de árboles (la altura mayor a la que las piceas del área pueden

crecer), y algunos indicadores de fósiles vertebrados. Otros datos señalan que el cercano Golfo de México estaba sólo a 2 °C menos. Todavía no se ha entendido esta diferencia.

[Ref.: STUTE, M. *et al.* 1995. «A 30,000-yr Continental Paleotemperature Record Derived from Noble Gases Dissolved in Groundwater from the San Juan Basin, New Mexico.» *Quaternary Research*, **43**, 209-220.] ■

Purga y trampa

Si los analitos son suficientemente volátiles, la opción metodológica de aislarlos es la **purga y trampa**. *Purgar* significa eliminarlos de la matriz original. Para las muestras sólidas se efectúa calentando el sólido mientras se hace pasar un gas por él, para que arrastre los componentes volátiles a una trampa. Los componentes volátiles se llaman normalmente **volátiles**. La purga de un líquido se lleva a cabo haciendo pasar un gas no reactivo por el líquido, que se lleva los componentes volátiles. Las trampas captan y retienen a los volátiles, ya sea enfriándolos, ya adsorbiéndolos en una pequeña cantidad de sólido en polvo contenida en la trampa. Por otro lado, se pueden hacer las dos cosas: que el volátil sea absorbido por un sólido enfriado. Se aporta más información sobre los métodos de purga y trampa en la Sección 4D.

Partiendo de estas breves descripciones, es posible ver alguna similitud entre la purga y trampa, flotación, diálisis y extracción: todas concentran los analitos partiendo de un volumen mayor. La concentración tiende a mejorar la calidad del análisis, especialmente a niveles de analitos de trazas y ultratrazas. Esto nos lleva al tema de la siguiente sección, la optimización de las concentraciones de analitos.

4.5. Optimización del intervalo de concentración

El último requisito a tener en cuenta cuando se lleva a cabo un método de preparación de muestras es optimizar la concentración de los analitos. Nunca puede recalcarse suficientemente la importancia de este requisito. *Todo* método de ensayo tiene un intervalo de concentraciones dentro del cual dará los resultados con la mayor precisión y exactitud. La parte de abajo del intervalo de concentración que se puede ver se cuantifica por un número que se denomina **límite de detección**.

También hay un límite superior de concentración útil. El intervalo de concentraciones entre el superior y el límite de detección se denomina **intervalo de concentración de trabajo**. Diferentes métodos de análisis tienen diferentes intervalos de concentración de trabajo y, en la mayoría de los casos, el intervalo es específico del analito.

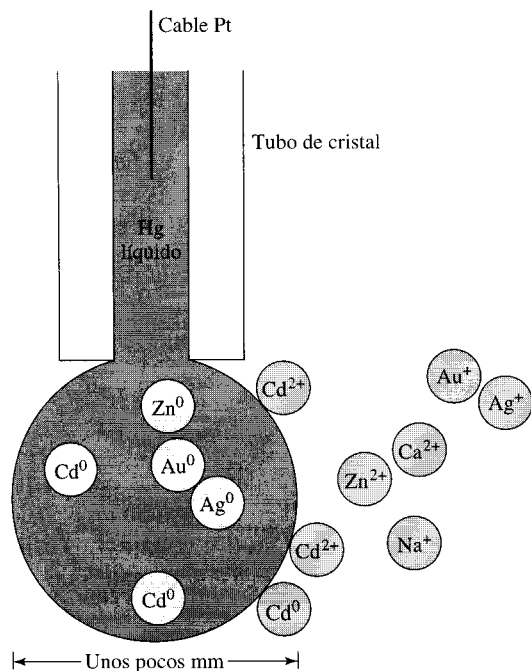
En alguna parte del intervalo de concentración útil hay un intervalo óptimo, en el que la precisión y exactitud son las mejores para el análisis. Como se puede adivinar, rara vez el intervalo óptimo se encuentra cerca de algún extremo.

Los límites de detección se describen con mayor detalle en la Sección 5.7.

¿Cómo llevaríamos una concentración de analito al intervalo óptimo, si no estuviera ya en él? Depende de que el análisis necesite la muestra en estado líquido, sólido o gaseoso, y de que el analito esté por debajo o por arriba del intervalo óptimo.

Para los sólidos la **preconcentración** —es decir, aumentar la concentración de analito antes de comenzar con el experimento— sería difícil. Seguramente implicaría la disolución, la separación de los analitos de la matriz, y la reprecipitación, ya sea con un coprecipitante —un portador—, ya quitando el disolvente. La dilución es más fácil. Ésta se realiza pulverizando el sólido y diluyéndolo con otro material sólido que no lleve consigo ningún elemento interferente significativo.

En los líquidos la preconcentración requiere normalmente aprovechar las diferencias en la reactividad de los analitos comparada con los componentes de la matriz. Una aplicación directa para los elementos en disolución es la deposición electrofítica, como recoge la Figura 4.4. Muchos elementos, en su forma metálica, se disuelven en mercurio líquido, formando disoluciones que se conocen como **amalgamas**. Entre estos metales están: Ag, Au, Cd, Co, Pb, Sn y Zn. Si los elementos están en disolución como sus iones (Ag^+ , Au^+ , etc.), pueden transformarse en sus formas metálicas por reducción química. Esto se lleva a cabo fácilmente, en una célula electroquímica donde son reducidos los iones, empleando mercurio como cátodo. Una vez reducidos éstos a sus formas metálicas, pueden disolverse en el mercurio contiguo. Sin embargo, cuando el mercurio líquido está en contacto con agua, determinadas especies iónicas quedan sin reducir, y siguen disueltas en el agua. En éstas se incluyen Ca^{2+} , Cs^+ , Na^+ , Rb^+ y Sc^{2+} . La diferente reactividad de los referidos grupos de iones metálicos permiten su separación electroquímica utilizando mercurio como electrodo. En cuanto a la extracción líquido-líquido, la cantidad de mercurio es mucho más pequeña que la cantidad de agua que contiene la muestra disuelta. Como consecuencia, los metales que se amalgaman quedan altamente concentrados en la gota de mercurio.



◀ FIGURA 4.4
Diagrama del proceso implicado en la preconcentración por electrodeposición.

Los metales iónicos son reducidos en la superficie del electrodo de gota de mercurio y luego se disuelven en el mercurio para formar una amalgama. La máxima preconcentración posible depende del volumen de la gota de mercurio en relación con el volumen de la solución iónica. Los iones que no pueden ser reducidos al estado metálico no son absorbidos.

Así, en una operación —reducción electroquímica con mercurio— los componentes pueden ser tanto separados como concentrados. Este método se usa muy frecuentemente cuando el Ca^{2+} , Na^+ , K^+ y Mg^{2+} se presentan en exceso y los elementos como Cd y Zn están siendo determinados. Dos muestras para las que se utiliza este método de preconcentración son el agua de mar y la sangre. Por supuesto, este método puede emplearse a la inversa, esto es, eliminando de la matriz de metales como Zn y Cd cuando se analizan niveles traza de Ca y Mg.

En la Figura 4D.1 de la página 124 se muestra un aparato de purga y trampa.

Se han mencionado ya otros métodos de preconcentración de analitos en disolución al tratar sobre la transformación de las matrices: purga y trampa, extracción de estado sólido, extracción de líquido a líquido, flotación, evaporación y precipitación con redisolución. Cuando la concentración del analito es muy elevada, se requiere realizar una dilución. La dilución es simple; hay que añadir más disolvente. Aunque pueda parecer trivial la simple adición de disolvente, al hacerlo se diluyen todos los componentes, incluidos los «interferentes». Esto puede ser beneficioso si la magnitud de los efectos de la interferencia disminuye por la dilución. Por ejemplo, supongamos que se necesita una disolución homogénea, pero un interferente precipita el analito a la concentración de la disolución original. Sin embargo, supongamos que diluyendo tres veces el precipitado no se forma. Incorporar la triple dilución al protocolo permite que el análisis siga adelante estando la muestra en una disolución homogénea, como se pretendía.

La mayoría de los procedimientos de introducir la concentración del analito dentro del intervalo de concentración óptimo pueden ser automatizados. Automatizar la dilución y la preconcentración de disoluciones es el método más desarrollado, porque es el que se utiliza con más frecuencia. Algunos de estos métodos se estudian en la Sección 4E (análisis de flujo de inyección) y en la Sección 4D (purga y trampa).

4.6. Calibración y estándares

En el Capítulo 2 vimos cómo se usaban las muestras estándar para validar un método de determinación de metales pesados y arsénico. La matriz de la muestra es complicada, y el uso de estándares en tales análisis es el tema de la Sección 4.7. Pero antes de estudiar algunos de los distintos procedimientos de estandarización, vamos a hacer un breve inciso sobre la naturaleza de la medición analítica y los tipos de estándares.

En el análisis químico, una **medición directa** (como la masa, el tiempo, el volumen y el voltaje) rara vez proporciona una medida del contenido. Las concentraciones químicas se hallan a través de **mediciones indirectas**, que se basan en mediciones directas con **calibración**. Más específicamente, en el contexto del análisis químico calibrar significa determinar la relación entre la concentración del analito y la respuesta de la técnica de medida. No hay que confundir calibración con validación: el último término implica determinar si una metodología analítica específica puede usarse de modo satisfactorio, ya por un solo analista, ya por varios laboratorios y analistas. La calibración previa se da por supuesta.

Los estándares químicos son, por lo tanto, estándares de contenido químico. Esto contrasta con los estándares físicos, que se usan como estándares de las características de los materiales: por ejemplo, los estándares físicos incluyen la elasticidad, el color, la viscosidad, así como las más básicas de masa, tiempo, longitud y voltaje. Los estándares químicos son sustancias puras, mezclas, disoluciones, gases, o materiales como aleaciones o sustancias biológicas que se usan para calibrar o validar toda o parte de la metodología de un análisis químico. La Sección 4F contiene más información sobre los estándares de contenido químico.

4.7. Tipos de estándares

Los estándares o patrones químicos se utilizan para determinar factores de recuperación y para la etapa de calibración. Los métodos de calibración pueden dividirse en dos tipos: los que utilizan **estándares externos** (calibración externa) y los que **utilizan estándares añadidos a la muestra**.

Un estándar externo es el que se analiza separadamente de la réplica desconocida que se está ensayando. Una serie de tales estándares contienen distintas concentraciones conocidas de analito, junto a la matriz que es similar o idéntica a la de la muestra. En un análisis que vaya bien, puede hacerse una prueba y un estándar para realizar la calibración.

Los estándares añadidos se dividen, asimismo, en dos categorías. Las dos requieren añadir una cantidad conocida de estándar a cada muestra que se analiza.

La primera categoría, la técnica del **estándar interno**, requiere adicionar el patrón a la muestra así como a la disolución blanco. El estándar ha de ser lo suficientemente diferente químicamente al analito, de tal forma que cuando se le detecta en el mismo experimento, no interfiere en el análisis. Sin embargo, el estándar ha de ser lo suficientemente similar de tal forma que la recuperación refleje la recuperación del analito y cualquier pérdida pueda ser compensada. Antes de utilizar un estándar interno, es necesaria una calibración tanto para el estándar como para el analito. El estándar interno puede añadirse antes de la preparación de la muestra o antes de la medida. En el primer caso, tanto el paso de la preparación como el ensayo quedan englobados en la medida de calibración así como en la medida de recuperación. En el segundo caso, sólo se incluye el proceso de medida.

La segunda categoría se denomina **adición estándar**. Las adiciones estándares son cantidades fijas de analito que se añaden a cada muestra, después de una medida inicial; la medida se vuelve a realizar después de cada adición. Las adiciones y las medidas normalmente se llevan a cabo una o dos veces, y por extrapolación (que se describe a continuación), se averigua la concentración de analito presente en la muestra al comienzo. La adición de los patrones, en este proceso, se realiza después de haber completado la preparación de la muestra; la calibración pertenece únicamente a la etapa de medida.

Estándares externos

Los estándares externos pueden usarse para calibrar un procedimiento de medida, cuando los componentes de la matriz, incluyendo los reactivos que se requieren en el preparado, no causan interferencias. También pueden usarse para calibrar un análisis en el que el analista tiene suficiente control sobre las condiciones como para que la contribución producida por los interferentes sobre las medidas puedan mantenerse constantes; así puede realizarse la oportuna corrección del error determinado por el interferente.

Veamos ahora un ejemplo práctico donde se determina la concentración de platino en un convertidor catalítico de un vehículo. Esto nos muestra la utilización de un estándar externo, o, más correctamente, una *serie* de estándares externos.

La calibración externa de la respuesta del instrumento se realiza utilizando estándares que contienen distintas concentraciones de analito. En una determinación ideal, sólo las concentracione(s) de la especie ensayada debería cambiar en una serie de disoluciones estándares. Haciendo hincapié en este punto: es importante mantener constantes las concentraciones de todas las demás especies que pudieran influir en las medidas.

EJEMPLO 4.3

El análisis de Pt en una muestra de catalizador se llevó a cabo por absorción atómica. Para ello 300 g de material de catalizador, después de haberlo secado y molido (alúmina Al_2O_3 , muy estable), se disolvió en una mezcla de $H_2SO_4-H_3PO_4$, y se fundieron las sustancias insolubles con $K_2S_2O_7$. Para evaluar la eficiencia de la precipitación del Pt y paladio con cloruro de estaño-teluro, se utilizaron trazadores radiactivos. El precipitado se redissuelve para el ensayo por absorción atómica. No se pierde una cantidad relevante de platino.

Se prepara una serie de estándares de platino. Las concentraciones y la respuesta instrumental se muestran en la Tabla 4.8. La respuesta de los instrumentos se da en unidades arbitrarias. En estos momentos no nos importan estas unidades. La tendencia se ve claramente en la gráfica de la respuesta instrumental *versus* la concentración de los estándares. Esta gráfica se muestra en la Figura 4.5, donde vemos que la respuesta es claramente lineal, esto es, directamente proporcional a la concentración. Esta calibración nos permite relacionar la respuesta del instrumento con el contenido de platino en la muestra.

Inmediatamente después de calibrado el instrumento, utilizando los estándares y *sin cambiar el procedimiento utilizado en el ensayo*, medimos cuatro réplicas de muestra y registramos los resultados (que podemos ver en la Tabla 4.9).

FIGURA 4.5 ► Gráfica de los datos de calibración para el platino.

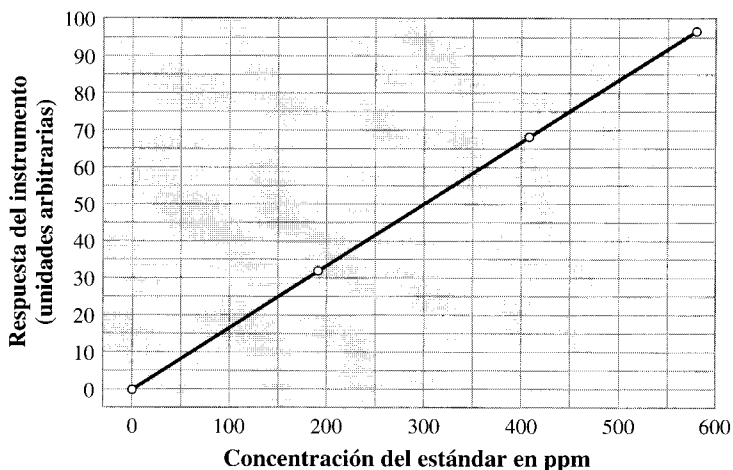


Tabla 4.8. Resultados del análisis con una serie de estándares externos

Concentración del estándar en (ppm)	Respuesta del instrumento (unidades arbitrarias)
0	0,0
190	31,7
410	68,3
580	96,6

Datos de Potter, N. M., Lange, W. H. 1981. *Am. Lab.* 13:81-91. Potter, N. M. 1976. *Anal. Chem.* 48:531-534.

Tabla 4.9. Resultados del análisis de réplicas de la muestra: respuesta del instrumento

Número de la muestra	Respuesta del instrumento
1	64,3
2	63,5
3	64,5
4	63,3

El significado de la respuesta lineal puede expresarse en la ecuación:

$$\text{resultado del instrumento} = \text{constante} \times \text{concentración} \quad (4-4)$$

Hállense el valor de la constante de calibración y el contenido de platino del catalizador.

Solución:

La constante de calibración se determina por medio de los datos de la calibración, calculando los mínimos cuadrados. (Si se quiere el resultado de este ejemplo, no hay que olvidar el punto de 0 ppm con la respuesta 0 del instrumento.)

De esta forma, según los datos de calibración de la Tabla 4.8, la Ecuación 4-4 queda:

$$\text{respuesta (unidades arbitrarias)} = 0,167 \times \text{concentración de Pt (ppm)}$$

y utilizando los resultados recogidos en la Tabla 4.9 pueden hallarse las concentraciones de disoluciones. Los resultados de las réplicas aparecen en la Tabla 4.10.

Los detalles algebraicos de las regresiones de mínimos cuadrados se vieron en la Sección 2.16.

Tabla 4.10. Resultados de análisis en muestras iguales: Concentración

Número de la muestra	Concentración de la disolución/ppm
1	386
2	381
3	387
4	380

La constante de la Ecuación 4-4 es específica para los siguientes factores:

1. El instrumento.
2. Las condiciones del instrumento durante las determinaciones.
3. Las otras sustancias presentes en la matriz de muestra después del tratamiento de la misma.

Muchas veces no se pueden eliminar todos los elementos interferentes durante la preparación de la muestra por constricciones de tiempo o de costes. A pesar de todo, los estándares, cuidadosamente preparados, posibilitan la evaluación de los efectos de cualquier elemento interferente, y permiten corregir su influencia sobre los resultados. De otra forma, no se podría hacer ninguna calibración. Si varía cualquier condición o cualquiera de los pasos de la preparación, los instrumentos deben ser recalibrados, y quizás se tengan que preparar nuevos estándares externos.

Sólo hemos mirado en detalle dos ejemplos de cómo utilizar los estándares para calibrar un ensayo: los que describen el ensayo para arsénico y metales pesados (Sección 2.9), y el platino en catalizadores automóbiles (en esta sección). De todas formas, la estrategia es la misma para todos los métodos de ensayo de uso cotidiano. Los estándares tienen la misma función en los análisis: determinar el contenido y asegurar la exactitud de las distintas metodologías.

Estándares añadidos (internos)

Hay tres supuestos en los que la estandarización se efectúa añadiendo un estándar a la misma muestra:

- Cuando la matriz, sólida o líquida, de una muestra sea, bien desconocida, o bien tan compleja que no podría emplearse un estándar externo con suficiente garantía.
- Cuando el proceso de preparación de la muestra o la técnica de ensayo sea compleja o muy variable.
- Cuando la medida dependa de condiciones instrumentales muy precisas y difícilmente controlables.

En el peor de los casos pueden presentarse los tres problemas en un mismo análisis. Por ejemplo, la muestra puede ser complicada, la preparación difícil, y la medida puede implicar introducir la muestra en una llama. Las reacciones de las tres etapas son bastante complejas, y algunas veces las condiciones de la llama son difíciles de regular con la precisión deseada.

El empleo de estándares añadidos de varios tipos está ilustrado debajo con algunos ejemplos. El primer ejemplo supone añadir una cantidad de estándar a una disolución en blanco para evaluar el porcentaje de recuperación durante el desarrollo de un método.

EJEMPLO 4.4

Se está llevando a cabo el análisis de una nueva droga polipéptida. Se establece la formulación cuando las píldoras tienen un determinado relleno multicapas. El laboratorio quiere tener recuperaciones entre el 95% y el 105% en la preparación, para asegurar una cuantificación por el método cromatográfico. Se utiliza una solución estándar de polipéptidos para adicionar a una pequeña serie de placebos, de modo que cada píldora contenga 3,20 mg de polipéptido. El contenido de la píldora se disuelve en medio ácido mediante agitación. Cuando se ha disuelto completamente se lleva a 10,00 mL en un matraz volumétrico. El resultado es de 15,42 unidades cuando se introducen 10 μg de los 10 mL de disolución en el instrumento. La respuesta del instrumento a un blanco es cero, y se sabe que la respuesta es lineal con la concentración.

Se prepara una disolución estándar con 40,0 mg de polipéptido en 100 mL de agua, y luego se mantiene congelada a $-70\text{ }^\circ\text{C}$ hasta justo antes de usarlo, para evitar la hidrólisis y el crecimiento bacteriano. Una muestra de 10 μL de la disolución estándar, con el mismo pH, tiene una respuesta de 18,25 unidades. ¿Cumple la recuperación los requisitos del laboratorio?

Solución:

Calculamos que la concentración (p/v) del estándar es de $0,400\text{ mg mL}^{-1}$. Esta concentración en 10 μL da como respuesta 18,25. La respuesta obtenida en la medida de la muestra más la adición fue 15,42. Considerando una respuesta lineal se obtiene que:

$$\frac{15,42}{18,25} \times 0,400\text{ mg mL}^{-1} = 0,338\text{ mg mL}^{-1}$$

Luego los 10 mL de la muestra tienen:

$$10\text{ mL} \times 0,338\text{ mg mL}^{-1} = 3,38\text{ mg estándar}$$

Y la recuperación es

$$(3,38\text{ mg}/3,20\text{ mg}) = 1,06$$

El método tiene una recuperación del 106%. Es necesario realizar otra preparación de muestra, ya que el requisito era una recuperación del 95% al 105%. ¿Cómo es que se puede recuperar más del 100%? La respuesta es que hay elementos interferentes.

Los métodos cromatográficos se estudian en los Capítulos 13-15.

Los resultados de adicionar un estándar son más precisos cuando se realizan con el mismo analito, como se muestra en el ejemplo anterior, donde el analito era adicionado al blanco. Sin embargo, a veces es útil añadir a la muestra otra sustancia como estándar que pueda separarse del analito por el método de ensayo.

En este caso, el analito es la mejor sustancia, siempre que se sustituya isotópicamente en algún punto de la molécula. El isótopo puede ser radiactivo (detectado y cuantificado con técnicas de análisis radioquímico) cuando el analito no es radiactivo. Por ejemplo: usar ^{57}Co para rastrear el ^{59}Co natural, o usar tritio sustituido por hidrógeno en los orgánicos. También, el isótopo puede ser estable pero con una masa diferente (cuantificada mediante técnicas espectrométricas de masa). Un ejemplo puede ser usar ^{13}C estable para el más abundante ^{12}C . La confianza que dan estos resultados es muy alta.

La cuantificación por espectrometría de masas se puede ver en el Capítulo 12.

El segundo método consiste en adicionar un compuesto cuyas propiedades químicas estén muy relacionadas con la del analito, pero lo suficientemente diferentes como para que la sustancia adicionada y el analito puedan cuantificarse separadamente. La medida de contenido se calcula entonces según la respuesta relativa para los analitos y para el estándar separado. Antes de emplear este método se tiene que demostrar que el analito y las respuestas del estándar interno están relacionadas. La mejor calibración tiene lugar cuando se relacionan según una proporción fija. Usaremos este tipo de adición si:

1. No se puede obtener un blanco.
2. Queramos usar una técnica de análisis que no requiera isótopos puros, que son caros, o radiactividad.
3. Existe una importante e inevitable variabilidad en alguna parte de la metodología analítica.
4. Se precisa una elevada presión.

Haciendo la adición, podemos emplear la *proporción* de analito/sustancia adicionada como medida. La medida de la proporción corrige las pérdidas y/o los cambios en las respuestas del instrumento. Por ejemplo, si se añade un estándar a la muestra original, y sólo se encuentra la mitad del estándar al final del análisis, podemos suponer que también se ha perdido la mitad del analito relacionado con aquél. En definitiva, el porcentaje de recuperación y de calibración se establece con cada serie de muestras.

Algunos ejemplos de patrones internos que difieren de los analitos son 2-pentano como estándar interno para 2-hexano, el paladio para el platino, y el bromoclorometano para el tetracloroetileno. Para el polipéptido del Ejemplo 4.4, puede emplearse un polipéptido teniendo un aminoácido diferente.

Los estándares internos que difieren de los analitos se utilizan con casi todos los métodos presentados en este texto. Las excepciones son unos cuantos métodos volumétricos y cinéticos.

Métodos cinéticos: Capítulo 18.

La tercera forma de emplear los estándares es añadirlos a cada muestra como una *adición estándar*. El método de la adición estándar sólo puede usarse cuando la respuesta del ensayo sea lo suficientemente selectiva como para que sea debida sólo al analito.

El método de adición estándar se lleva a cabo como sigue:

1. Se realiza una medida de la muestra que se va a analizar.
2. Se añade una cantidad conocida de analito (el estándar de adición).
3. La muestra, adicionada, se mide otra vez en las mismas condiciones.
4. Se puede volver a adicionar y a medir (pasos 1 y 2) unas veces más.
5. La concentración del componente original se calcula a partir de los datos por extrapolación.

A continuación, un ejemplo de uso de este procedimiento en una determinación de cobre.

EJEMPLO 4.5

Se toman de la misma disolución original de la muestra tres alícuotas de 5 mL. No se añade nada a la primera alícuota, pero sí se añaden 5 μL y 10 μL de una solución de cloruro de cobre estándar de 100 ppm a la segunda y tercera alícuota, respectivamente. Este procedimiento se recoge en la Tabla 4.11, y los resultados del experimento en la Figura 4.6. Ignorando por ahora las pequeñas variaciones de volumen después de la adición, se pide calcular la concentración de cobre de la muestra.

Tabla 4.11. Esquema de un análisis de cobre usando el método de la adición estándar

Número de alícuota de 5 mL. (ppm)	Volumen de 100 ppm Cu^{2+} añadido (μL)	Concentración final de Cu^{2+} añadido (ppm)
1	0	—
2	5	0,10
3	10	0,20

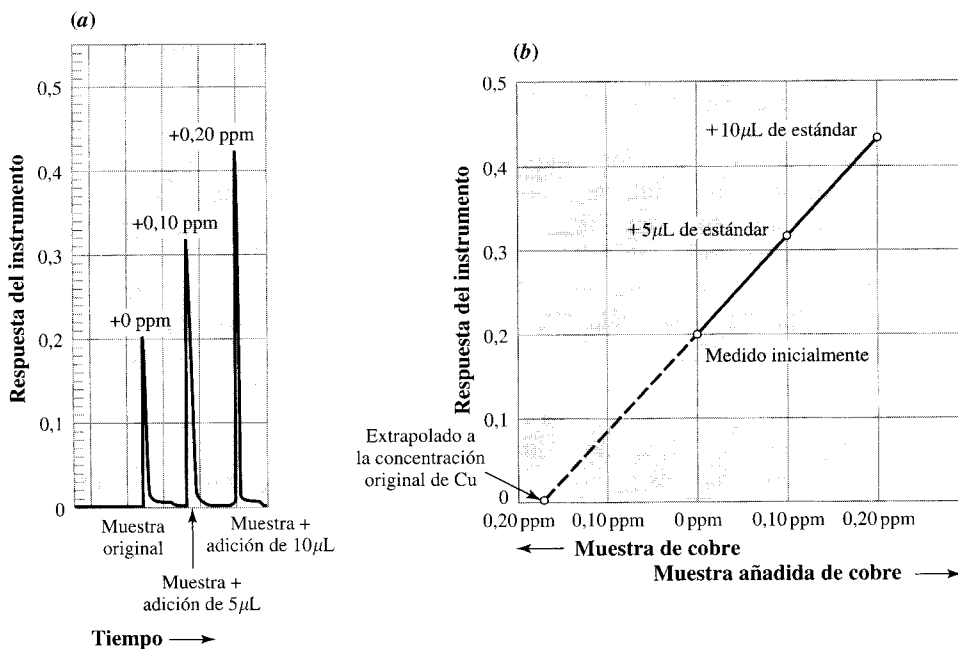


FIGURA 4.6 ▲
Datos de la serie de mediciones de una muestra y de dos adiciones de estándar.

(a) Los datos tal como aparecen en un gráfico de registro. La respuesta del instrumento se evalúa en altura de pico; (b) gráfico de la respuesta del instrumento en función de la concentración. La concentración de la muestra es desconocida y se sitúa en el «0». Las adiciones son de 0,1 ppm y 0,2 ppm de Cu, respectivamente. Una extrapolación lineal a la respuesta cero proporciona el contenido de la muestra. Este método supone, entre otras cosas, que la respuesta del instrumento es lineal por encima del intervalo examinado, y que la respuesta del instrumento es cero cuando no hay Cu en la matriz de la muestra.

Solución:

El cobre añadido asciende a 0,10 ppm en la segunda muestra, y 0,20 en la tercera. (La adición se diluye 1000 veces y 500 veces en las partes alícuotas 2 y 3, respectivamente.) En la Figura 4.6 la respuesta instrumental (en unidades arbitrarias) aparece en función de la cantidad de cobre añadido. Cada punto con información corresponde a una medición. El «cero» (en el eje horizontal) es la respuesta del instrumento al medir la disolución original. Los otros puntos son las mediciones en las partes alícuotas adicionadas.

En este caso se puede hacer una extrapolación lineal. El valor absoluto de la intersección en el eje horizontal es el cálculo del cobre contenido en la muestra original. Aquí, la concentración de cobre es de 0,17 ppm. Se proporcionan más datos en la leyenda.

Una desventaja del método de adición de estándar es que requiere un mayor número de análisis. Como se dijo anteriormente, este método es incapaz de compensar un blanco distinto de cero.

La ventaja de las adiciones de estándar es que este procedimiento permite compensar efectos de la matriz. Sin embargo, el intervalo de concentración por encima del cual la respuesta del instrumento permanece lineal suele ser muy pequeño (menos de un orden de magnitud, factor 10). Por tanto, la preparación debe incluir el llevar todas las muestras dentro del intervalo de concentraciones de trabajo. Por lo menos, la razón en parte de este estrecho intervalo lineal no son las limitaciones inherentes al instrumento, sino los complicados efectos químicos que requieren introducir el estándar en primer lugar. ¡Siempre parece que las victorias fáciles están fuera de nuestro alcance!

Cuando la respuesta del instrumento no es lineal, calcular la concentración en la muestra original es más complicado que una simple extrapolación, y el resultado es significativamente menos fiable. La obtención de curvas no lineales en la aplicación de la adición estándar puede darse por dos razones: la cantidad añadida no es despreciable o la respuesta del instrumento no es lineal en el intervalo ensayado. Lo primero es fácil de corregir. Lo segundo requiere cambiar las condiciones del ensayo o el mismo método. La adición estándar se usa normalmente con métodos electroquímicos, cromatografía de gas, espectrometría de masa, cromatografía de gas/espectrometría de masa y espectrometría atómica.

Para más información, ver los siguientes capítulos: electroquímica (7), GC (15), MS y GC-MS (12) y espectrometrías atómicas (9).

4A. Profundizando: Fundamento de la disolución asistida por ultrasonidos

Disolver un líquido conlleva, como cualquier otra reacción química, variaciones en el equilibrio químico que depende de las concentraciones. Mientras el sólido se disuelve, el analito se puede separar de la superficie sólo por difusión si no hay agitación. Como la difusión es un proceso relativamente lento, la disolución se acelera si se agita la solución. Un término más general para agitación es «aumentar la transferencia de masa». El método de agitación mediante barra agitadora sobre un agitador magnético o a mano es suficientemente conocido. Pero también se puede realizar la agitación por ultrasonidos. Los ultrasonidos son vibraciones sonoras superiores al nivel auditivo humano. Las vibraciones agitan la solución produciendo burbujas microscópicas que se dilatan y se contraen. Estas burbujas pueden aumentar hasta alcanzar el tamaño crítico por encima del cual explotan, produciendo un breve intervalo ($< \mu s$) de altas temperaturas (~ 5000 K) y presiones (> 1000 atm). Además de agitar la solución las burbujas pueden quebrar una superficie sólida. Pueden formar películas debajo de la superficie y separar la película de la superficie. Las burbujas también pueden formar grietas microscópicas cuya dilatación ayudará a romper el sólido.

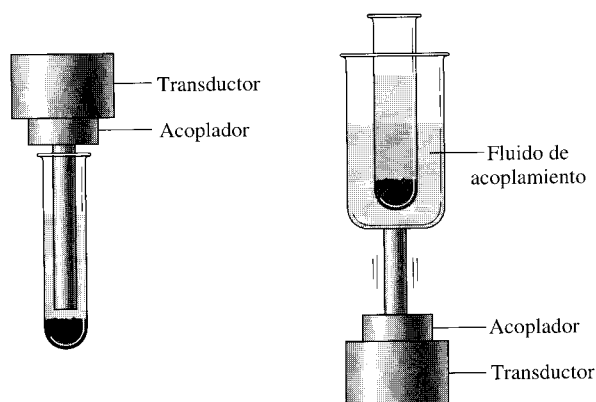


FIGURA 4A.1 ▲
Dos configuraciones diferentes de digestión asistida por ultrasonidos o de extracción de un analítico presente en una muestra sólida.

A la izquierda, el transductor se sumerge en el disolvente. A la derecha, el transductor queda pegado al fondo del recipiente. El recipiente se llena de líquido para acoplar la energía del ultrasonido a la muestra. Es posible que se obtenga diferente eficacia cambiando la situación y forma del tubo con la muestra.

Para poner un ejemplo del poder del ultrasonido se ha realizado el siguiente cálculo. A 20 kHz la superficie de un generador de ultrasonido que desplaza $50 \mu\text{m}$ en su vibración alcanza una velocidad de 10 m s^{-1} y tiene una aceleración de aproximadamente $100.000 \times$ gravedad. (La aceleración de un cañón es de unos $20.000 \times g$.) Así, el favorecer la disolución ultrasónica se caracteriza por proporcionar un pequeño desplazamiento, una velocidad moderada de agitación y aceleraciones increíblemente rápidas.

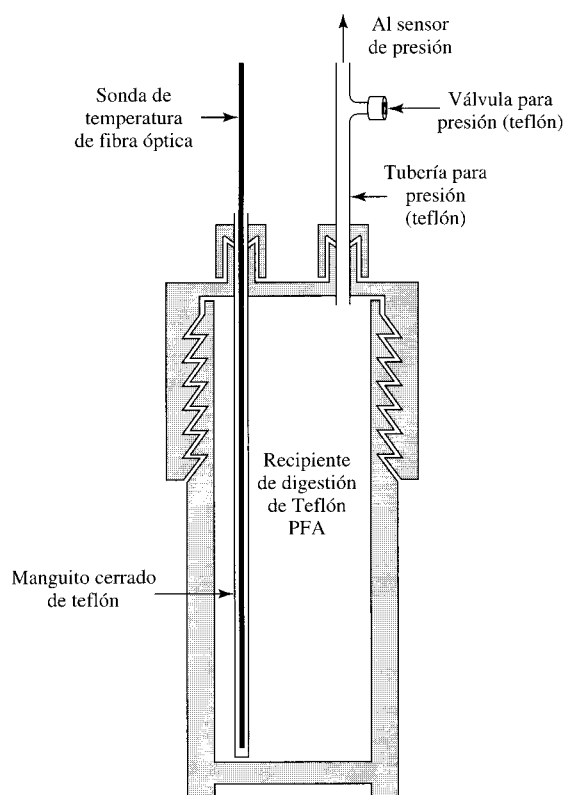
La longitud de onda del sonido es lo suficientemente corta como para estar dentro del tamaño de los recipientes. Como resultado, las ondas de sonido pueden enfocarse y doblarse en superficies donde cambia la velocidad del sonido, exactamente igual a como se enfoca y dobla la luz por las variaciones en el índice de refracción en una superficie. Esta propiedad implica que puede haber importantes diferencias en la efectividad de la sonicación, dependiendo de la disposición del instrumental: los tamaños y formas de los tubos de digestión y el emplazamiento y forma del transductor de sonicación. En la Figura 4A.1 se recogen dos disposiciones diferentes.

4B. Profundizando: Preparación de la muestra asistida por microondas

La mayoría de las técnicas analíticas para los mismos elementos requieren digestiones de la muestra conocidas. Los hornos microondas permiten un nivel de control y de velocidad sin precedentes para la realización de digestiones y disoluciones con ácidos.

Las muestras para la digestión por microondas se colocan en recipientes abiertos o cerrados, frecuentemente fabricados con un tipo de Teflón™, (perfluoroalkoxy)etileno (Teflón PFA) (véase Figura 4B.1.) Una razón para usar material polimérico es su relativa transparencia a la radiación de microondas, a la frecuencia normalmente usada de 2450 MHz. Como consecuencia, la energía de las microondas penetra en la muestra y la calienta directamente. Puede usarse también sílice fundida (muchas veces llamada incorrectamente cuarzo) o recipientes de cristal; ambas proporcionan las mismas ventajas en su aplicación a la digestión por microondas.

El calentamiento por microondas deriva del campo eléctrico cambiante de las microondas. Dicho campo eléctrico aumenta o disminuye con la frecuencia de las microondas,



◀ FIGURA 4B.1
Un recipiente de digestión por microondas, para realizar digestiones en recipientes cerrados.

Estos recipientes suelen estar compuestos de un polímero de Teflón PFA. El punto de fusión de este material es de 306 °C, notablemente superior al de los otros Teflones. El Teflón PFA tiene un límite de temperatura por uso continuado de 250 °C. Independientemente de sus diferentes diseños, estos recipientes tienen una válvula de despresurización para evitar que la presión del gas se eleve demasiado, a no ser que se utilice un control de temperatura constante para todos los recipientes.

y tiende a hacer que roten moléculas como las de agua, que migren los iones de las soluciones iónicas y que se muevan los electrones de los materiales metálicos. Las moléculas de agua tienden a parar sus movimientos rotacionales cuando colisionan con las moléculas circundantes, y esas colisiones calientan el líquido. En los metales, la resistencia al flujo de electrones tiende a calentarlos rápidamente. (Este efecto limita algo el uso para la digestión de metal, como se verá más abajo.) No es probable que ninguno de estos mecanismos de calentamiento funcione con minerales, rocas y suelos secos. Estos líquidos se calientan fundamentalmente por contacto con el líquido que los rodea.

En muestras predominantemente acuosas las microondas son absorbidas a unos pocos cm de la superficie, y la disminución del calentamiento es exponencial, sigue la ley de Beer. Como consecuencia de estas propiedades de absorción, una muestra de 10 mL se calienta prácticamente igual en todo su volumen, mientras que una muestra de 100 mL estará sensiblemente más caliente en su superficie externa que en el centro. La diferencia exacta depende de la forma de la muestra. Pero el centro de la muestra más grande seguirá calentándose hasta una temperatura dada, siendo este calentamiento 10 a 100 veces más rápido que con un calentamiento térmico-convencional, y más controlado. De esta manera, las muestras pueden ser llevadas en un horno microondas a la temperatura de digestión deseada en unos pocos minutos solamente. Además, en recipientes cerrados la digestión puede acelerarse, porque el punto de ebullición se eleva por encima del punto normal de ebullición del ácido cuando la presión supera la presión atmosférica. Por ejemplo, el ácido nítrico (ebullición-constante) concentrado entra en ebullición, en un recipiente abierto (con 1 atmósfera de presión), a 120 °C, pero en un recipiente microondas a presión puede mantenerse la temperatura alrededor de los 185 °C. La Tabla 4B.1 recoge los puntos de ebullición aplicables a digestiones por microondas.



Horno de digestión microondas.

Microondas MLS-1200 MEGA Labstation, con un rotor de presión media y 10 recipientes; incluye sondas de presión y temperatura. Por cortesía de Milestone, Inc., Monroe, Connecticut.

Table 4B.1. Puntos de ebullición normal *versus* recipiente cerrado (175 ppcg[†])

Disolvente	Punto normal ebullición/°C	Punto de ebullición a 175 ppcg [†] /°C
Diclorometano	39,8	140
Acetona	56,2	164
Metanol	64,7	151
Etanol	78,3	164
Acetonitrilo	81,6	194
Propanol 2	82,4	145
Acetona:hexano ^a 1:1 v/v	52	156
Acetona:ciclohexano ^b 1:1 v/v	52	160
Acetona:petróleo éter ^c 1:1 v/v	39	147

a. Hexane B.P. 68,7 °C, pero no se calienta por microondas

b. Ciclohexano B.P. 80,7 °C, pero no se calienta por microondas

c. Petróleo éter B.P. 35-52 °C, pero no se calienta por microondas

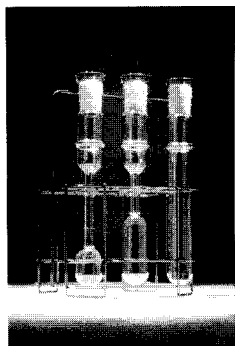
[†] ppcg = por pulgada de presión de gas

Fuente: *Am. Lab.* 1994. 26 (agosto):34-40.

Los límites de la digestión por microondas derivan de los límites de temperatura y presión de los recipientes y las propiedades eléctricas y químicas de las muestras. Por ejemplo, los recipientes de Teflón no pueden usarse para el ácido fosfórico o sulfúrico, porque sus puntos de ebullición se encuentran por encima del punto de fusión del recipiente. Para éstos se pueden usar recipientes de sílice, pero no para el ácido fluorídrico, que la atacaría.

La digestión por microondas de metales y aleaciones presenta una serie de problemas especiales, por su alta conductividad eléctrica. La partícula de muestra puede llegar a estar tan caliente —incluso sumergida en una disolución acuosa—, que derrita el recipiente de polímero. El recipiente de sílice puede resolver, una vez más, el problema, pero persisten otras dificultades. Una es que algunos metales producen hidrógeno cuando reaccionan con ácido. En recipientes cerrados, una válvula de despresurización dejará escapar los vapores cuando se alcance el límite de presión del recipiente. Esto no supone un problema siempre y cuando sólo se eliminen gases. Sin embargo, el analito se perderá si se escapan pequeñas gotas de líquido con los gases. Otra dificultad es que los metales pueden hacer saltar chispas entre las piezas. Si hay algo de oxígeno junto con hidrógeno, las chispas podrían causar una explosión al inflamarlos. Consecuentemente, tanto en recipientes cerrados como en los abiertos debe eliminarse el oxígeno existente, para impedir una peligrosa explosión, y debe hacerse al metal reaccionar completamente antes de cerrar el recipiente y calentar la muestra. Se puede eliminar el oxígeno purgando el recipiente con nitrógeno u otro gas que sea inerte en las condiciones de la digestión. Una tercera dificultad es que se produzcan mezclas explosivas si se van a digerir sustancias orgánicas. Éstas pueden presentarse, bien en forma de disolvente, bien en forma de muestra, como el aceite; sus componentes de más bajo punto de ebullición pueden dar lugar a mezclas explosivas junto con oxígeno. Finalmente, las digestiones orgánicas pueden producir CO₂, y, en el caso de aumento del H₂, el CO₂ será purgado y parte de la muestra se perderá en forma de gotas de líquido.

Las digestiones que impliquen llevar una muestra a sequedad no se pueden hacer en recipientes de polímero. Sin embargo, la formación de cenizas a altas temperaturas, la digestión y la fusión, así como llevar las muestras a sequedad, se pueden realizar en hornos microondas con el empleo de dispositivos especiales hechos de materiales que se calientan rápidamente con la energía de las microondas, como el SiC y los ferritos.



Recipientes de digestión por microondas.

Por cortesía de CEM Corp.

Estos dispositivos permiten un aumento del ritmo de calentamiento, y mejoran el control de la temperatura, en comparación con los métodos de calentamiento convencionales de alta temperatura, como por llama u hornos eléctricos de mufla. En este caso, los microondas no calientan la muestra directamente. El calor se transfiere por conducción térmica de los dispositivos a las muestras de los recipientes.

Los hornos microondas también pueden usarse siempre que sea útil un calentamiento rápido. Ejemplos: secado rápido de muestras de madera y suelo, concentración rápida de la muestra (siempre que el analito no sea volátil), y calentamiento de muestras durante el análisis de la inyección de flujo (haciendo pasar la trayectoria del flujo a través del horno microondas).

El análisis de la inyección de flujo se estudia en la Sección 4E.

4C. Una observación más atenta: Extracción de fluidos supercríticos

Pero ¿qué es un fluido supercrítico? Tiene propiedades tanto de líquido como de gas. Supongamos que tenemos un recipiente cerrado con CO_2 líquido, y el espacio que queda por arriba se llena con CO_2 en estado gaseoso. Ahora aumentemos la temperatura y la presión del recipiente. El aumento de temperatura hace que el líquido se expanda y se haga menos denso. Mientras tanto, el gas se hace más denso al aumentar la presión. Si la presión y la temperatura se elevan en la forma adecuada, hasta un punto denominado **punto crítico**, la densidad de los estados líquido y gaseoso se iguala. En ese punto, la distinción entre el gas y el líquido se desvanece, la interfase entre los dos desaparece y sólo queda una sola fase *supercrítica*. El punto crítico, donde el gas y el líquido son indistinguibles, tiene lugar a una temperatura específica denominada **temperatura crítica**, T_c , y a una presión específica llamada **presión crítica**, P_c . La fase supercrítica no es ni un gas ni un líquido, por lo que se denomina simplemente fluido. Los valores T_c y P_c son característicos del compuesto, y algunos valores de sustancias que son útiles para la extracción de fluido supercrítico se recogen en la Tabla 4C.1. El fluido supercrítico que se usa normalmente es el CO_2 , que es fundamentalmente un disolvente no polar. Cuando se tienen que extraer más moléculas polares se puede añadir un pequeño porcentaje de **modificadores**, como el metanol y el etanol, para hacer un fluido mixto.

A temperaturas y presiones más altas que T_c y P_c , todavía hay sólo una sola fase, y sus propiedades químicas y de fluido cambian relativamente rápido con P y T . La

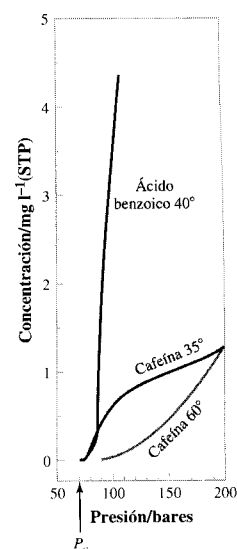


FIGURA 4C.1 ▲ **Cómo depende la solubilidad de los analitos en CO_2 supercrítico con la presión y la temperatura.**

Se ilustra aquí la solubilidad de la cafeína pura a dos temperaturas, 35 y 60 °C, y del ácido benzoico puro a 40 °C. Los valores de la solubilidad de estas sustancias puras no serán los mismos que cuando fueron desorbidos de la matriz, pero la tendencia será la misma. [Información de: Stahl, E., Schilz, W. 1979. «Mikroanalytische Untersuchungen zur Löslichkeit von Naturstoffen in Überkritischem Kohlendioxid.» *Talanta* 26:675-679.]

Tabla 4C.1. Temperaturas críticas y presiones críticas de fluidos supercríticos útiles

	T_c (°C)	P_c (atm)
CO_2	31,3	72,9
N_2O	36,5	72,5
SF_6	45,5	37,1
NH_3	132,5	112,5
H_2O	374	227
<i>n</i> -butano	152	37,5
<i>n</i> -pentano	197	33,3
Xe	16,6	58,4
CCl_2F_2	112	40,7
CHF_3	25,9	46,9

La caja negra del GC se abre en el Capítulo 15.

Figura 4C ilustra la facilidad con que cambia la solubilidad de dos compuestos representativos, la cafeína y el ácido benzoico.

La regla general para la solubilización con fluidos supercríticos es que la cantidad de la sustancia disuelta en equilibrio aumenta con la densidad del fluido supercrítico (cambiado al aumentar la presión a una temperatura constante), y con el aumento de temperatura a una densidad constante. La facilidad del cambio en la solubilidad tiene la ventaja de hacer que la extracción supercrítica esté «bien ajustada», para disolver algunas especies moleculares mejor que otras. Esto implica que la selectividad mejora al cambiar la temperatura y la presión.

Los compuestos eliminados de la matriz por extracción en fluido supercrítico pueden recuperarse de cuatro maneras diferentes. Todas ellas se llevan a cabo después de bajar la presión, lo que hace más baja la densidad del fluido:

- a. Bajar la presión del fluido solo en un recipiente de colección.
- b. Atrapar a baja temperatura.
- c. Atrapar sobre un adsorbente (ver purga y trampa, Sección 4D) seguido de una elución, o
- d. Atrapar mediante burbujeo a través de un disolvente líquido.

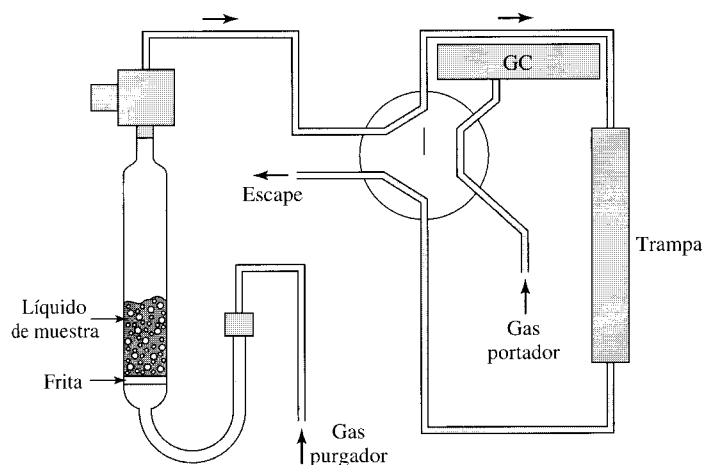
Los métodos c y d son los usados con más frecuencia, porque es difícil recuperar los solutos de forma reproducible o en buen estado en una superficie, ya que el flujo de gas retorna muy rápido después de aflojar la presión. Por ejemplo, el CO_2 supercrítico se dilata unas 500 veces su tamaño inicial, para formar el gas a una atmósfera: esto es, 1 mL min^{-1} de CO_2 supercrítico se convierte en 500 mL min^{-1} de gas. En los métodos a y b es probable que los analitos volátiles se pierdan. A pesar de todo, las especies no volátiles pueden recuperarse por cualquiera de las cuatro técnicas siempre que el flujo de gas no arrastre las partículas de analito fuera del recipiente receptor.

De los compuestos recogidos en la Tabla 4C.1, el CO_2 es el que más se usa, porque tiene una temperatura crítica adecuada, no es ni inflamable ni tóxico y es barato.

4D. Una descripción más detallada: purga y trampa

La purga y trampa es un método para eliminar y concentrar pequeñas cantidades de compuestos orgánicos en muestras de agua. Si hay que transportar y almacenar las muestras antes del análisis normalmente es necesario mantenerlas en frío para evitar toda pérdida de componentes volátiles. En la Figura 4D.1 se muestra una configuración del equipo para purgar y atrapar analitos volátiles. La técnica consiste en hacer pasar un gas, como helio, a través de una disolución que contenga compuestos orgánicos volátiles en bajas concentraciones. El helio, al burbujear en la solución se lleva consigo los compuestos orgánicos. Se dice que el gas, que se denomina **gas portador**, purga la solución. Después de pasar por la disolución, el gas, que ahora contiene los compuestos orgánicos purgados, es dirigido a un tubo que tiene un material sólido con una gran área superficial para su volumen. La superficie adsorbe los productos orgánicos purgados. Los materiales sólidos del tubo que se usan normalmente son carbón vegetal, gel de sílice y Tenax™. (Tenax™ es un polímero poroso basado en el óxido 1,6-difelino-*p*-fenileno.)

Después de un tiempo determinado por pruebas previas (del orden de minutos) se corta el flujo de gas. Ahora, una parte del total de cada volátil orgánico se ha transportado a la trampa, y se ha concentrado allí. Entonces se calienta la trampa con la rapidez necesaria y los volátiles orgánicos son expulsados hacia el instrumento que se está usando en el análisis. (La unión de los analitos a la superficie de la trampa tiene que



◀ FIGURA 4D.1

Diseño de un aparato de purga y trampa.

La muestra líquida se añade al sistema de purga por arriba, mientras fluye el gas de purga. Una fritilla es una cerámica fina y porosa, que permite a los gases atravesarla fácilmente. El gas de purga lleva los componentes volátiles desde la muestra de ~ 5 mL a la trampa pasados unos cuantos minutos. La válvula de seis vías se gira entonces 60° en el sentido contrario a las agujas del reloj. Esta rotación conecta la disolución purgada con el escape, y el gas portador atraviesa entonces la trampa, y el interruptor otra vez, hasta el cromatógrafo de gases (GC).

ser lo suficientemente débil como para que los compuestos orgánicos purgados se vaporicen de esta forma.) Normalmente el instrumento es un cromatógrafo de gases, que por ahora es otra «caja negra».

La recuperación de los compuestos orgánicos no es total y puede variar de unos a otros. Algunos factores que afectan a la recuperación son las concentraciones de analitos y la identidad y cantidades de otras sustancias de la matriz. El gráfico de la Figura 4D.2 muestra cómo las propiedades de la purga y la trampa afectan a las recuperaciones. Allí se puede ver que la recuperación final depende del tiempo. Debería quedar claro que, para una mezcla dada, el desarrollo y validación de un análisis usando la purga y trampa requerirá establecer la recuperación del proceso mediante el empleo del patrón interno: por lo menos uno por cada tipo de productos orgánicos, como los hidrocarburos simples, los poliaromáticos, los alcoholes, etc.

Un punto importante que hay que entender es que la trampa tiene una cantidad fija de área superficial. El área superficial tiene una **capacidad** limitada; sólo puede retener una cantidad determinada de sustancia. El hecho de que una cantidad de analitos pasen a través de la trampa y se pierdan se denomina **capacidad de saturación del sustrato**. Se puede decir que hay saturación cuando una fracción de la masa de producto se pierde, o también cuando el cociente entre la concentración inicial y la concentración final alcanza un nivel específico. En los dos casos el volumen del gas portador que ha pasado a través de la trampa cuando la definida ruptura tiene lugar se denomina **volumen de ruptura**. Esta nomenclatura también se usa en cromatografía.

Un requisito para cuando se separan los componentes atrapados es que todos ellos deben separarse de la superficie colectora (**desorberse**) al mismo tiempo, lo más rápido posible y cuantitativamente. La Figura 4D.3 ilustra el efecto del ritmo del calentamiento en este proceso.

El uso de adsorbentes sólidos a temperatura ambiente (aproximadamente) es la técnica de purga y trampa más utilizada. En algunos casos, sin embargo, la trampa es un tubo mantenido a baja temperatura, como la del hielo seco o la del nitrógeno líquido. Esto se denomina **trampa fría**. La trampa fría permite pasar al gas portador, pero retiene más fácilmente los compuestos orgánicos condensados (o congelados). Como la muestra se purga pasados unos minutos, se atrapa en una superficie fría y se desorbe después de un corto período de tiempo (unos pocos segundos), a este método y otros similares se los denomina **criocentrados** («cryo» significa *frío*).

La caja negra del GC se abre en el Capítulo 15.

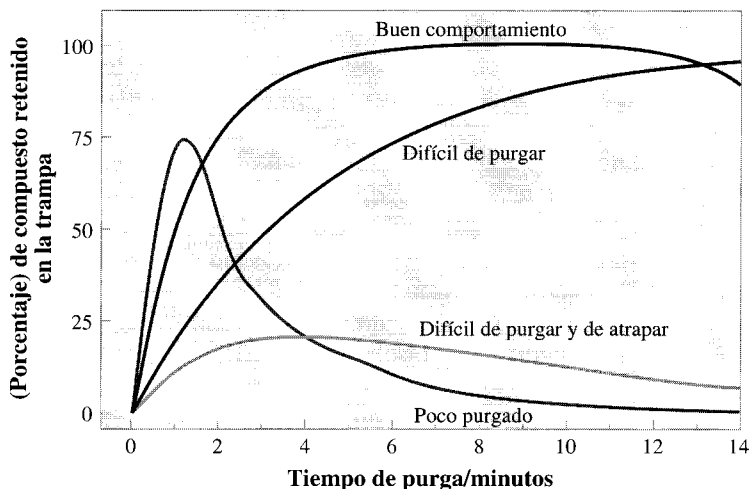


FIGURA 4D.2 ▲
Gráfico del comportamiento general de los elementos volátiles y purgados de una mezcla.

Los componentes se clasifican en fáciles o difíciles de purgar y fáciles o difíciles de atrapar. Si un componente es fácil de purgar llega rápido; los que son difíciles de purgar tardan en llegar. Los componentes que se han atrapado fácilmente permanecen en la trampa varios minutos, mientras que los poco atrapados se deslizan y se pierden. Así, se esperan cuatro tipos de comportamiento. Si los componentes se desorben de la trampa al 100%, esta gráfica indica la recuperación *versus* el perfil de tiempo para cada una de las cuatro clases generales de compuestos.

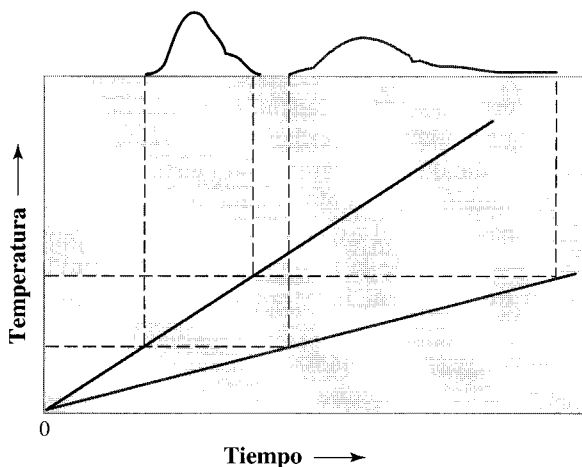


FIGURA 4D.3 ▲
Variación de las propiedades de desorción con una elevada velocidad de calentamiento.

Se ilustra la concentración hipotética *versus* el tiempo de desorción de los componentes. El tiempo cero es el tiempo de inicio del calentamiento. Una elevación paulatina de la temperatura hace que los compuestos se empiecen a soltar más tarde y se desorben después de un mayor período de tiempo. Las curvas del perfil indican una sustancia específica que tiene una concentración más alta que las otras liberadas hacia la misma temperatura. Una elevación más rápida de la temperatura hace que la desorción se produzca antes y en un intervalo de tiempo más corto. En general es preferible una desorción más rápida.

4E. Profundizando: análisis por inyección en flujo

Como la preparación de la muestra es un proceso tan laborioso se pone mucho esfuerzo en automatizar el mismo. Para las técnicas que necesiten o puedan utilizar disoluciones líquidas, una vez que la muestra está en forma líquida los últimos pasos requieren con frecuencia añadir reactivos, esperar a que se produzcan reacciones y calentar o enfriar la disolución. Estos procesos son particularmente fáciles de automatizar. Una forma de automatizar estos pasos es bombear una disolución de la muestra a través de una red de tubos y añadir automáticamente reactivos según se mueve por la red hacia una sección de ensayo. El tiempo se puede regular variando la longitud de los tubos, la velocidad y la dirección del flujo. Las temperaturas se pueden cambiar calentando o enfriando secciones individuales de los tubos por los que pase la muestra. La clase general de métodos que incluye esta forma de preparación automática de la muestra antes del análisis se denomina, con lógica, **análisis por inyección en flujo** (FIA). Sin embargo, los aparatos para el análisis por inyección en flujo entran dentro de la clase de instrumentos denominados analizadores automáticos. Quizá fuera más correcto, dado que los procedimientos de muestreo y digestión suelen realizarse primero, y muy frecuentemente de forma manual, que esta clase se denominara analizadores/preparadores automáticos de disolución-muestra.

En el analizador simple de inyección en flujo ilustrado en la Figura 4E.1a, el cuadro de la P representa la bomba que impulsa el fluido portador y la disolución reactiva. Se inyecta la muestra mediante un inyector que está en el fluido portador, y más tarde

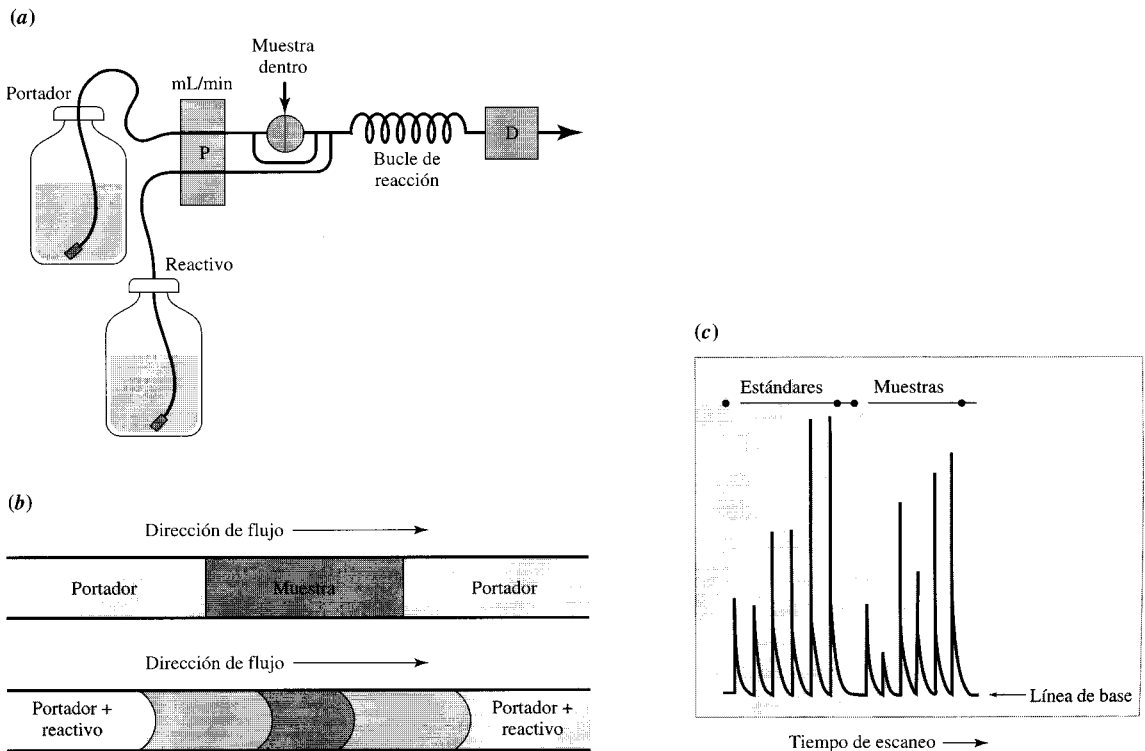


FIGURA 4E.1 ▲
Principios del análisis de inyección de flujo.

(a) Una representación de un analizador simple de inyección de flujo; (b) flujo de muestra en tubos que contienen un segmento (bolo) de muestra; (c) respuesta típica frente al tiempo de una serie de muestras y estándares.

la corriente del reactivo se les une. En esta disposición, el reactivo que se va a mezclar con la muestra se bombea por un tubo separado para mezclarse con el portador en el punto convergente, y luego con la muestra después de su inyección. Se deja que el reactivo y la muestra se mezclen bien y reaccionen en el bucle. El líquido de la muestra, una vez ha reaccionado con el reactivo, pasa por el detector —con la letra D—, y luego se va fuera del aparato. Las corrientes del portador y del reactivo están fluyendo cuando se añade la muestra.

Como se ilustra en 4E.1b, la porción de muestra comienza a fluir como un segmento o bolo entre sectores de portador. Al fluir se entremezcla con el reactivo, y comienza la reacción deseada, como se ve en el tubo inferior. En algunos instrumentos se evita la mezcla del bolo de muestra con el reactivo situando una burbuja de gas delante y detrás de la muestra; a este método alternativo se lo conoce como **flujo segmentado**.

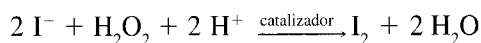
El resultado de una serie de muestras y estándares será normalmente similar al que aparece en la Figura 4E.1c. Tanto la altura de pico como las áreas de pico pueden usarse para cuantificar cada uno, aunque para el FIA la altura de pico suele ser una medida suficientemente precisa. Nótese que la forma de los picos no es cuadrada —con una subida brusca, una meseta llana arriba, y una caída repentina hasta la línea de base—, como podría esperarse si la muestra pasara por el tubo con la misma forma de tapón compacto que se ve en la Figura 4E.1b. En realidad, los picos se elevan y caen más despacio por dos efectos. En primer lugar, el fluido del centro del tubo viaja más rápido que por el borde exterior (como se ve en la Figura 4E.1b), y, en segundo lugar, la sustancia inyectada se difunde de regiones de concentración más alta a regiones de concentración más baja. Estos dos efectos siempre ensanchan la región de la muestra y alargan el tiempo que tarda en pasar por el detector. En otras palabras, la muestra siempre se diluye.

La mezcla de reactivos y analitos en los tubos se produce por dos motivos. Uno se ilustra en la Figura 4E.1b: la penetración de las mitades de los sectores en las secciones adyacentes del flujo de la corriente. Una contribución adicional a la mezcla se debe a la curvatura de los tubos. El camino más corto a lo largo del borde interior de una curva, enfrentado con el exterior, origina remolinos mezcladores a lo largo de los tubos. Por esto se utiliza un tubo serpentín o un canal sinuoso en las líneas de mezcla del FIA. Algunos analistas acentúan estas revueltas haciendo nudos en el bucle de reacción, lo que produce virajes todavía más cerrados.

La Figura 4E.1a es simplemente una representación del inyector de muestra. Uno de los inyectores más comunes es el inyector de seis vías, que puede introducir una porción de líquido en el flujo de una corriente sin interrumpirla. La Figura 4E.2 muestra algunos detalles de su forma de operar.

La Figura 4E.3 recoge otro modo de usarlo. En este caso el flujo de líquido es ocasionado por el vacío producido al final del instrumento. El analito se añade por inyección de flujo controlado a diferentes velocidades. Ajustando las velocidades de flujo del analito se puede obtener un conjunto de calibraciones con una única disolución estándar.

La Figura 4E.4 de la página 130 muestra un diagrama de un proceso mucho más complicado de FIA que se emplea para analizar niveles de traza de molibdeno en muestras de plantas agrícolas. La base química del análisis es la conversión de yoduro a yodo por peróxido de hidrógeno. El molibdeno actúa de catalizador en la reacción:



La cantidad de yodo producido depende de la concentración de molibdeno (el catalizador). En el análisis se mide la intensidad del color del yodo en un momento prefijado, después de que haya comenzado la oxidación catalizada.

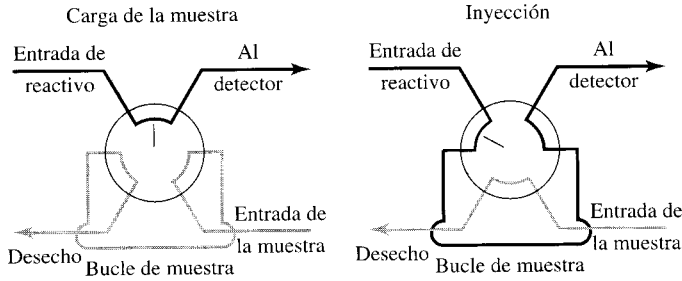


FIGURA 4E.2 ▲
Cómo actúa una válvula de seis vías cuando se inyecta un volumen predeterminado de muestra en el flujo de portador.

La válvula conecta grupos de dos vías. La muestra se carga cuando la válvula está en la posición de la derecha. Se deja pasar por el bucle muestra suficiente para lavar la sustancia contenida anteriormente y asegurarse de que la composición de la disolución que hay dentro del bucle es la misma que la muestra. Se inyecta la muestra en el recorrido de la reacción girando 60° la válvula de modo que las conexiones queden como las de la derecha. Para muestras de 10 μL la desviación estándar relativa del contenido inyectado es generalmente menor del 0,5% en una serie de inyecciones. Las válvulas controladas electrónicamente son todavía más reproducibles.

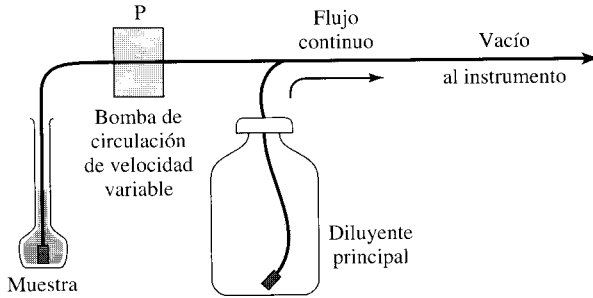


FIGURA 4E.3 ▲
Diagrama de la estructura general de un sistema de inyección en flujo donde el portador es arrastrado por el tubo mediante vacío parcial, y la muestra se dosifica en la línea mediante una bomba.

Variando la velocidad de la bomba se pueden ejecutar una serie de estándares desde una sola disolución.

4F. Profundizando: Sustancias estándares de referencia

Lo que sigue se ha extraído de un catálogo de lo que es ahora el U.S. National Institute of Standards and Technology (NIST). Describe diferentes tipos de sustancias de referencia. NBS es la abreviatura del Instituto cuando se llamaba la U.S. National Bureau of Standards [Ref.: NBS Special Publication 260. NBS Standard Reference Materials Catalogs, U.S. Dept. of Commerce, 1981.]

La Oficina Nacional de Estándares facilita información sobre más de 1000 sustancias diferentes, a través de su Programa de Sustancias de Referencia Estándar. Estos materiales son principalmente Materiales Estándar de Referencia (MER), cuya composición química, propiedades químicas o propiedades físicas se certifican, pero también se incluyen Materiales de Investigación (MI) y Sustancias Especiales de Referencia (SER). Todos los MER, MI y SER tienen nombres y números distintivos por los que quedan identificados permanentemente. Así, cada MER, MI o SER que tenga una des-

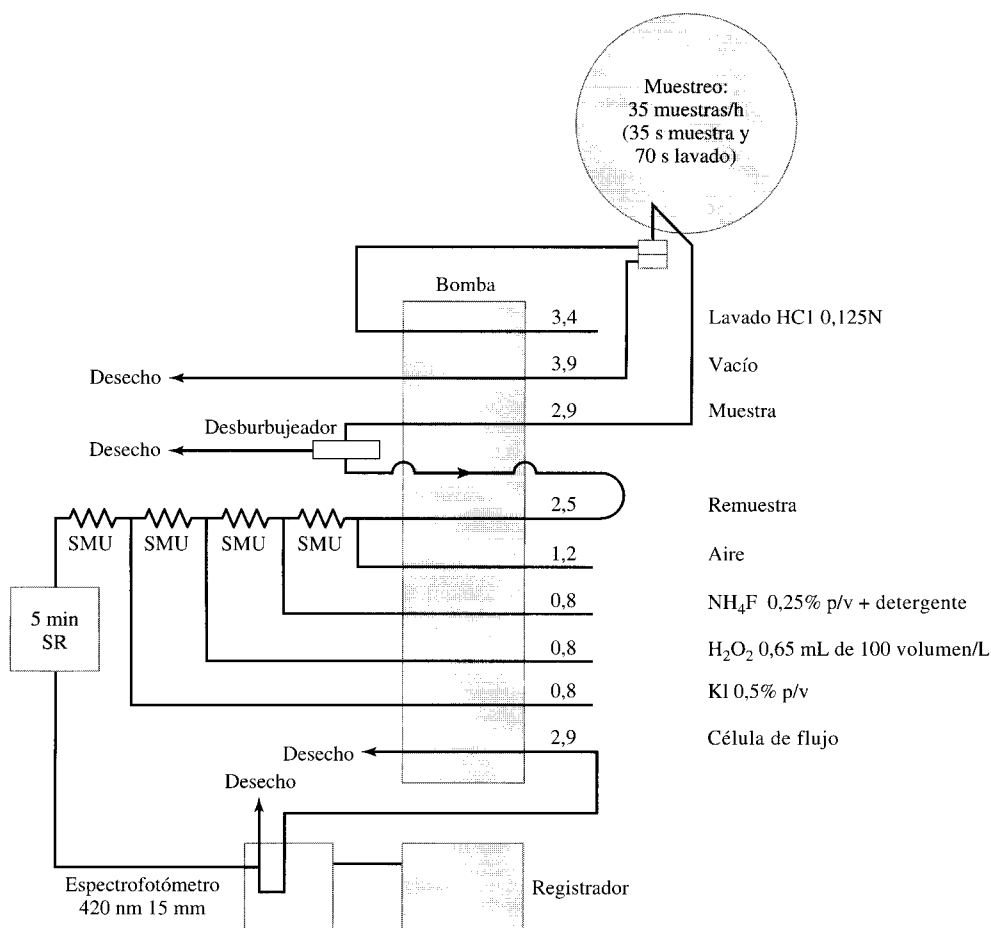


FIGURA 4E.4 ▲
Diagrama esquemático del analizador de inyección de flujo configurado para determinar el contenido de molibdeno por oxidación catalítica de yoduro.

La bomba impulsa nueve corrientes diferentes simultáneamente; cada una suministra la sustancia anotada a la derecha. Los números que hay sobre las líneas indican la velocidad de bombeo en cada línea en mL min^{-1} . Un desburbujador elimina las burbujas de gas que puedan haberse introducido en la línea hasta ese punto. Aquí, los serpentines de mezcla única (SMU) se representan con una línea en zigzag, que es otro símbolo usado para los serpentines en el FIA. Al igual que en la Figura 4E.1, los serpentines permiten que cada reactivo se mezcle bien, antes de añadir el próximo. La muestra tarda 5 min en pasar por el serpentín retardador (SR). Éste es el tiempo prefijado para que la oxidación del yoduro tenga lugar (el último reactivo añadido). Los números asociados al espectrofotómetro (véase Capítulo 8) son la longitud de onda de luz y la longitud del líquido que la luz atraviesa. Nótese que sólo se dirige parte del volumen total hacia el espectrofotómetro.

En una de las secuencias se añade fluoruro a la solución, para disminuir la interferencia proveniente del hierro. Los iones de hierro también catalizan la reacción del análisis, y así provocan interferencias en el análisis de molibdeno. El fluoruro añadido compleja fuertemente el hierro (pero no el molibdeno), y el complejo de hierro formado no es activo en la reacción. [Ref.: Quin, B.F., Woods, P. H. 1979. *Analyst* 104:552-559.]

cripción dada es idéntico (con los límites requeridos o pretendidos) a cualquier otra muestra que lleve la misma designación, con la excepción de artículos identificados individualmente, que se especifican entonces por su número de serie.

Los primeros materiales sobre los cuales emitió información la NBS se denominaron Muestras Estándar y eran grupos de metales, hierros y aceros, certificados en su composición química. Desde mediados de 1960 esos materiales han sido publicados como Materiales Estándar de Referencia y cubren una amplia gama de propiedades químicas y físicas, así como una gama igualmente amplia de intereses de medición.

Definiciones

Los diferentes términos MER, MI o SER se emplean para indicar diferencias en los tipos de información suministrada y en las finalidades de los materiales.

La Oficina Nacional de Estándares ha caracterizado los *Materiales Estándar de Referencia* por alguna propiedad química o física, y se publican con un Certificado que recoge los resultados de la caracterización. Estos resultados se obtienen por alguna de las tres vías de certificación, esto es, medir la propiedad mediante: (1) un método de referencia previamente validado, (2) dos o más métodos independientes y seguros, (3) una red *ad hoc* de laboratorios en cooperación, técnicamente competentes y muy entendidos en el material examinado. Estas vías se describen pormenorizadamente en «El papel de los Materiales Estándar de Referencia en los sistemas de medición», monográfica 148 de la NBS, 54 páginas (ene., 1975). Los MER se definen como materiales bien caracterizados y certificados, producidos en cantidad para mejorar la ciencia de la medición. Se preparan y emplean para tres objetivos principales: para ayudar al desarrollo de métodos exactos de medición (métodos de referencia); para calibrar sistemas de medición usados para: (a) facilitar el intercambio de bienes, (b) establecer un control de calidad, (c) definir características de actuación, o (d) medir alguna propiedad con los adelantos más recientes; para asegurar la adecuación e integridad a largo plazo de los procesos de calidad y control. Por estas vías el MER ayuda a asegurar la compatibilidad y exactitud de las mediciones en muchas facetas de la vida nacional, desde la ciencia y la tecnología hasta la industria y el comercio.

Los *Materiales de Investigación*, a diferencia de los MER, no se certifican. En lugar de con Certificado, los MI se publican con un «Informe de Investigación», cuya única autoridad es el miembro de la NBS que autorizó el informe. El objetivo de un MI es en primer lugar potenciar la investigación técnica en ese material específico. La preocupación principal a la hora de publicar un MI es proporcionar un material homogéneo, de manera que los investigadores de diferentes laboratorios estén seguros de investigar el mismo material.

Las *Sustancias Especiales de Referencia* difieren de los MER y de los MI en que la NBS no toma parte en la caracterización de esos materiales. Los MI son materiales de referencia producidos y certificados o garantizados por otros organismos gubernamentales, cuerpos estándar u otras organizaciones sin ánimo de lucro. Cuando se consideran de interés público y no existen otros métodos alternativos de distribución nacional, la NBS se encarga de distribuir dichos materiales. Este servicio está a disposición de cualquier organización que califique y tenga materiales de referencia que puedan ayudar a resolver un problema nacional de medición.

Bibliografía

ALFASSI, Z. B., WAI, C. M., eds. 1992. *Preconcentration Techniques for Trace Elements*. Boca Raton, FL, CRC Press.

Este libro contiene capítulos sobre métodos habituales de preconcentración para análisis elementales y orgánicos. Buena fuente de literatura de referencia para problemas específicos.

Una referencia útil.

BAJO, S. 1992. En *Preconcentration Techniques*, Z. B. Alfassi y C. M. Wai, eds. Boca Raton, FL, CRC Press.

Un buen capítulo sobre la química de la preparación convencional de muestras para análisis elemental.

COLEMAN, P. B. ed. 1991. *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*. Boca Raton, FL, CRC Press.

Este libro es un popurrí de capítulos generales llenos de consejos útiles sobre preparación de muestras para espectrometría infrarroja y cualquier ajuste necesario que dependa de la naturaleza de la muestra y del instrumento. Otros capítulos son

fundamentalmente notas específicas sobre determinados tipos de espectrometría infrarroja. Muy aconsejable si está pensando emplear la espectrometría infrarroja.

ANDERSON, R. 1997. *Sample Pretreatment and Separation*. Chichester, RU, Wiley.

Este texto presenta técnicas clásicas de preparación de muestras para una gama limitada de materiales, haciendo énfasis en las reacciones que tienen lugar.

STOEPLER, M. 1997. *Sampling and Sampling Preparation: Practical Guide for Analytical Chemists*. Berlin, Springer.

Una guía muy práctica. Si el tipo de muestras con las que se trabaja están incluidas, léase el capítulo correspondiente; probablemente ahorrará tiempo, al reducir posibles errores.

KINGSTON, H. M., HASWELL, S. J. 1997. *Microwave-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications*. Washington D.C., American Chemical Society.

Explicación actualizada de las aplicaciones del calentamiento por microondas para reacciones y digestiones.

KINGSTON, H. M., JASSIE, L. B., eds. 1986. *Introduction to Microwave Sample Preparation*. Washington, D.C., American Chemical Society.

Un tratamiento amplio de los métodos de digestión por microondas, y una buena introducción a la literatura del tiempo de su publicación. El capítulo 3 de S. A. Matthes es un buen punto de partida para la práctica de la disolución por microondas de sólidos. Las digestiones por microondas Kjeldahl también se estudian con detalle.

MIZUIKE, A. 1983. *Enrichment Techniques for Inorganic Trace Analysis*. Berlin, Springer-Verlag.

Un libro sobre el tema sumamente útil, con una amplia gama de técnicas. Se incluyen figuras de los aparatos, referencias a la literatura y un gran número de tablas útiles para utilizar los conocimientos sobre este campo anteriores a 1982.

STOCKWELL, P. B. *Automatic Chemical Analysis*. London, Taylor & Francis.

Descripciones bastante lacónicas de numerosos sistemas analíticos automatizados, para diversas aplicaciones.

DE CASTRO, M. D. L., TENA, M. T. 1995. «Hyphenated Flow Injection Systems and High Discrimination Instruments.» *Talanta* 42, 151-169.

Una revisión de los análisis de inyección de flujo y de cómo pueden reducir el tamaño de la muestra y el consumo de reactivo cuando se emplean para introducir la muestra en emisión atómica, infrarrojos, resonancia magnética nuclear y espectrometrías de masa. Una útil introducción a la literatura de una serie de métodos «hifenados», comenzando por el FIA.

KARLBERG, B., PACEY, G. E. 1989. *Flow Injection Analysis, A Practical Guide*. Amsterdam, Elsevier.

La mitad del libro se dedica a los fundamentos del FIA y proporciona consejos útiles para iniciar un sistema de FIA, y la otra mitad a las aplicaciones y a la extensa bibliografía.

SARZINI, C., MENTASTI, E. 1991. «Metal Ion Preconcentration techniques with Particular Regard to Wastewaters and Seawater.» *Annali di Chimica* 81, 185-232.

Una revisión extremadamente útil, con un gran número de referencias bibliográficas que proporciona una buena introducción a la literatura de las técnicas de preconcentración.

MARK, H. 1991. *Principles and Practice of Spectrometry Calibration*. New York, Wiley.

Un estudio completo con las estadísticas de los métodos de calibración y matriz para análisis multicomponente. La sección

sobre las dificultades de la calibración revela mucha experiencia.

SEKULIC, S., SEASHOLTZ, M. B., KOWALSKI, B. R., LEE, S. E., HOLT, B. R. 1993. «Nonlinear Multivariate Calibration Methods in Analytical Chemistry.» *Anal. Chem.* 65, 835A-845A.

Un artículo difícil, lleno de términos científicos, que, a pesar de todo, supone una introducción a publicaciones recientes sobre calibración no lineal en química analítica.

BEUKELMAN, T. E., LORD, S. S., JR. 1960. *Appl. Spec.* 14, 12-17. Una exposición clara de las características de la calibración no lineal.

WENCLAWIAK, B., ed. 1992. *Analysis with Supercritical Fluids: Extraction and Chromatography*. Berlin, Springer-Verlag.

Con todos los detalles prácticos para saber cómo proceder al efectuar en la práctica la EFS, después de comprender las propiedades de los fluidos supercríticos descritas aquí. El Capítulo 2 tiene una estupenda descripción fisicoquímica de los fluidos supercríticos. Algunos textos requieren conocimientos previos en física-química, otros estarán claros después de leer este capítulo.

WESTWOOD, S. A. 1993. *Supercritical Fluid Extraction and its Use in Chromatographic Sample Preparation*. Boca Raton, FL, CRC Press.

Un libro con mucho de lo que se desea leer sobre el tema del título.

CHALMERS, R. A. 1975. En *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol. 3. G. Svehla, ed. Amsterdam, Elsevier, Chap. 2.

Una antigua guía de estándares para todos los aspectos del análisis; contiene referencias.

BOGEN, D. C. 1982. En *Treatise on Analytical Chemistry*, Pt. I, Vol. 5, 2nd ed. I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds. New York, Wiley-Interscience. Secc. F, Chap. 2.

Capítulo sobre los métodos de preparación de la muestra para la determinación de compuestos inorgánicos.

DUNLOP, E. C., GINNARD, C. R. 1982. En *Treatise on Analytical Chemistry*, Pt. I, Vol. 5, 2nd ed. I. M. Kolthoff y P. J. Elving, eds. New York, Wiley-Interscience. Secc. F, Chap. 2.

Capítulo sobre métodos de preparación de la muestra por vía seca y húmeda para análisis de orgánicos compuestos orgánicamente. SULCEK, Z., DOLEZAL, P. P. J. 1977. «Decomposition Procedures in Inorganic Analysis.» *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 6, 255-323.

URIANO, G. A., GRAVATT, C. C. 1977. «The Role of Reference Materials and Reference Methods in Chemical Analysis.» *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 6, 361-411.

Dos artículos de revista en que autores expertos estudian críticamente los métodos del título.

ÁLVAREZ, R., RASBERRY, S. D., URIANO, G. A. 1982. «NBS Standard Reference Materials: Update 1982.» *Anal. Chem.* 54, 1225A-1244A.

TAYLOR, J. K., OPPERMAN, H. V. 1985. *Handbook for the Quality Assurance of Metrological Measurements*. Gaithersburg, MD, U.S. National Bureau of Standards.

Artículo corto que describe el programa de materiales de referencia de la Oficina Nacional de Estándares de los E.U. (ahora NIST), y el uso de tales estándares.

OBENAUF, R. H. et al., eds. 1994. *SPEX Handbook of Sample Preparation and Handling*. Metuchen, NJ, SPEX Corp. eds. 1994.

En su mayor parte es un catálogo, pero contiene información útil y práctica sobre las técnicas de preparación de muestras para sólidos y los recipientes en que son preparadas.

Revisión de conceptos

1. ¿Qué cinco consideraciones generales deben tenerse en cuenta cuando se elabora un protocolo para la preparación de una muestra?
2. ¿Qué diferencia hay entre un método que es «específico» para calmodulin y uno que sea «selectivo» para calmodulin?
3. Cuando una simple digestión calentando la muestra con un ácido o una base en un extractor no disuelve la cantidad de muestra necesaria para el análisis, una digestión a reflujo o digestión por microondas en recipiente cerrado puede solventar el problema. ¿Cuáles son las ventajas de cada una de estas técnicas sobre la simple digestión ácida?
4. ¿En qué se diferencia un estándar externo de un estándar añadido?
5. ¿En qué tres situaciones se puede usar un estándar añadido?

Ejercicios

Los tres primeros ejercicios se refieren a los datos de las Tablas 4.9, 4.10 y 4.11.

- 4.1. Con los valores de la tabla 4.10 calcúlese la desviación estándar media y el límite de confianza al 95% en la concentración de platino de la muestra.
- 4.2. ¿Cuál sería la concentración de platino si el instrumento diera como resultado 54,7 en la misma recta de calibrado?
- 4.3. Al revisar el cuaderno de laboratorio donde quedó registrado el experimento, se comprueba que los estándares se apuntaron incorrectamente. Los valores reales de la concentración de los estándares son un 32,43% más bajos que los anotados. Calcúlese la concentración correcta del platino encontrado en la muestra.
- 4.4. Suponemos que un método de preparación de muestra tiene una pérdida media del 25% (recuperación media del 75%). El ayudante está todavía ensayando las técnicas, y la incertidumbre *relativa* de la pérdida media de sustancia es $\pm 0,16$. ¿Cuál es la incertidumbre absoluta de la pérdida media?
- 4.5. Hacer los mismos cálculos del ejercicio 4.4 para una *recuperación* media del 98%.
- 4.6. Se desmenuza y diluye una pastilla en 50 mL de NaCl 0,1 M, quedando en suspensión. Después de filtrar para eliminar los sólidos insolubles, se traspasa la solución acuosa a un embudo de decantación. La adición de 1 mL de 0,1-M HCl transforma el elemento interferente que es eliminado en su forma ácida menos soluble. La forma ácida tiene un K_D para el equilibrio de extracción éter: agua de 7,5. ¿Cuántas porciones de 10 mL de éter se necesitan para asegurar que se elimina al menos el 99,5% del elemento interferente de la solución acuosa? (Recuérdese que el volumen de capa acuosa es de 50 + 1 ó 51 mL.)

- 4.7. Se hallaron los siguientes valores para las disoluciones estándar de paladio al emplear un instrumento de análisis similar al usado para el platino en el ejercicio 4.3.

Concentración de Pd en estándar (ppm)	Lectura del instrumento (unidades arbitrarias)
0	14,1
80	27,7
205	48,4
325	68,6

La lectura que hace el instrumento de una muestra con una concentración desconocida de Pd es de 56,0 unidades. Dibújese la curva de calibración y hállese la concentración de Pd en la muestra.

- 4.8. Este método implica deducir una expresión matemática para calcular la concentración de analito mediante el método de las adiciones estándar. El instrumento da una respuesta lineal con respecto a la concentración. Si la respuesta del instrumento es A_j , para las concentraciones C_j , entonces:

$$A_{\text{muestra}} = kC_{\text{muestra}}$$

donde k es el factor que relaciona la concentración con la respuesta del instrumento. De modo parecido, después de hacer una adición:

$$A_{\text{muestra} + \text{adición}} = k(C_{\text{muestra}} + C_{\text{adición}})$$

Empleando estas dos ecuaciones, despéjese C_{muestra} en función de $C_{\text{adición}}$, A_{muestra} y $A_{\text{muestra} + \text{adición}}$.

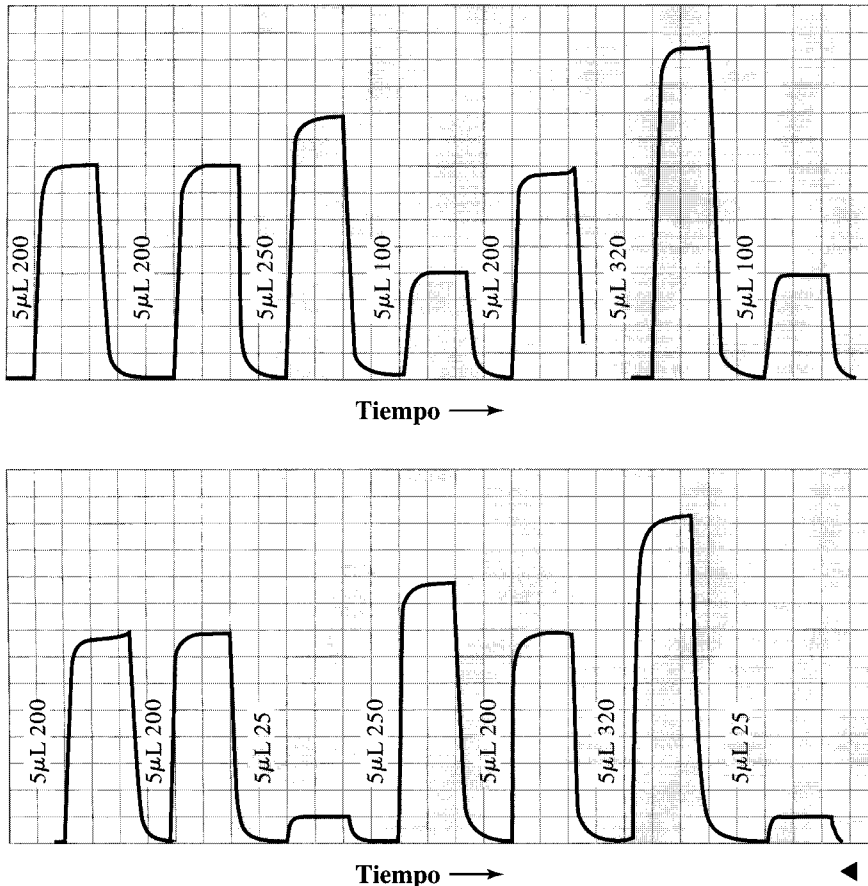
- 4.9. Este problema alude a la determinación de cobre descrita en la Sección 4.7. No se tomó en cuenta el efecto del volumen de 5 μL añadida a la muestra de 5,000 mL al calcular la

concentración de cobre. (No dar razón de este cambio de volumen introduce un error proporcional determinado despreciable.)

- (a) La concentración final de la adición no era exactamente 0,10 ppm; calcúlese la verdadera concentración debido al cambio de volumen. La manera más fácil de hacerlo es calcular una nueva pendiente y cortarla con las concentraciones corregidas.
 - (b) Se calcula que el error aleatorio es un 0,5%. ¿Cuál es la proporción de error relativo aleatorio y de error determinado relativo que deriva de no tener en cuenta el cambio de volumen?
- 4.10. La Figura 4.10.1 recoge gráficamente la información de una comprobación de linealidad de una membrana usada en un método electroquímico para determinar el alcohol directamente. Se está comprobando el lote de producto n.º 9208. Se representa el resultado del instrumento en el eje vertical, y el tiempo en el eje horizontal. El papel de la gráfica se mueve a 1 in. min^{-1} . El registro gráfico se ajusta de modo que cada una de las 14 divisiones represente 25 mV. La entrada del instrumento se regula para que $1 \text{ mV} = 1 \text{ mg dL}^{-1}$ para los $5 \mu\text{L}$ de inyección

de la muestra. Empieza a correr desde la derecha. El cero del instrumento se sitúa en la línea de base. Se inyecta una muestra de 200 mg dL^{-1} y se deja que el instrumento responda totalmente. La meseta se interpreta como el tiempo de lectura del instrumento. Se retira la muestra y se inyecta otra hasta terminar con toda la serie. En la gráfica se anotan los volúmenes y concentraciones de cada muestra. Contéstese a las siguientes preguntas. [Datos por cortesía de YSI, Inc., Yellow Springs, OH.]

- (a) En las muestras tercera y cuarta de 200 mg dL^{-1} se aprecia un pequeño salto en el voltaje de la meseta. ¿Cómo se tratan esos valores?
- (b) ¿Cuál es el significado (en mV) y la desviación estándar de las medidas de las seis muestras de 2000 mg dL^{-1} ?
- (c) ¿Es la respuesta lineal en todo el intervalo ($25\text{-}320 \text{ mg dL}^{-1}$) examinado?
- (d) Si el intervalo no es lineal, ¿en qué concentraciones se desvía en más de una vez la desviación estándar relativa (como se determinó en el punto b) de los valores esperados cuando se extrapola la porción lineal del trazado?



◀ FIGURA 4.10.1

4.11. Se determina la plata existente en agua residual por un método que implica hacer adiciones de la muestra. Se hace pasar seis veces una muestra que originariamente no tenía plata, con el siguiente protocolo: a cada muestra de 100,0 mL se le añade 200 μg de plata, y se mezclan. Se toma una alícuota de 5,00 mL. Se digiere y se obtienen los siguientes resultados [Ref.: Fu-sheng, W., Fang, Y. 1983. *Talanta* 30, 190]:

μg Ag hallados: 8,8; 9,2; 9,2; 9,1; 9,1; 8,9

- ¿Cuántos μg de Ag se podría esperar encontrar?
 - ¿Cuál es la recuperación media del método?
 - Si no se corrige la recuperación, ¿cuál es la desviación estándar relativa del análisis?
 - Después de corregir la recuperación, ¿cuál es la desviación estándar relativa del análisis?
 - Si el análisis de plata tiene una desviación estándar relativa del 0,1%, ¿cuál es la desviación estándar relativa debida a la recuperación?
 - Si el análisis para determinar la plata tiene una desviación estándar relativa del 0,5%, ¿cuál es la desviación estándar relativa del procedimiento de preparación de la muestra?
- 4.12. Los datos que siguen resultaron de determinar cromo en agua. El protocolo consistía en medir un blanco, la muestra, y luego la muestra con dos adiciones estándar. Se efectuaron tres análisis idénticos para cada muestra. Aunque no importa para el resultado, esto se hizo automáticamente, mediante un instrumento controlado por ordenador. Las respuestas a las adiciones significativamente diferentes fueron causadas por otros componentes de la matriz.

Solución	Conc. Cr (ng mL)	Lecturas del instrumento		
		#1	#2	#3
Blanco	0,000	0,005	0,009	0,005
Muestra 1	—	0,054	0,058	0,058
Adición 1	+2,000	0,179	0,191	0,188
Adición 2	+4,000	0,305	0,310	0,318
Blanco	0,000	0,000	0,000	0,000
Muestra 2	—	0,537	0,548	0,531
Adición 1	+2,000	0,666	0,659	0,667
Adición 2	+4,000	0,790	0,784	0,805
Blanco	0,000	0,001	0,003	0,000
Muestra 3	—	0,086	0,083	0,078
Adición 1	+2,000	0,214	0,213	0,212
Adición 2	+4,000	0,341	0,350	0,337

Calcúlense las concentraciones de Cr en las tres muestras, basándose en los valores medidos en cada muestra y en los valores proporcionales por la adición estándar. Corríjase el blanco si es necesario. [Ref.: Liddell, P. R. March 1983. *Am. Lab.* 15, 111].

4.13. Se analiza una muestra de 0,750 g de sirope de maíz para determinar la dextrosa con un instrumento que la mide específicamente mediante un análisis enzimático. Se diluye la muestra en un matraz volumétrico de 100,0 mL. Se inyecta un volumen de 25 μL en el instrumento, que proporciona una lectura de 373 mg dL^{-1} . El instrumento se había calibrado previamente con un estándar de 200 mg dL^{-1} . ¿Qué contenido de dextrosa, en % (p/p) tiene el jarabe? [Ref.: Nota de aplicación 101. Yellow Springs, OH, YSI, Inc.]

4.14. Se determinó el contenido de dextrosa en 1,596 g de muestra de un agente aromatizante mediante un análisis específico para este analito. El instrumento se calibró inyectando 25 μL de una disolución de 200 mg dL^{-1} . La muestra se diluyó a 50,0 mL en un matraz aforado y la inyección de una porción de 25 μL proporcionó una concentración de 46 mg dL^{-1} . ¿Cuál es el contenido de dextrosa en la muestra expresado en % (p/p). [Ref.: Nota de Aplicación 105. Yellow Springs, OH, YSI, Inc.]

4.15. Se desarrolla un método para determinar la concentración de oxígeno disuelto en agua. Se prueba el método, para evaluar las interferencias existentes. Se obtienen los siguientes datos, de soluciones que contenían todas 3,5 mg L^{-1} de oxígeno disuelto en agua. Cada resultado es el valor medio de entre dos y cuatro repeticiones. [Ref.: Datos reimpresos de Gilbert, W., Behymer, T. D., Casteneda, H. B. Marzo 1982. *Am. Lab.*]

Interferente potencial	Conc. elemento interferente (mg L^{-1})	Oxígeno medio encontrado (mg L^{-1})
Cromato (CrO_4^{2-})	0,1	3,4
	1,0	3,9
	10	6,4
Hipoclorito (OCl^-)	1,0	3,5
	10	4,9
	100	7,8
Tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)	1,0	3,4
	10	3,5
	100,0	3,4

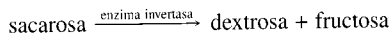
- ¿Cuál de los tres compuestos muestra una interferencia? ¿Es una interferencia positiva o negativa (eleva o disminuye el resultado)?
- Represéntese la variación del resultado cuando cambia por una posible interferencia. Esto es, hacer la gráfica de la concentración de O_2 versus la concentración del interferente. Calcúlese el mejor valor para un factor de corrección que debería sustituir a F_c en la ecuación:

$$[\text{O}_2]_{\text{real}} = [\text{O}_2]_{\text{aparente}} - F_c [\text{interferente}]$$

Hágase esto para cada elemento interferente, usando la concentración en mg L^{-1} .

- ¿Cuál es el valor de F_c para una especie que no interfiera?

- 4.16. La sacarosa, componente del azúcar de mesa, puede romperse mediante la acción de las enzimas para producir fructosa y dextrosa (también llamada glucosa). La reacción puede escribirse así:



El siguiente procedimiento se aplicó para determinar el contenido en sacarosa de patatas dulces. Se hace un jugo de 78,7 g de una muestra de patata dulce, y se introduce en un vaso de precipitados. Se lava tres veces la licuadora con porciones de 100 mL de tampón de fosfato sódico, dejando pasar de 2 a 3 minutos entre aclarados. Se pone el jugo junto con las aguas de lavado en un matraz volumétrico de 500 mL, y se enjuagan los recipientes con varias partes de 10 mL de tampón, que se añaden al matraz, y se enrasa hasta 500,0 mL. Luego se enfría la muestra durante 1 hora. Pasada la hora, se toma de la muestra una alícuota de 3 mL, y se le añade la enzima invertasa. La muestra no descompuesta por enzimas se analiza para determinar el contenido en dextrosa libre. El resultado fue de 208 mg dL⁻¹. Después de 20 min se analiza la muestra con invertasa, resultando tener 458 mg dL⁻¹ de dextrosa. En ambos casos se utiliza volumen de 25 μL para el análisis. [Ref.: Nota de aplicación 102. Yellow Springs, OH, YSI, Inc.]

- (a) ¿Cuántos miligramos de dextrosa se deben a la descomposición de la sacarosa en la patata dulce?
- (b) Dados los pesos moleculares de la dextrosa (180,16) y de la sacarosa (342,3), ¿qué porcentaje de sacarosa (p/p) hay en las patatas?
- 4.17. Se obtienen los siguientes resultados, con los procedimientos descritos en el Ejercicio 4.16 y una muestra de 1,596 g de agente aromático disuelto en 100 mL de tampón: dextrosa en la muestra sin tratar, 23 mg dL⁻¹; dextrosa en la muestra de sacarosa tratada con la enzima invertasa, 287 mg dL⁻¹.
- (a) ¿Qué cantidad de sacarosa hay en la muestra, expresada en % (p/p)?
- (b) ¿Qué masa total de sacarosa hay en 1000 kg de agente?
- 4.18. Se está validando un nuevo método instrumental para determinar la concentración de mercurio en agua, frente a uno ya establecido. El nuevo método consiste en reducir primero el mercurio iónico a su forma atómica, y luego eliminarlo de la disolución acuosa en forma de vapor de mercurio. El vapor de mercurio se purga del agua con aire, y se pasa a un instrumento especialmente diseñado para medir la concentración de Hg en aire. Se investigarán los posibles elementos interferentes. Los siguientes resultados se obtuvieron sobre disoluciones acuosas de Hg que contenía elementos interferentes. Las figuras entre paréntesis son los porcentajes según el peso de los reactivos. [Datos reimpresos de Murphy, P. J. 1979. *Anal. Chem.* 51, 1599.]
- (a) Supongamos que la precisión inherente al método de análisis es de ±5%, a este nivel de concentración. Para cada uno de los potenciales interferentes, y para el método establecido, ¿cuál es la naturaleza de la interferencia, positiva o negativa (que haga que el resultado sea demasiado alto o demasiado bajo, respectivamente)?

Elemento interferente	Hg medido (ng)		
	Hg añadido (ng)	Método antiguo	Método nuevo
Acetona (20%)	100	>1000	95
Sulfito de sodio (10%)	100	220	100
Tiosulfito de sodio (10%)	100	750	102
Piridina (5%)	100	>1000	91
Hidróxido de amonio (20%)	100	>1000	96

- (b) Para el nuevo método, ¿interfiere alguno de esos compuestos?
- (c) ¿Se puede decir, con la información proporcionada, si hay alguna interferencia en el nuevo método que derive de la fase de preparación de la muestra?
- 4.19. El Ministerio para la Protección del Medio Ambiente enumera una serie de agentes cancerígenos para los que es importante realizar un análisis fiable. Se denominan *materia orgánica policíclica*, o MOP y entre ellos se encuentran el benz(a)antraceno, el criseno, el benzo(b o k)fluoranteno, benzo(a)pireno, y el dibenz(a,h)antraceno. Los datos de la Tabla 4.19.1 fueron obtenidos cuando se añadieron estos compuestos a muestras de aguas residuales y se extrajeron en cloruro de metileno. Las cantidades se refieren a la fase acuosa. [Ref.: EPA-600/7-79-191].
- (a) Calcúlese el porcentaje recuperado de la cantidad añadida para cada uno de los cuatro componentes.
- (b) Calcúlese la desviación estándar relativa del porcentaje recuperado.
- (c) Si una desviación estándar relativa de las determinaciones debe ser menor del 50% para ser útil, ¿qué compuestos, si es que hay alguno, pueden determinarse con este método de muestreo y extracción, como parte del análisis?
- 4.20. En la fabricación de productos farmacéuticos es necesario asegurarse de que no queda ningún disolvente residual en el producto terminado. La purga y trampa es una técnica donde el gas pasa por una muestra, y arrastra cualquier componente volátil atrapado en el adsorbente. La trampa se calienta, para que los volátiles, incluyendo cualquier disolvente residual, se desprendan en una cantidad mucho menor, y entonces se analizan. Los datos que siguen resumen las señales obtenidas en un análisis para determinar la cantidad de benzeno después de los indicados tiempos de purga. [Washal, J. W., Wampler, T. P. diciembre 1993. «A dedicated purge-and-trap/GC system for residual solvent analysis of pharmaceutical samples». *Am. Lab.* 20C.]
- (a) ¿Cuál es el tiempo mínimo desde el cual se necesita la purga para obtener los resultados más exactos?
- (b) ¿Modifica el tiempo adicional los resultados?

Tabla 4.19.1

Compuesto añadido	Concentración añadida ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Concentraciones medidas en los ensayos ($\mu\text{g m}^{-3}$)							
Criseno	1,0	0,64	0,70	0,45	0,72	0,84	0,75	0,61	
		0,92	0,80	0,59	0,63	0,86	0,58	0,77	
Benzofluorantenos	1,0	0,48	0,96	0,60	0,69	0,08	0,20	0,30	
		0,85	0,90	0,69	0,88	0,76	0,33	0,39	
Benzo(a) pireno	10	6,9	5,7	7,8	5,2	8,0	5,4	4,7	
		5,0	6,5	4,0	7,3	7,6	5,2	8,5	
Dibenz(a,h)antraceno	50	32	22	37	39	40	30	17,5	
		44	22	24	27	34	37	46	

Tiempos de purga (minutos)	Respuesta del detector
0,2	10100
1	15000
2	22300
3	25300
4	24000
5	26300
6	25200
7	24800
8	27500
9	27300
10	23100
11	25000

$$A = \log(I_2/I) / \log(I_1/I)$$

[Ref.: Beukelman, T. E.; Lord, S. S., Jr. *Appl. Spec.* 1960, 14:12.]

(a) Demostrar que A puede expresarse también como:

$$A = \log[1 + (\Delta_2/c)] / \log[1 + (\Delta_1/c)]$$

(En otras palabras, igualando las dos expresiones que contienen a A , podemos hallar c simplemente a partir de los tres valores medidos.)

(b) Se realiza un análisis para determinar calcio con los siguientes resultados:

Muestra	Respuesta (corregida para el ejercicio)
c	22,5 divisiones en la escala gráfica
$c + 20 \text{ ppm Ca}^{2+}$	44,1 divisiones en la escala gráfica
$c + 80 \text{ ppm Ca}^{2+}$	106,8 divisiones en la escala gráfica

(c) Supongamos que los tiempos de purga se dan exactamente cada 60 s, y que la fracción de benceno recogido se puede reproducir también exactamente. ¿Por qué factor habría que multiplicar los resultados medidos para obtenerlos correctamente?

4.21. Con el método de adiciones estándar a veces es útil emplear una extrapolación logarítmica. Por ejemplo, a veces la respuesta del instrumento es:

$$I = Kc^{+m}$$

Donde I es la respuesta, c la concentración y k y m son constantes. Una forma más práctica de plantear la ecuación es:

$$\log I = m \log c + \log K$$

Si se representa I versus $\log c$, resulta una línea recta con pendiente m , que se cruza en la ordenada con el $\log K$. Los valores de m y K dependerán de las condiciones experimentales. Supongamos que se dan dos soluciones ($c + \Delta_1$) y ($c + \Delta_2$). Las respuestas de los instrumentos son I_1 e I_2 , respectivamente. Defínase ahora:

Calcúlese c mediante extrapolación lineal y sustitución iterativa en la ecuación logarítmica. Comparar los resultados.

4.22. Un químico recién licenciado está llevando a cabo un método para determinar la cantidad de hierro presente en un jarabe de vitaminas usando un placebo (jarabe que contiene todo menos el hierro) más 5 mL de una cantidad conocida de hierro. Encuentra, cuando compara la cantidad de hierro recuperada con la añadida al principio, que tan sólo había recuperado el 45%. Más abajo se recoge un extracto de su cuaderno de anotaciones. Si se encuentra alguna fuente de error, háganse la(s) corrección(es) necesaria(s), y hállese la recuperación correcta.

Preparación del estándar: Se tratan 5,00 mL de una disolución estándar de hierro con hidroxilamina hidrocloreuro y *o*-fenantrolina para dar $\text{Fe}(o\text{-fen})_3$ y se diluye hasta un volumen final de 50,00 mL. La medida espectrofotométrica de la absorbencia fue medida a 512 nm.

Preparación de la muestra de vitamina: Se transfiere una alícuota de 30,00 mL de placebo a un recipiente de

digestión por microondas de 100 mL. Se añaden 5,00 mL de solución estándar de hierro y 5 mL de HNO₃ concentrado, y 5 mL de H₂SO₄ también concentrado. Se sella el recipiente y se digiere la muestra. La disolución resultante se traspa a un vaso de precipitación y se calienta sobre una placa caliente. Al final de este paso se advierte una ligera corrosión en la bandeja de acero inoxidable. Se trasvasa la disolución a un matraz volumétrico de 100,0 mL, se trata con hidroxilamina hidrocloreto y *o*-fenantrolina, y se diluye hasta llenar el matraz. La medida se realiza a 512 nm.

4.23. Una extracción asistida por microondas (EAM) de PAH (hidrocarburos poliaromáticos) con diclorometano (DCM) y con acetona (ACE) se compara con una extracción soxhlet, para la extracción de naftaleno y criseno. En la tabla se incluyen los valores obtenidos por ambos procedimientos de extracción.

(a) ¿Para qué compuesto(s) y disolvente(s) la extracción soxhlet ha supuesto ser el mejor método?

Compuesto	Cantidad extraída (microondas/soxhlet)			
	DCM	% RSD	ACE	% RSD
naftaleno	1,40	11,60	2,86	5,40
criseno	0,86	16,30	1,03	2,50

(b) Supongamos que la extracción de naftaleno en acetona por microondas proporciona una recuperación del 100%. ¿Cuál es el porcentaje de recuperación del método soxhlet? (Nota: ¡El método EAM da muchos mejores resultados en muchos otros compuestos!). [Datos por cortesía de MEC Corp.]

4.24. La coprecipitación es especialmente útil en casos en que los analitos se encuentran a bajos niveles. Por ejemplo, una muestra, de 10 g, con 0,05% (p/p) de platino, contiene sólo 5 mg de platino. Por tanto, si se coprecipita el platino con 100 g de cloruro de teluro, una pequeña pérdida del precipitado ocasiona un error menor. Por otra parte, si se pudieran reunir 5 mg de metal de Pt para formar un cubo, éste tendría sólo medio milímetro de lado (el tamaño de un grano de sal de mesa). ¿Qué error relativo se cometería en un análisis de 10 g de muestra si se perdiera durante la transferencia un cubo tamaño mota de polvo de 100 µm de lado, de puro Pt ($\rho = 21,45$)?

4.25. Se compara la eficiencia de extracción por soxhlet, sonicación y extracción con fluidos supercríticos para una serie de pesticidas organofosforados. Como se puede ver en la Tabla 4.25.1 el porcentaje de recuperación, así como la desviación estándar relativa de las recuperaciones, varían considerablemente en los tres métodos. Basándose en los puntos que se dan en el texto para elegir el método de preparación de muestra, ¿qué método se debe rechazar inmediatamente? [Ref.: Snyder, J. L., Grob, R. L., Mc-

Tabla 4.25.1. Comparación de métodos de extracción para pesticidas de organofosforados: Soxhlet frente a extracción por sonicación y frente a extracción de fluidos supercríticos

Compuesto	Cantidad añadida, ng g	Método*	N.º de análisis, n	Hallado (media), ng g	SD s	RSD %	% Recuperado (media)
diclorvos	520	SX	8	333	28	8,4	64
		SP	6	375	42	11	72
		EFS	5	318	13	4,0	61
diazinon	515	SX	8	479	24	5,1	93
		SP	6	493	27	5,4	96
		EFS	9	433	13	3,0	84
ronnel	25	SX	8	26	1,4	5,2	104
		SP	6	27	2,4	9,1	106
		EFS	9	25	1,2	5,0	98
paration (etilo)	78	SX	8	22	20	92	28
		SP	6	77	1,3	1,6	99
		EFS	9	73	0,88	1,2	94
metidation	100	SX	8	108	5,7	5,3	108
		SP	6	100	4,8	4,8	100
		EFS	9	106	3,4	3,3	106
tetraclorvinfos	36	SX	8	42	4,7	11	117
		SP	6	41	1,3	3,2	113
		EFS	8	39	2,5	6,3	109

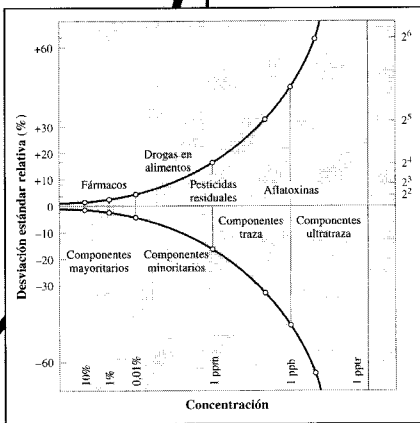
*SX = extracción soxhlet, SP = extracción por sonicación, EFS = extracción de fluido supercrítico.

Nally, M. E., Oostdyk, T. S. 1992. «Comparison of Supercritical Fluid Extraction with Classical Sonication and Soxhlet Extractions of Selected Pesticides». *Anal. Chem.* 92, 1940.]

- 4.26. Se rompe una capsulita y se extrae en 100 mL de 0,1 M NaCl. Una vez filtrada la solución acuosa se traspa y la disolución acuosa se extrae con éter. El ingrediente que se disuelve en éter tiene un K_D éter: agua de 10. ¿Cuántas porciones de 10 mL de éter se tienen que emplear y combinar para asegurarse de que al menos el 99,5% del ingrediente activo es transferido fuera del agua?
- 4.27. Para comprobar si el porcentaje de recuperación porcentual de un nuevo método de preparación de muestra es constante en el intervalo esperado para residuos de pesticida en tallos de maíz (normalmente de 1,0 a 5,0 ppb, según el tiempo transcurrido desde la aplicación), se hacen adiciones a una serie de muestras de 20 g de maíz sin tratar, de una disolución muy diluida del pesticida puro. Se introducen los tallos de maíz con 25 mL de acetonitrilo en una mezcladora y se agitan durante 45 s. El extracto de acetonitrilo se filtra y luego se analiza directamente por cromatografía de gas. De la comparación de los datos del residuo de muestra derivan los resultados de la tabla adjunta a la derecha.
- (a) Calcúlese la concentración (en ppb) que es de esperar en cada una de las disoluciones.

- (b) Trácese la curva de respuesta instrumental *versus* la de concentración para los estándares.
- (c) Basándose en el gráfico de la parte b, ¿cuál es la concentración de pesticida en el residuo de muestra?
- (d) Calcúlese la recuperación para cada muestra. ¿Es constante la recuperación en el intervalo examinado?

Muestra	Respuesta del instrumento (unidades arbitrarias $\times 10^{-5}$)
<i>Estándares</i>	
1,00 ppb	2,15
2,00 ppb	4,25
3,00 ppb	6,52
4,00 ppb	8,57
5,00 ppb	10,76
<i>Muestras de 200 g de tallos de maíz + x mL de estándar de concentración 2,5 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$</i>	
adición de 1,00 mL	2,10
adición de 2,00 mL	4,15
adición de 3,00 mL	6,28
adición de 4,00 mL	8,43
adición de 5,00 mL	10,28



Tamaño de la muestra y componentes mayoritarios, minoritarios, trazas y ultratrazas

Contenido

- 5.1. Clasificación de la muestra por tamaño y nivel de analito
- 5.2. Límites del análisis de traza
- 5.3. Comparación de análisis de trazas, ultratrazas y microanálisis
- 5.4. Cuatro casos
- 5.5. Señales, ruido y límites de detección
- 5.6. Parámetros de calidad y límites de detección
- 5.7. El límite de detección con más detalle

Aflatoxinas

Componentes
a

Componentes
ultra

1 ppb

5.1. Clasificación de la muestra por tamaño y nivel de analito

Caso práctico de estudio 9-3, se describe un análisis *in situ* de la superficie de Marte.

Los objetos a analizar se presentan en todos los tamaños. En el extremo superior del intervalo están las muestras procedentes de la superficie de la Luna y Marte, muestras que se han sometido a un extenso análisis elemental. De la Luna se pueden obtener muestras relativamente grandes (\sim kg). Sin embargo, un problema mayor es elegir muestras representativas de piedra para enviarlas a la Tierra para su análisis. De estas piedras reunidas, el laboratorio obtiene muestras del orden de 0,1-1 g —muestras **macro** o **normales**— para el análisis. Estas muestras tienen un límite, y la demanda de ellas es grande, no sólo para análisis químico.

No es difícil encontrar un objeto del que sacar una muestra significativamente más pequeña que un cuerpo astronómico —por ejemplo, encontrar sólo un pequeño grano de polvo en el bolsillo de un sospechoso ladrón de bancos—. El grano podría ser de polvo de un marcador de billetes que se habría depositado sobre el dinero antes de que el cajero lo entregase. El tamaño y la masa de la partícula la pondrían en la clase de muestras **micro**, que se analizan con las técnicas de **microanálisis**.

El tamaño de una muestra de laboratorio no se debería confundir con el nivel de concentración de analito en una muestra. En la Figura 5.1 se muestra un esquema descriptivo. El eje horizontal presenta el tamaño de muestra en una escala logarítmica, y los tamaños de muestra se clasifican en regiones macro y microanalíticas. El eje vertical es una escala logarítmica del porcentaje (p/p) de un componente en una muestra. El contenido de la muestra se clasifica por la cantidad relativa de un elemento o compuesto en ella. Un componente puede ser **mayoritario** (1-100%), **minoritario** (0,01-1%), **traza** (menos de 0,01% = 100 ppm) o **ultratraza** (en el intervalo de partes por billón o menos). La cantidad total o absoluta de un componente presente depende del tamaño de la muestra y de la fracción del componente en el conjunto de muestra. Como resultado, las líneas de masa constante de analito describen diagonales en la gráfica.

Sin embargo, el análisis químico es un sector dinámico, y el término *análisis de traza* ha cambiado de significado y cambiará en el futuro. Tales cambios se reflejan en los siguientes comentarios de A. H. Hayes, ex comisionado de Administración de U.S. de Alimentación y Fármacos.

No es de ninguna manera la ley de seguridad de alimentos. Realmente es una serie de leyes, algunas antiguas, otras nuevas... Cuando algunas de estas leyes se escribieron... los científico[s] dirían, para un compuesto en particular, que podrían encontrar una parte por mil... [Esto] significa ese cero, cuando hablamos sobre el riesgo cero... [era] una parte por mil y uno. Ahora, para algunos de estos químicos, 20 años después, podemos encontrar una parte por billón... Si puede encontrar una parte por billón, ¿cuál es la nueva definición de riesgo cero, una parte por billón y uno? ¿Creemos verdaderamente que el riesgo cero siendo una parte por mil, es lo mismo que una parte por billón?
[Citado en *Chem. & Eng. News*, Jan. 18, 1982.]

¿Cuánto es una parte por billón (ppb)? ¿Cuánto es una parte por trillón (ppt)? Estos conceptos son más fáciles de entender considerando algunos ejemplos concretos.

Un galón (U.S.) es igual a 3,8 L; así, un barril de aceite de 55 galones contiene aproximadamente 200 L. La masa de agua en un bidón lleno pesa aproximadamente 200 kg. Si un grano de sal de mesa (masa aproximada 0,2 mg) se

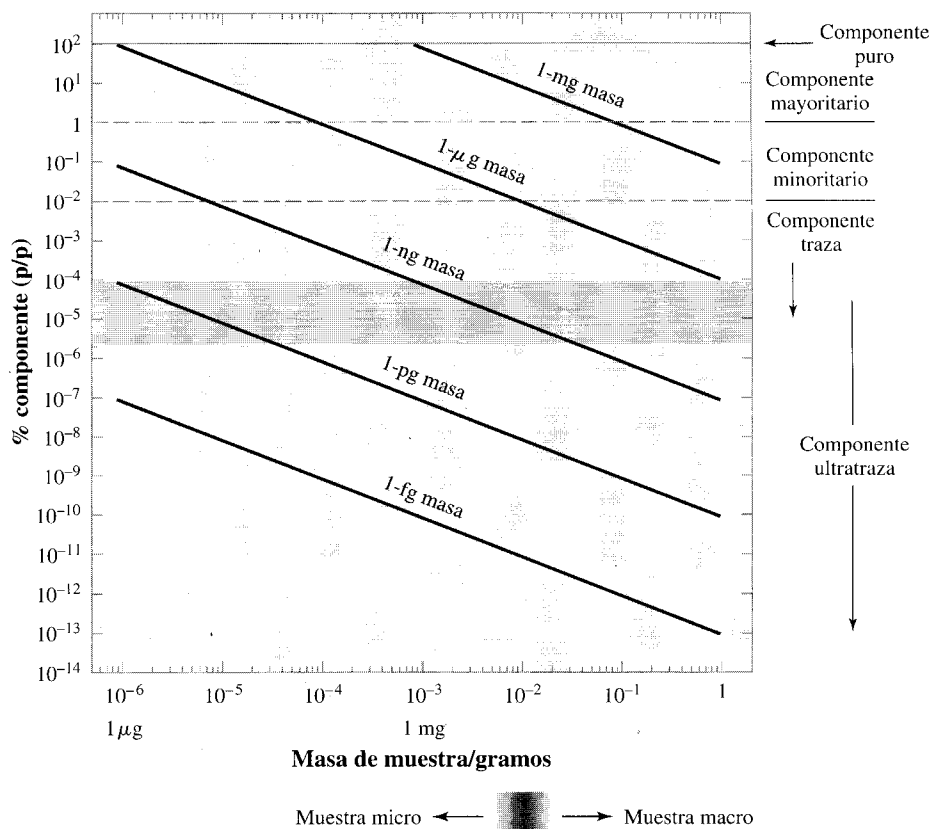


FIGURA 5.1 ▲
La ilustración muestra la denominación dada a los intervalos de tamaño de muestra y contenido de analito.

disuelve en el barril de agua, la concentración de sal sería aproximadamente 1 ppb.

Para diluir 1 g de sal (o cualquier otra sustancia) y obtener una parte por billón (p/v) la solución acuosa requeriría aproximadamente 10^9 L de agua. Esta cantidad de agua necesitaría un cubo de 100 m de lado para contenerla.

Todos estaremos de acuerdo en que la capacidad de cuantificar unas pocas partes por billón de algunas sustancias debe figurar entre las hazañas más impresionantes de la tecnología química.

5.2. Límites del análisis de traza

Cuando el contenido de un componente se reduce al intervalo de ppm y ppb, eliminar las interferencias de la matriz de la muestra se hace más y más difícil. Por ejemplo, la dificultad para determinar los niveles traza de aflatoxinas en cacahuets. Tales dificultades llegan a ser más agudas e importantes cuando los gobiernos quieren regular las concentraciones de sustancias dentro del intervalo de las ppb. En estos casos las diferencias de resultados entre laboratorios hace imposible el intercambio de información entre ellos.

Detección de aflatoxinas: Caso práctico de estudio 2-1.

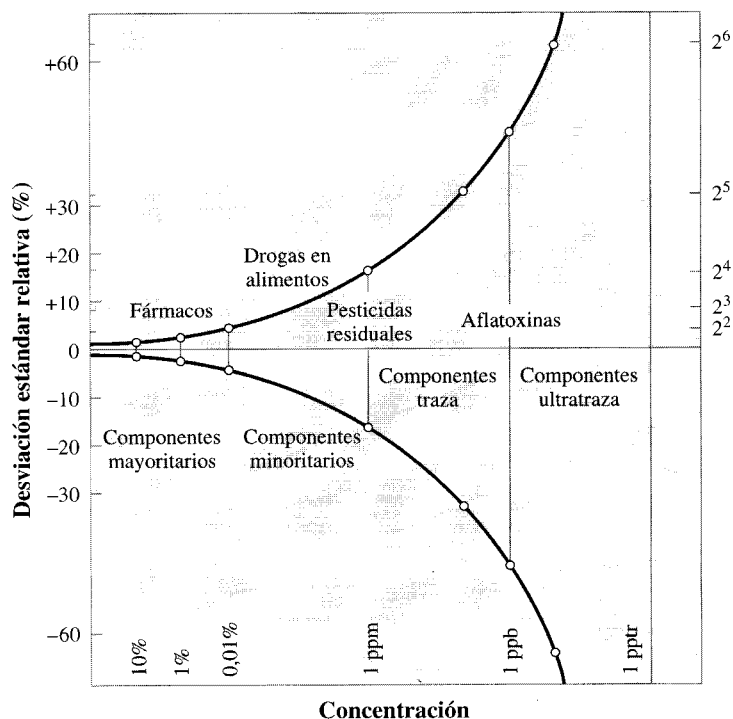


FIGURA 5.2 ▲
La gráfica ilustra lo comentado anteriormente, en general, en el error de la medida cuando las concentraciones de analito disminuyen.

El eje horizontal es el logaritmo de la concentración; el eje vertical es el porcentaje de la desviación estándar de los resultados. Observemos que en el intervalo de las ppb, el límite de confianza, para un nivel de probabilidad del 95%, se aproxima al valor medio. [Ref.: Reimpreso con permiso de Horowitz, W. 1982. *Anal. Chem.* 54: 67A -76A. Copyright 1982 American Chemical Society.]

En la Figura 5.2 se muestra una ilustración sobre la tendencia de los errores entre laboratorios. Los intentos de reducir los límites indicados en este diagrama no han tenido éxito, sobre todo en los niveles más bajos de contenido.

Otro problema de llevar a cabo análisis de trazas es la contaminación durante la preparación de la muestra. Cada reactivo, por ejemplo un ácido usado para digestión, debe contribuir con las menores interferencias posibles. Igualmente, los recipientes de cristal o plástico pueden contaminar las disoluciones de la muestra. Cuando las impurezas interfieren, normalmente se fija el límite más bajo en nuestra capacidad para determinar cantidades traza de una sustancia.

Las Tablas 5.1a y 5.1b muestran los niveles de impurezas en los ácidos empleados para la preparación de la muestra. Las cantidades se expresan en ng mL^{-1} . Una concentración de la impureza de 100 ppb en un ácido puede no ser muy alta. Sin embargo, si la cantidad de ácido necesaria para la digestión es cien veces el peso de la muestra, 100 ppb de una especie en el ácido sería igual a 10 ppm en la muestra analítica.

A medida que disminuye el nivel de concentración a analizar se requiere que las áreas donde se manipulan las muestras estén limpias y el aire filtrado. En otras palabras, como demuestra el Caso de Estudio 5.1, los instrumentos utilizados para los análisis de trazas y ultratrazas a menudo no son el factor limitante.

Tabla 5.1a. Concentraciones de impurezas en distintos ácidos

Elemento	Muestra	Distribuidor	Concentración [ng mL ⁻¹ = ppb (p/v)]			
			→ 1	2	3	4
Ácido nítrico						
Mn	1		10,2	0,9	29,7	
	2		6,0	7,3	49,0	
	3		8,1	2,2	16,5	
	4*		0,6	—	—	
Cl	1		65	53	259	
	2		79	66	330	
	3		55	59	—	
	4*		50	500	80	
Na	1		66	109	1465	
	2		50	103	1400	
	3		98	124	—	
	4*		30	500	100	
Cu	1		19	13	355	
	2		12	—	—	
	3		13	—	—	
	4*		13	5	0,7	
Ácido fluorhídrico						
Mn	1		0,3	0,2	0,3	1,0
	2		0,3	0,5	0,3	1,1
	3		0,6	—	0,2	0,9
	4*		0,5	—	—	—
Na	1		12	11	12	129
	2		23	15	27	140
	3		16	14	17	—
	4*		20	—	—	100
Cl	1		175	270	800	281
	2		180	472	805	287
	3		182	—	795	242
	4*		1000	100	—	80
Ácido acético						
Mn	1		7,0	0,5	2,4	2,4
	2		13,3	0,5	2,7	1,5
	3		—	—	3,0	2,0
	4*		1	5,0	—	—
Na	1		903	90	359	35
	2		916	24	359	39
	3*		400	50	—	—
Cu	1		66	4,8	3	—
	2*		30	9	100	5
Cl	1		655	101	187	133
	2		799	377	159	66
	3		—	—	—	58
	4*		300	300	—	500

* Concentración indicada por el distribuidor.

Fuente: Datos de Mitchell, J. W., Luke, C. L., Northover, W. R. 1973. *Anal. Chem.* 45:1503-1506.

Tabla 5.1b. Niveles representativos de impurezas inorgánicas comunes en ácidos concentrados
Análisis de los fabricantes en ng/g (los ceros los colocan sólo los fabricantes)

Impureza	Nivel de impureza (ng/g)			Impureza	Nivel de impureza (ng/g)		
	Grado de reactivo	Mejor grado	Grado ultrapuro		Grado de reactivo	Mejor grado	Grado ultrapuro
<i>En ácido clorhídrico</i>				<i>En ácido nítrico (continuación)</i>			
Ag	—	50	0,10	Na	—	500	30
Al	—	50	10	Ni	50	10	0,2
As	20	5	1	Si	—	1000	10
B	—	100	30	Sn	—	50	<0,5
Ba	—	50	<10	Sr	—	50	<1
Br	50.000	500	400	Zn	100	10	<1
Ca	—	50	1	Fosfato	200	100	<50
Cd	50	5	<1	Sulfato	500	500	<100
Co	50	5	<0,1	<i>En ácido sulfúrico</i>			
Cr	50	50	0,2	Al	—	30	3
Cu	200	5	0,2	As	10	5	<1
Fe	200	50	2	B	—	50	3
K	—	50	<5	Ba	—	50	<10
Pb	—	5	0,5	Ca	—	50	10
Mg	—	10	1	Cd	100	5	<1
Mn	50	5	0,1	Cl	200	100	40
Hg	—	5	0,2	Co	100	5	0,2
Na	—	500	20	Cr	100	10	0,5
Ni	200	10	0,2	Cu	500	5	1
Si	—	100	200	Fe	200	50	10
Sn	—	50	<0,5	K	—	50	<5
Sr	—	50	<1	Pb	100	10	0,5
Zn	500	5	<1	Mg	—	10	3
Amonio	3000	—	1000	Mn	100	50	0,3
Fosfato	—	50	20	Hg	5	5	1
Sulfato	800	500	300	Na	—	500	200
Sulfito	1000	800	200	Ni	100	5	0,5
<i>En ácido nítrico</i>				Si	—	500	20
Ag	—	10	<0,05	Sn	—	10	0,5
Al	—	50	2	Sr	—	10	<1
As	5	5	<1	Zn	100	5	2
B	—	50	2	Amonio	2000	—	200
Ba	—	50	<10	Fosfato	—	500	10
Ca	5000	50	2	Nitrato	1000	200	40
Cd	10	50	<1				
Cl	200	100	100				
Co	—	5	<0,1				
Cr	100	50	0,3				
Cu	50	5	0,1				
Fe	200	20	0,5				
K	—	50	<5				
Pb	50	5	0,5				
Mg	—	50	0,3				
Mn	—	5	0,05				
Hg	—	5	<0,1				



CASO DE ESTUDIO 5-1

¿Los instrumentos pueden tener la fiebre del heno?

El ejemplo siguiente nos dará una idea de la capacidad de la tecnología analítica contemporánea y de la dificultad para definir el límite de detección en situaciones prácticas. Necesitamos comprender un término: unidades de absorbancia. La mayoría de los instrumentos que miden absorbancia dan un resultado dentro del intervalo de 0 a 2 unidades de absorbancia. Si nuestros ojos pudiesen registrar en unidades de absorbancia, una disolución de color gris que proporciona 3 unidades de absorbancia parecería negra; una disolución que proporciona 0,01 unidades parecería incolora*.

Es un día hermoso de finales de verano, cálido y con una suave brisa. Las ventanas o puertas de cualquier laboratorio pueden estar abiertas. La Madre Naturaleza ha empezado su trabajo para garantizar una abundancia de plantas el año que viene. Eso significa polen —una sustancia completamente inocua para un humano sin fiebre del heno—. Un grano típico de polen puede tener aproximadamente $10\ \mu\text{m}$ de diámetro, y una densidad de $0,8\ \text{g}/\text{cm}^3$, y contiene alrededor de un 5% de magnesio. Un cálculo apro-

ximado da un contenido total de magnesio de $7 \times 10^{-11}\ \text{g}$. La sensibilidad[†] (de nuestro método) para el magnesio es aproximadamente $10^{-14}\ \text{g}$. Esto significa que $10^{-11}\ \text{g}$ de magnesio producen 0,0044 unidades de absorbancia. Así, si un simple grano de polen entrase (en la cámara de la muestra del instrumento), él solo produciría una señal de magnesio de 31 unidades de absorbancia. Eso se traduce en una lectura fuera de escala en cualquier instrumento.

Obviamente no tiene sentido hacer un análisis del magnesio durante la estación de la fiebre del heno, a menos que se trabaje en una atmósfera con aire filtrado y limpio para eliminar partículas como el polen. Realmente, tal filtración se requiere todo el año, ya que efectos similares, aunque no tan grandes, se producen por esporas de hongos o bacteria que están siempre presentes.

[Reimpreso por MORGENTHALER, L. 1977. In *Spectroscopy*. Series 11, Vol. 11. Fairfield, CT: International Scientific Communications, pp. 105-120.]

* Una definición más detallada de absorbancia aparece en el Capítulo 8.

† Aquí, sensibilidad tiene el significado de masa característica.

La **sensibilidad** y el **límite de detección** son dos términos estrechamente relacionados con medidas de trazas y microanálisis. Sus definiciones en un contexto químico son similares a las del lenguaje diario. Si un instrumento (o método de análisis) es más sensible, es posible medir *cambios* más pequeños en contenido o concentración. La medida preferida de la sensibilidad es la pendiente de la **curva de trabajo** (la gráfica del resultado de la señal medida frente a la concentración) a la concentración de interés. Ahora es la definición recomendada (por la IUPAC) para todos los métodos analíticos. Con esta definición, un número más grande (en las mismas unidades) significa que un método es más sensible.

Desgraciadamente, en el pasado, la sensibilidad tenía un significado específico diferente: la concentración o masa de analito que producía una absorción del 1% de la luz que pasaba a través de él. Ahora se sugiere que las cantidades necesarias para producir ese efecto se llamen **concentración característica** o **masa característica**, dependiendo

de qué esté aplicando. Para una concentración característica, un número pequeño implica que el método detecta cantidades más pequeñas. Así, cuando leamos informes de sensibilidad, debe especificarse cómo se ha definido la misma.

El límite de detección es el límite por debajo del cual un instrumento concreto o un método analítico no puede dar una información fiable de la presencia o ausencia de un analito en una muestra. La magnitud del límite de detección depende de los siguientes factores:

1. La identidad del elemento o especie molecular a determinar.
2. El instrumento o método de ensayo empleado.
3. La calidad de los reactivos necesarios para la preparación de la muestra.
4. Las características de los otros componentes en la muestra.

La dependencia del límite de detección del método de ensayo específico y del elemento analizado se muestra en el Apéndice III; los números están asociados con los niveles más bajos de cada elemento que se pueden detectar con cada método. Como se refleja en la tabla, para una técnica individual, el intervalo de concentración para los elementos puede variar por encima de un factor de mil; y, para un elemento dado, la concentración límite puede variar, según las técnicas, por encima de un factor de un millón. El límite de detección es uno de los conceptos esenciales del análisis químico, y se detalla en las Secciones 5.5-5.7. Sin embargo, como ya se habrá apreciado, la elección de un método de ensayo depende de muchos criterios además de su límite de detección y sensibilidad.

5.3. Comparación de análisis de trazas, ultratrazas y microanálisis

Antes, en este capítulo, indicamos que si se disuelve un único grano de cloruro sódico en un barril de agua (ultrapura), la disolución contendría aproximadamente 1 ppb de cloruro sódico. Debe quedar claro que tanto el grano de sal original como el barril de disolución de sal contienen exactamente la misma cantidad de cloruro sódico. Por consiguiente, los análisis químicos deben proporcionar la misma cantidad de sodio y cloruro en ambos casos. Sin embargo, los procedimientos de análisis de estas dos muestras son diferentes, y cada uno presentará sus propios problemas. Analizar el grano requiere la metodología empleada en el análisis de pequeñas cantidades de muestra —las técnicas de microanálisis—. La determinación de sodio y cloruro en el barril de agua exige una metodología diferente, la de análisis de trazas.

En la clasificación del esquema de la Figura 5.1, el análisis de trazas se puede definir como el análisis de compuestos presentes en niveles por debajo de 1 ppm. El análisis de ultratrazas es algo arbitrario, definiéndose para compuestos con concentraciones aproximadamente por debajo de 1ppb.

En análisis de trazas y microanálisis, la metodología del ensayo debe permitir cuantificar cantidades pequeñas de material. Esto parece obvio sólo para el microanálisis; pero el mismo criterio es necesario para el análisis de trazas de manera que las muestras no lleguen a ser inmanejablemente grandes. Hay instrumentos que pueden medir cantidades en un intervalo inferior a los picogramos ($<10^{-12}$ g), intervalo que ahora es relativamente común. Entre las técnicas usadas para análisis elemental están la Voltamperometría de redisolución anódica, Espectroscopía de absorción atómica, Análisis de activación neutrónica, Fluorescencia de Rayos X y varias técnicas espectroscópicas de análisis superficial. También se incluye la Espectrometría de masas utilizando patrón interno de un isótopo estable o Espectrometría de masas con fuentes de ionización de plasma. Para determinar compuestos orgánicos presentes en niveles traza, la técnica ele-

Métodos para picogramos: Redisolución Anódica (Capítulo 7); absorción atómica (Capítulo 9); Fluorescencia de Rayos X (Capítulo 9); Espectrometría de masas (Capítulo 12).

gida es la Cromatografía de gases unida a la Espectrometría de masas. Esta poderosa combinación analítica se abrevia casi siempre como GC/MS.

Más sobre Cromatografía de gases en el Capítulo 15, y sobre GC/MS Sección 12.7.

Preconcentración de analitos a nivel de trazas

Debido a las limitaciones del tamaño de la muestra analítica, para el análisis de trazas es necesario concentrar, y por lo menos separar parcialmente, el componente a analizar de los interferentes que hay en el seno de la matriz. Se utiliza un gran número de métodos de preconcentración para llevar a cabo parte de las etapas de preparación de la muestra.

Algunas técnicas empleadas para separar y concentrar elementos traza de la matriz de muestra se agrupan en el Capítulo 4.

5.4. Cuatro casos

A continuación se presentan cuatro ejemplos ilustrativos de los tipos de problemas resueltos con métodos de trazas y microanalíticos.

1. Una muestra de unos gramos de un material de alta pureza del que se quiere establecer su pureza.
2. Una muestra pequeña (mg) de sólido para analizar su composición elemental usando técnicas de microanálisis.
3. Una micro muestra de la que se analizan los compuestos orgánicos.
4. Un sólido del que se desea la distribución de elementos en su estructura.

Caso 1: Una muestra de alta pureza

Llevar a cabo una determinación con un error relativo inferior a un 0,1% (una parte por mil) es una tarea sumamente difícil. Veamos, entonces, cómo podemos contestar la pregunta siguiente: ¿Este silicio para la fabricación de microcircuitos de chips tiene una pureza del 99,99997% o del 99,99999%? Si estábamos analizando la pureza exacta de un silicio de alta pureza (100%) usando un ensayo preciso y exacto, con bastantes reproducciones diferentes para obtener una buena estadística, el resultado se puede expresar como: Este silicio es $(100,0 \pm 0,1)\%$ puro. Pero ese resultado, siendo bueno, no contesta la pregunta inicial. De hecho, es aproximadamente 10.000 veces más grande para ser útil.

Determinar la pureza de un material muy puro requiere un planteamiento diferente. Lo que se hace es encontrar las concentraciones de todas las impurezas traza presentes: Eso es, todos los componentes de la muestra menos el silicio. (Es seguro que están presentes sólo en cantidades traza porque la concentración total de todas ellas es de unos cientos ppb.) Entonces, se resta la concentración total de las impurezas del 100% para obtener el nivel de pureza del componente principal, silicio. Curiosamente, la determinación de alta pureza requiere el uso de la metodología del elemento traza.

Para disminuir el coste económico de este tipo de análisis, es necesario determinar simultáneamente los niveles de varios elementos traza. Algunos métodos que se usan para estos análisis son Espectrometría de masas, Espectroscopía de emisión, análisis instrumental de activación neutrónica y Espectroscopía de fluorescencia de Rayos X.

Caso 2: Un miligramo de muestra para analizar su composición elemental

Otra consideración para cualquier tipo de análisis es si se quiere o no conservar la muestra original. (¿Querría destruir una parte de una estatuilla egipcia de valor incalculable?) Si queremos que la muestra quede intacta, entonces es necesario usar métodos analíticos

Espectrometría de masas (Capítulo 12); Espectroscopía de emisión (Capítulo 9); Espectroscopía de Fluorescencia de Rayos X (Capítulo 9).

Se puede encontrar información más ampliada sobre las técnicas microanalíticas en las referencias del final de este capítulo y en el Capítulo 9.

no destructivos, que no causan ningún cambio visible en la muestra. Se puede modificar a nivel atómico o molecular, pero estos cambios no son fácilmente detectables. Para causar el menor cambio posible en la muestra original, se llevan a cabo pruebas no destructivas con métodos de análisis que también se usan en análisis de trazas o microanálisis. Un método utilizado por ambos, microanálisis y análisis de trazas, es el análisis por activación neutrónica. Otras dos técnicas microanalíticas son la Espectroscopía fotoelectrónica de Rayos X y la Electroscopía electrónica [microprobe].

La mayoría de las técnicas de análisis requieren la destrucción de la muestra. Cualquier metodología que requiera la digestión o fusión de la muestra se debe clasificar como una metodología analítica **destructiva**. Por ejemplo, el Caso de Estudio 5-1 describe la medida de magnesio en un solo grano de polen. La técnica empleada requiere que la muestra se vaporice por calentamiento rápido, lo que implica una destrucción de la misma.

Cuando la muestra está en el intervalo de micro, podemos suponer que un análisis sería más fácil si no se digiere o diluye la muestra de ningún modo. Después de todo, ¿por qué añadir interferencias de manipulación y pretratamiento con un ácido con impurezas? Con las capacidades de la instrumentación contemporánea, las determinaciones micro (a menudo caras) generalmente muestran mejor precisión y exactitud que las determinaciones habituales para el análisis a nivel de trazas.

Las muestras para el análisis microquímico surgen, entre otras áreas, en el análisis forense. (Recursos forenses para uso judicial.) Los analistas forenses no sólo deben realizar el análisis de forma cuidadosa, sino que también deben tener en cuenta las reglas de evidencia legal y conservar el material analizado. Es conveniente usar técnicas analíticas no destructivas; de esta forma se puede guardar la prueba por si surge cualquier pregunta legal. El empleo de una técnica microanalítica no destructiva para análisis elemental en un laboratorio forense se muestra en la siguiente cita. El método se basa en la detección de los rayos X emitidos por una muestra que se bombardea con electrones.

\$119.000 precio del selenio sustraído en un robo a mano armada. La ropa de una persona sospechosa de estar involucrada en el ataque se examinó en el laboratorio, y se encontró un pequeño fragmento de $0,2 \times 0,2$ mm en uno de sus zapatos. El [Micro]análisis mostró que era selenio puro. [Ref.: Williams, R. L. 1973. *Anal. Chem.* 45:1076A-1089A.]

Como siempre, para alcanzar una cuantificación precisa y exacta, la metodología analítica utilizada requiere el uso de estándares apropiados. Aunque parezca raro, cuando se toma una muestra de masa bastante pequeña en relación con la muestra total, se debe hacer con cuidado para asegurar que la muestra tomada, aun siendo un fragmento pequeño, sea representativa. Es decir, los mismos problemas estadísticos para asegurar una muestra representativa surgen tanto en el microanálisis como en la obtención de una muestra representativa de un mineral de un carguero. No obstante, en el caso del fragmento de selenio, sería más difícil encontrar el material original para analizarlo. Sin embargo, por grande o pequeña que sea la muestra, la metodología, como se refleja en la Figura 1.1, se sigue para definir y resolver el problema.

Algunas de las más poderosas técnicas analíticas, como la usada en el ejemplo anterior, se pueden emplear para medir la composición cuantitativa con una buena precisión para muestras de menos de 10^{-10} g. Esta cantidad significa que un miligramo de muestra contiene más de diez millones de veces la cantidad de material necesaria para el análisis. Para hacerse una idea de esta escala, hay que considerar que un miligramo de muestra con un peso específico de cuatro llenaría un cubo de aproximadamente 0,6 mm de lado. Por consiguiente, una muestra de 10^{-10} g sería menos de 1/1.000 de largo (aproximadamente 600 nm) en cada lado.

Caso 3: Análisis micro-orgánico

Para análisis químico de compuestos orgánicos micro, ultramicro y trazas, artificiales y biológicos, las técnicas seleccionadas son Espectrometría de masas y Cromatografía de gases, o la combinación de las dos técnicas —Cromatografía de gases/Espectrometría de masas.

Nuestro tercer caso es, de nuevo, de análisis forense e implica el análisis de los componentes orgánicos de una muestra de pintura. El método de ensayo usado es la Cromatografía de gases. Aquí, el método de preparación de la muestra implica vaporizar 10-20 μg de pintura de forma rápida y reproducible. A altas temperaturas, los polímeros orgánicos que componen la pintura se descomponen en fragmentos moleculares más pequeños: Esta ruptura se llama pirólisis (literalmente, corte por fuego o calor.) Los resultados de las dos muestras se presentan en la Figura 5.3. Algunos detalles experimentales se describen al pie de la figura. El ejemplo del empleo de estos **pirogramas** envuelve un asesinato.

... el pirograma se obtuvo de una mancha negra de material que se encontró incrustado en el cráneo de una mujer de 38 años que había muerto por lesiones en la cabeza. Resultó ser un estirenato alquílico, un recubrimiento usado en herramientas; se comparó con un pirograma similar de pintura de una caja de herramientas de un coche abandonado al que le faltaba el gato. ¡No hay necesidad de indicar el significado! [Ref.: Williams, R. L. 1973. *Anal. Chem.* 45:1076A-1089A.]

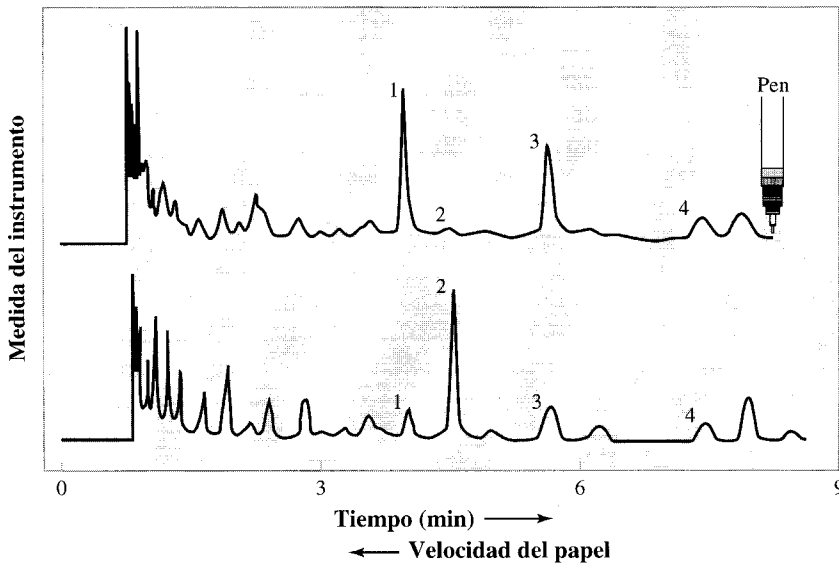
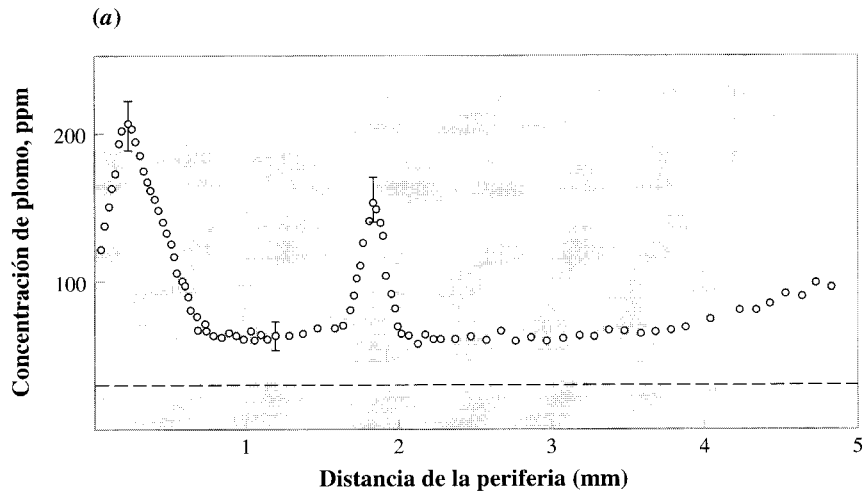


FIGURA 5.3 ▲
Pirogramas obtenidos por calentamiento de polímeros orgánicos sólidos.

Éstas son las gráficas de la señal del instrumento (eje vertical) frente al tiempo (eje horizontal). La señal del instrumento es proporcional a la cantidad de cada componente que pasa por el detector. Cada especie orgánica llega al detector a un tiempo que es característico para esa especie. Los números identifican los picos que resultan de la misma especie química. Las dos muestras son polímeros de pintura que se compone de los dos mismos tipos de monómeros; la única diferencia es la proporción de los monómeros en la mezcla original. La diferencia en la composición se refleja en las alturas diferentes de los picos correspondientes. De esta manera, se pueden caracterizar resinas de polímeros desconocidos comparando sus composiciones específicas si los experimentos se hacen cuidadosamente con estándares adecuados. [Ref.: Reimpreso con permiso de Williams, R. L. 1973. *Anal. Chem.* 45:1076A-1089A. Copyright 1973 American Chemical Society.]

Caso 4: Un sólido y la distribución de elementos en su estructura

En el caso 3, se trató el análisis de muestras extremadamente pequeñas (cantidades menores que nanogramos de muestras de microgramos). Ahora parece razonable preguntar: Si se pueden analizar estas muestra pequeñas, ¿es posible hacer el mismo tipo de microanálisis, a distintas partes de una muestra más grande y determinar la ubicación de varios elementos? En este caso se llevó a cabo un estudio en el que se analizaron áreas pequeñas de la superficie de un material y los resultados se representaron en función de la posición, como ilustra la Figura 5.4.



(b)

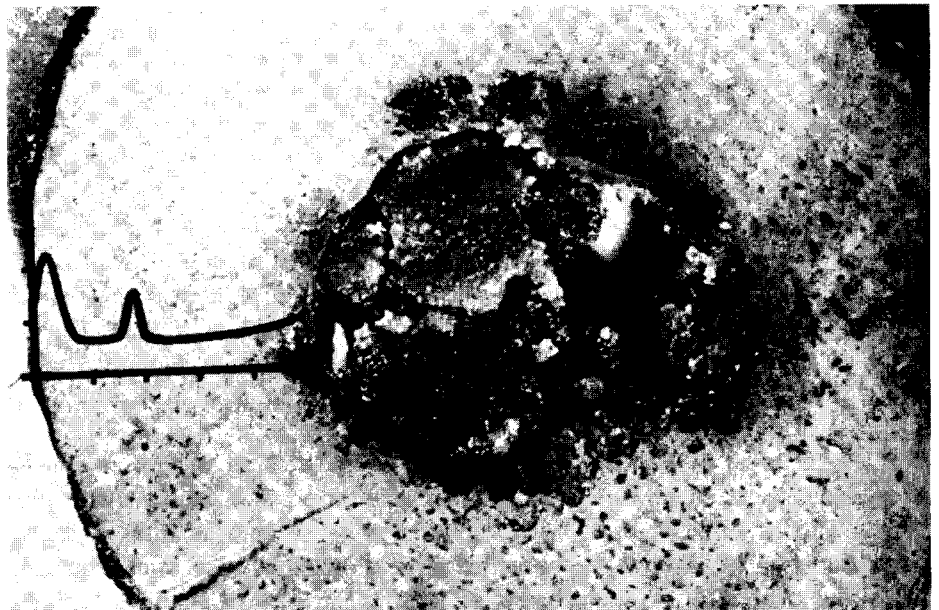


FIGURA 5.4 ►
Distribución de plomo en un fémur humano.

(a) La concentración de plomo se representa en función de la distancia de la periferia del hueso. La línea discontinua es la concentración media en un hueso de referencia. La curva punteada representa la distribución en el hueso del individuo envenenado. (b) La misma gráfica que en la Figura 5.5a pero superpuesta sobre el hueso para mostrar la distribución de la sección transversal de la estructura. El área central oscura es la cavidad de la médula del hueso.

En dos casos de autopsia se cortaron aproximadamente 2 mm de espesor de secciones transversales de fémur que se usaron para el estudio. Ambas personas habían trabajado en puestos diferentes en una fundición de metal en Suecia. El empleado de referencia había trabajado durante 27 años en tostaciones y refinamiento de arsénico y cobre. No se había expuesto a cantidades excesivas de plomo. Se había retirado de su trabajo ocho años antes de su muerte. El caso de la persona expuesta a plomo había trabajado en la refinería de plomo de la misma fundición de metal... [durante] por lo menos 21 años. El paciente había experimentado síntomas clínicos de intoxicación de plomo por períodos, la primera vez aproximadamente 20 años antes de su muerte. Había estado lejos de la exposición de plomo durante más de dos meses antes de su muerte. Las secciones de fémur [congeladas y mientras continuaban congeladas] se liofilizaron a vacío... [Ref.: Lindh, U., Brune, D., Nordberg, G. 1978. *Sci. Tot. Environ.* 10:31-57.]

La localización en la muestra de hueso se hizo enfocando un emisor de protones de un acelerador de partículas hacia manchas de aproximadamente 1/20 [mm]. La emisión de Rayos X característica del plomo se separó de los Rayos X debido la mayor parte a la presencia de otros elementos. Después de medir un blanco de un trozo de hueso similar, los resultados de la determinación se representaron como muestra la Figura 5.4. La magnitud de la señal corregida, de hecho, depende de la cantidad de plomo presente, como se confirmó por otro método considerado de referencia.

5.5. Señales, ruido y límite de detección

Todos los métodos analíticos dependen de una señal para el análisis. La señal generalmente es un cambio en el potencial eléctrico que se monitoriza. El **ruido** es una fluctuación aleatoria indeseable que, dependiendo del tiempo, cambia el registro de la señal. Sin embargo, no hay que confundir ruido con un nivel constante de señal, que denominaremos **fondo** o **línea base**. Además, la magnitud del fondo puede cambiar lentamente con el tiempo, este efecto se llama **deriva**. No obstante, el tiempo al que se produce la deriva permite, normalmente, su corrección.

No todas las señales son eléctricas. Una señal puede ser también, por ejemplo, un cambio rápido y visible de color que nos indica que un reactivo ha consumido todo el analito (punto final de una valoración, para quienes estén familiarizados con ellas). El límite para ver el cambio de color depende de las limitaciones visuales del analista, que dejarán de reconocer un cambio de color mientras que un instrumento lo hará fácilmente. El ruido es, muchas veces, el factor limitante en la detección instrumental.

Para explicar el efecto del ruido, miremos el ejemplo que muestra la Figura 5.5a. La señal, que es la diferencia de los potenciales del blanco y la muestra, se distingue fácilmente cuando se intercambian las dos. Aquí, como aparece a la derecha, el potencial de la señal se mide como la medida entre las mesetas.

En la Figura 5.5b, el nivel de la señal se reduce en un factor de cinco, mientras que el ruido permanece igual, y se puede ver una leve deriva en la línea base. Sin embargo, es prácticamente imposible diferenciar el fondo y la muestra debido a la magnitud *relativa* del ruido. Así, el límite para medir el analito en la muestra, no es sólo la magnitud de la señal, ni sólo la magnitud del ruido, sino la relación de los dos: la **relación señal-ruido** (abreviado relación S/R, o simplemente S/R).

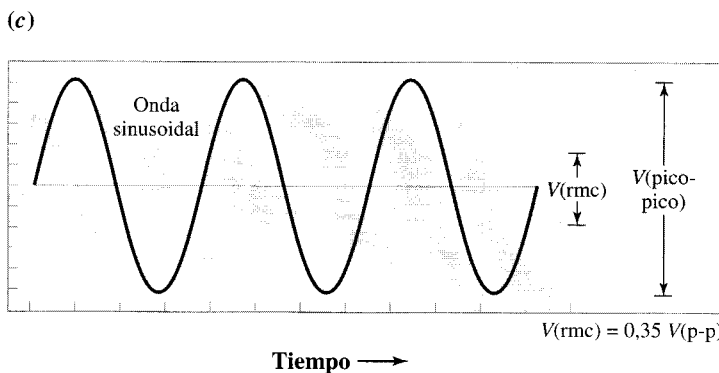
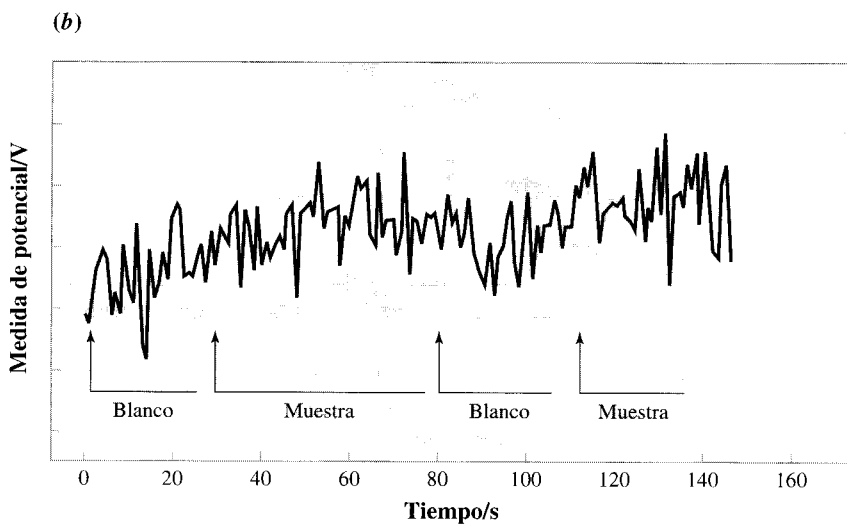
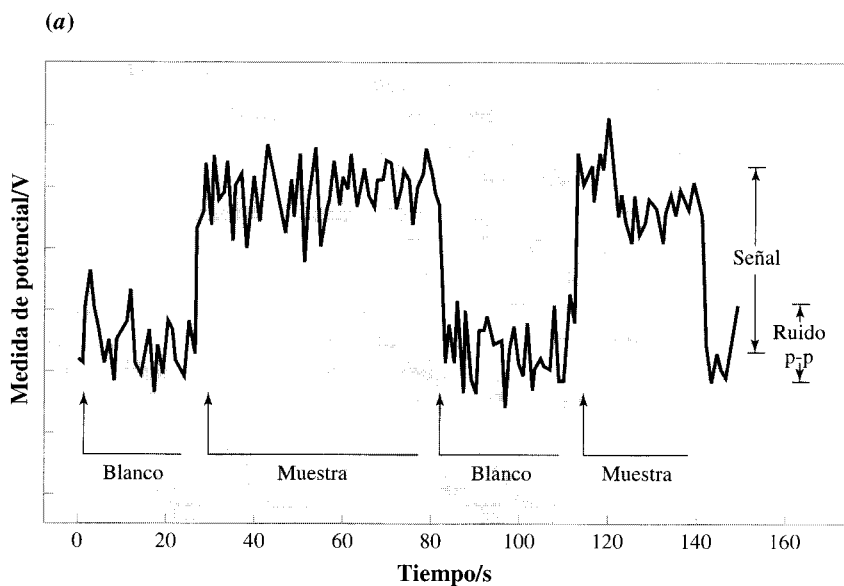


FIGURA 5.5 ►

Ilustración de los conceptos de relación señal-ruido y límite de detección.

La gráfica (a) muestra la medida de un instrumento cuando el ruido varía debido a que se intercambian muestra y un blanco. La señal y la media de pico a pico de los niveles de ruido se marcan a la derecha. En (b), la muestra contiene la décima parte de la concentración, y no se aprecian diferencias evidentes entre ella y el blanco. Hay unos picos en el ruido y la línea base presenta algo de deriva (la línea base no es estrictamente horizontal). La concentración de la muestra está por debajo del límite de detección del instrumento en las condiciones experimentales. En (c), si el ruido se trata como si fuese una onda sinusoidal, entonces el ruido se puede definir como la raíz cuadrada de la media de los cuadrados ruido voltaje (rmc).

Describamos brevemente cómo hacer una medida cuantitativa de la S/R. Una manera es que la magnitud del ruido sea la diferencia entre el potencial del ruido más alto y el más bajo. Esta medida se llama el potencial de **pico a pico** (V_{p-p}), que se señala en la Figura 5.5a. Alternativamente, se puede usar un valor medio del ruido. Para determinar el potencial medio del ruido, tratamos el ruido aleatorio como si el potencial variase sinusoidalmente, como se muestra en la Figura 5.5c. Para una onda sinusoidal, la media del potencial es la raíz cuadrada de la media de los cuadrados del ruido potencial. El valor numérico de la raíz cuadrada de la media de los cuadrados del ruido potencial (V_{rmc}) es

$$\begin{aligned} V_{rmc} &= \frac{0,707}{2} (\text{potencial de la onda sinusoidal de pico a pico}) \\ &= 0,35 V_{p-p} \end{aligned} \quad (5-1)$$

Esta relación se muestra en la Figura 5.5c. En las medidas de la relación señal/ruido debe especificarse el método utilizado para la obtención de la misma.

5.6. Parámetros de calidad y límite de detección

Consideremos esta pregunta: ¿Qué resultado tendríamos si no hubiese ruido en todo lo relacionado con las medidas analíticas? En ese caso, se podría hacer sin error una corrección perfecta del fondo, sin importar lo pequeña que sea la señal. Se podrían obtener resultados absolutamente precisos siempre. (A propósito, cualquier método con esta característica pronto sería el único método analítico usado aplicable a los analitos. ¡Además, la práctica del análisis químico sería mucho más simple!) Sin embargo, un experimento sin ruido es imposible. En conclusión, el nivel del ruido es una de las limitaciones para encontrar un método de análisis perfecto.

De manera similar, si la medida de la señal del fondo no es reproducible, la calidad del análisis se deteriora ya que no estaríamos seguros del valor del blanco, y no se sabría qué restar para corregir el fondo.

Finalmente, si el fondo es constante, pero el nivel de ruido es tan alto que no podemos determinar la magnitud del fondo, no se obtiene ninguna información a menos que se pueda reducir el ruido.

La conclusión que se saca de los tres párrafos anteriores es que la precisión y la exactitud de un ensayo dependen sobre todo de tres factores: la magnitud de la señal del fondo, la magnitud de la señal del analito y el nivel de ruido.

Estas ideas cualitativas raramente se incluyen en la información de los resultados, y sería importante incluir una medida cuantitativa de tales propiedades. Estos tres parámetros cuantitativos: la relación señal-ruido, la sensibilidad y el límite de detección, son parámetros de calidad. Un parámetro de calidad es un número *obtenido de medidas experimentales* que nos ayuda en la evaluación de un instrumento o técnica analítica.

Los parámetros de calidad son útiles para evaluar la calidad de los instrumentos. Sin embargo, para análisis químicos, la determinación experimental del límite de detección es probablemente el mejor parámetro de calidad ya que se basa en los tres criterios siguientes:

1. El límite de detección es un número único.
2. Se puede usar para comparar datos de diferentes laboratorios.

3. Cuando se calcula con cuidado, se puede usar para comparar casi todas las técnicas instrumentales empleadas en análisis químico.

El comité especial de la Sociedad Química Americana ha definido el límite de detección así¹:

El límite de detección es la concentración más baja de un analito que el proceso analítico puede detectar de forma fiable.

Una palabra importante en esta definición es *fiable*, que sugiere, correctamente, que el límite de detección se basa en un cálculo estadístico. Todavía existe controversia sobre el cálculo de los límites de detección de datos experimentales, como queda reflejado en la lectura de los informes publicados.

El límite de detección es un número que es o una medida de peso —por ejemplo, nanogramos de mercurio— o de concentración —por ejemplo, 2×10^{-7} M de cadmio—. Este número corresponde a la cantidad de analito que produce una *señal* que es de 2 a 3 veces el nivel de ruido rmc (aproximadamente igual al nivel de ruido p-p). En general, el límite de detección es un valor extrapolado y se calcula para las mejores condiciones posibles y con las mínimas interferencias. La señal medida más baja es de 3 a 5 veces el límite de detección.

Esto es,

... cuando los científicos investigan la medida de un límite de detección, lo hacen en las mejores condiciones posibles para obtener el valor más bajo que su instrumento es capaz de dar, por ejemplo, la matriz más simple (normalmente una sal de alta pureza disuelta en una disolución acuosa) y condiciones experimentales óptimas para el analito de interés.

Cuando consideremos los límites de detección, se deben tener presentes varios puntos:

- a. No se pueden hacer determinaciones cuantitativas al nivel de concentración del límite de detección. La precisión relativa del límite de detección será del $\pm 30\%$ al $\pm 50\%$ dependiendo de la definición usada.
- b. En casos simples, para determinaciones cuantitativas se requieren concentraciones de 5 a 10 veces el límite de detección.
- c. En muestras con matrices complejas, a menudo se requieren factores de 20 a 100 veces los límites de detección.

[Ref.: Parsons, M. L., Major, S., Forster, A. R. 1983. *Appl. Spec.* 37:411-418.]

Comparando límites de detección

Cuando se comparan límites de detección es necesario indicar la forma en que han sido obtenidos. Los límites de detección del instrumento solo —que se determinan utilizando analitos puros sin ninguna interferencia en la preparación de la muestra— se llaman, razonablemente, **límites de detección instrumentales**. Los límites de detección instrumental pueden ser extraordinariamente bajos. Por ejemplo, en emi-

¹ Comité de Mejora Medioambiental. 1980. *Anal. Chem.* 52:2242-2249.

sión de plasma acoplado inductivamente con espectrometría de masas (ICP-MS), los límites de detección *instrumental* para algunos elementos están en el intervalo de partes por trillón (por 10^{18}). Sin embargo, para muestras que requieren preparación, como digestión con ácido ultrapuro, un límite de detección más realista es de ppb. A pesar de ser un límite de detección muy bajo, todavía está lejos del límite de detección instrumental.

No es raro incluir los efectos de las etapas de preconcentración en los límites de detección. Por ejemplo, si un analito se concentra en un factor de 150 en la preparación de la muestra, el límite de detección instrumental encontrado experimentalmente se debe dividir por 150 y aplicarlo a la muestra original. Sin una descripción clara de qué parte(s) del análisis se tiene en cuenta en el cálculo del límite de detección, resulta difícil hacer una comparación directa entre métodos e instrumentos. Si en un informe no se incluye ningún detalle del cálculo del límite de detección, las comparaciones resultan inútiles.

También se requiere cuidado cuando se comparan límites de detección para trazas y microanálisis. Podemos encontrar un problema relacionado con la comparación entre concentraciones y cantidades de material. Por ejemplo, en una muestra acuosa, el límite de detección puede ser, por ejemplo, 1 ng mL^{-1} . Sin embargo, para una micro muestra sólida, la mínima cantidad detectable puede ser aproximadamente 1 ng. Éstos no se pueden comparar directamente.

Finalmente, debemos entender que el límite de detección está estrechamente relacionado con la desviación estándar de una serie de medidas, incluidos los blancos. Las relaciones estadísticas se describen con mayor detalle en la sección siguiente.

5.7. El límite de detección con más detalle

En esta sección se demuestra una definición más precisa y el cálculo del límite de detección. Para aclararlo es necesario establecer una serie de ecuaciones. Para comprender la derivación mostrada en esta sección, debe tenerse una imagen más clara de las suposiciones implícitas del concepto de límite de detección.

Como se señaló anteriormente, se necesita una aproximación estadística en la que entren tres factores importantes: los efectos del fondo, la sensibilidad del instrumento al analito y la relación señal-ruido (S/R). Una derivación rigurosa va un poco más allá del nivel de especialización de este libro. Por tanto, se presenta una demostración más sencilla.

En el tratamiento estadístico de los datos, la distribución del error se supone que es Gaussiana. Así, todas las reglas que aprendió en Capítulo 2 sobre la desviación estándar, expresada como s (para un número finito de experimentos) y σ (para un número muy grande de experimentos), las mantenemos aquí. Como con cualquier medida estadística, para sucesivos experimentos independientes, el valor del límite de detección será único *para unas condiciones experimentales específicas*. Se pueden encontrar límites de detección diferentes para distintas condiciones experimentales (por ejemplo, observar los puntos b y c de la cita de la página 156).

La distribución Gaussiana se describe en la Sección 2.6.

Las siguientes abreviaturas se usan en el desarrollo posterior:

- S_t representa la señal total que se obtiene de las medidas del instrumento.
- S_x representa la parte de la señal total que se debe al analito X. Ésta es la señal neta.
- S_b es la parte de la señal total que se debe al blanco (línea base).

- S_L es la señal correspondiente al límite de detección.
- C_x es la concentración del analito.
- σ_b es la desviación estándar de las medidas del blanco para un número finito de experimentos. (Aquí, σ_b se usa para evitar confundirla con s_b , siendo su nomenclatura verdadera S_b .)
- c_L es la concentración del analito en el límite de detección, o, simplemente, el límite de detección.

Se supone que los datos determinados experimentalmente se ajustan a una línea recta. Tal ajuste se muestra en la Figura 5.6. La recta de calibrado tiene una pendiente que equivale a la sensibilidad analítica. Nombramos la pendiente (sensibilidad) con la letra g . Algebraicamente, la sensibilidad se relaciona simplemente con la concentración del analito. Eso es:

$$S_x = gC_x \tag{5-2}$$

Ahora suponemos que la señal que se mide se puede expresar como la suma de las señales del fondo y del analito. Algebraicamente, esto es:

$$S_t = S_b + S_x \tag{5-3}$$

Combinando estas dos ideas —y estas dos ecuaciones— obtenemos una expresión para la señal total:

$$S_t = S_b + gC_x \tag{5-4}$$

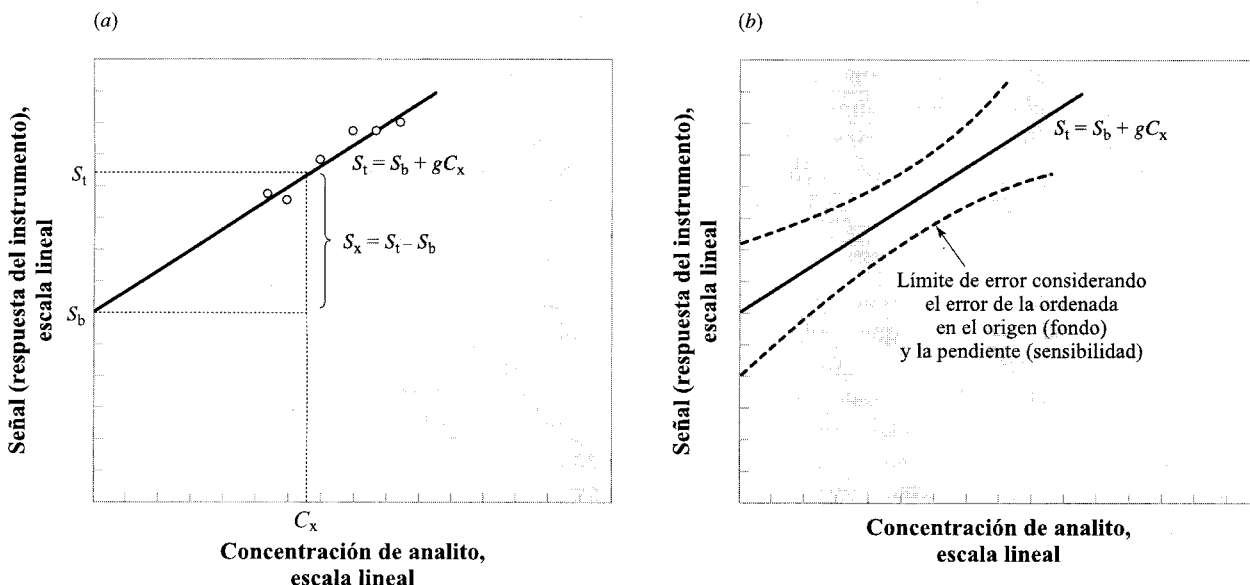


FIGURA 5.6 ▲ Gráfica de la señal instrumental en función de la concentración de analito.

(a) El valor S_b es la señal debido sólo al blanco por extrapolación de los datos. Se supone una relación lineal.
 (b) La línea sólida es la misma gráfica anterior. Las líneas discontinuas indican los límites de error a unos niveles de confianza indicados. La curvatura es intencionada y debida al hecho de que los extremos de la línea recta variarán a partir de la mitad con un cambio de pendiente de la recta.

Ésta es la ecuación de la recta de la Figura 5.6a. Observemos que esta ecuación tiene en cuenta dos de los tres factores involucrados en la determinación del límite de detección —la sensibilidad del instrumento y los efectos de la señal de fondo.

Debemos entender dos puntos de la Ecuación 5-4. Primero, es una descripción correcta *sólo* si no hay errores determinados tales como estándares incorrectos o blancos con $S_t \neq S_b$. Segundo, es verdadera sólo si el fondo se mantiene constante para todas las muestras y estándares.

Debe estar claro que si los puntos anteriores fuesen verdaderos, cualquier cantidad de analito, no importa lo pequeña que sea, sería detectable. Como se sabe, siempre hay unos errores asociados a la determinación de las señales del fondo y del analito para muestras e instrumentos. Y ése es el punto crucial. Los errores aleatorios se pueden determinar y describir con un límite de confianza (L.P.).

La Figura 5.6b muestra la misma gráfica pero indicando los límites de confianza con líneas discontinuas. Éste *podría* ser un 95% L.P., pero el valor específico no es importante aquí. Lo que es significativo es que la concentración del analito en la ordenada en el origen es dudosa debido a errores en la medida. Observemos que esta ordenada en el origen determina la magnitud de la señal del fondo. Como resultado, el nivel del fondo es dudoso. Ahora hacemos una suposición razonable: las magnitudes de los errores tienen una distribución normal (Gaussiana). Los resultados, entonces, se pueden expresar como muestra la Figura 5.7.

En la citada figura, la distribución de las medidas del fondo es una curva Gaussiana (un histograma de los resultados). La curva Gaussiana se caracteriza con una media y una desviación estándar, que representan el valor medio y el error estadístico de la señal del fondo. La escala izquierda de la gráfica representa la escala de la señal medida.

Al lado derecho de la figura está la escala de la señal debida al analito *solo*. En el cero está el *valor medio* de la señal del fondo, que tiene el comportamiento esperado. En otros términos, para el mejor ajuste de la recta, la ordenada en el origen S_b sucede en la media aritmética de la señal del fondo.

La pregunta que ahora formulamos es ésta: ¿Cuánta señal de analito necesitamos para estar *seguros* de que podemos observarlo? Aquí la certeza estadística se expresa como un límite de confianza, y, *por definición*, el límite de detección de la señal del analito es del 99,7% L.P. Esto es, tres veces la desviación estándar del fondo. La magnitud de la señal en el límite de detección ($S_b + 3\sigma_b$) se indica en la Figura 5.7.

Las ideas del párrafo anterior se pueden expresar mediante la siguiente ecuación algebraica:

$$\text{señal del analito en el límite de detección} = S_L = S_t - S_b \geq 3\sigma_b \quad (5-5)$$

Sin embargo, esta expresión concierne sólo a la señal y no a la concentración del analito. Para calcular el límite de detección en términos de concentración c_L , se debe incluir la sensibilidad. Recordemos, de la Ecuación 5-2, la sensibilidad g relaciona la señal y las concentraciones, así

$$c_L = \frac{S_L}{g} \geq \frac{3\sigma_b}{g} \quad (5-6)$$

donde el valor de S_L viene de la Ecuación 5-5. La Ecuación 5-6 se cumple para el límite de detección en las condiciones específicas durante la toma de datos.

Recordemos que el límite de detección depende de tres factores: los efectos del fondo, la sensibilidad del instrumento al analito y la relación señal-ruido (S/R). Sin embargo, la relación S/R no parece estar en la Ecuación 5-6. ¿Qué sucedió con ella? La respuesta es que los efectos del ruido aparecen en el valor de σ_b , la desviación estándar.

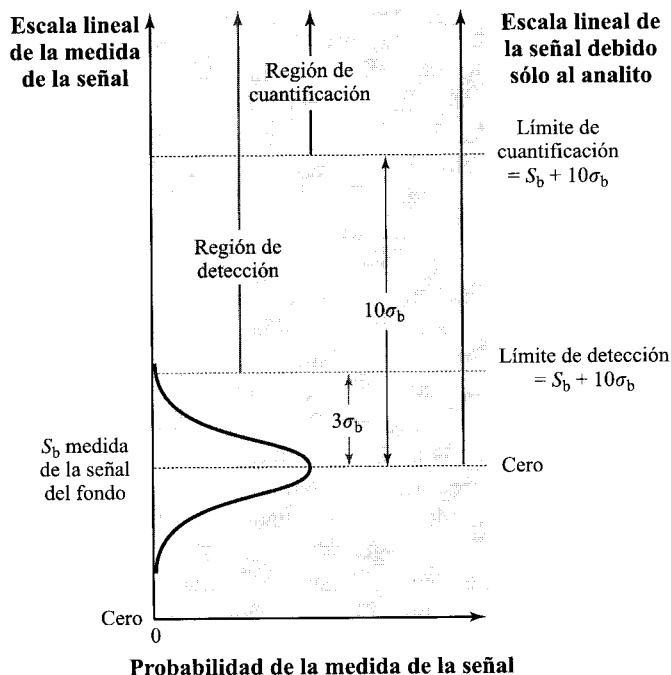


FIGURA 5.7 ▲
Ilustración de la relación entre la distribución del error de las medidas del fondo, el límite de detección y el límite de cuantificación.

El término límite de detección tiene un uso más amplio que el límite de cuantificación. La señal total medida se representa en la escala de la izquierda, mientras que la señal debida sólo al analito está a la derecha.

Como vimos anteriormente, cuando el nivel de ruido aumenta, el valor del fondo resulta más difícil de determinar. En otras palabras, si el nivel de ruido aumenta, el valor de σ_b debe aumentar. Entonces, el límite de detección aumentará proporcionalmente.

En condiciones experimentales fijas es más difícil determinar la concentración de un analito que simplemente determinar su presencia o ausencia. Como se muestra en la Figura 5.7, la **región de cuantificación** se define cuando la señal está por encima del límite de cuantificación. El **límite de cuantificación** se encuentra donde la señal debida sólo al analito es 10 veces la desviación estándar de la señal del fondo.

$$S_x = 10\sigma_b \quad (5-7)$$

El término **límite de cuantificación**, aunque se encuentra muy establecido, no tiene un uso tan amplio como el límite de detección.

Bibliografía recomendada

ALFASSI, Z. B., WAI, C. M. 1992. *Preconcentration Techniques for Trace Elements*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
 Contiene capítulos dedicados a los métodos usuales de precon-

centración para análisis elemental y orgánico. Una buena fuente de literatura con recomendaciones para problemas específicos. Una referencia útil.

MIZUIKE, A. 1983. *Enrichment Techniques for Inorganic Trace Analysis*. Berlin: Springer-Verlag.

Un libro sumamente útil que reúne un amplio grupo de técnicas. Figuras de los aparatos, referencias de literatura, y un gran número de tablas útiles se incluyen para permitir acceder a conocimientos sobre el campo, desgraciadamente sólo hasta 1982.

HOWARD, A. G., STATHAM, P. J. 1993. *Inorganic Trace Analysis: Philosophy and Practice*. Chichester: John Wiley & Sons.

Un libro único. Escrito de manera informal y de carácter práctico.

VANDECASTEELE, C., BLOCK, C. B. 1993. *Modern Methods for Trace Element Determination*. Chichester: Wiley.

Texto análogo al anterior pero útil por su enfoque en métodos espectrométricos para el análisis de trazas. De fácil lectura. El capítulo de espectrometría de masas es particularmente completo en su nivel.

BEYERMANN, K. 1984. *Organic Trace Analysis*. Chichester: E. Horwood, and New York: Halsted Press.

Un estudio de las diferentes técnicas utilizables para análisis de trazas orgánicas. Se incluyen algunos métodos experimentales de preparación de la muestra.

SKOGERBOE, R. K., MORRISON, G. H. 1971. In *Treatise on Analytical Chemistry*. Pt. 1, Vol. 9. I. M. KOLTHOFF and P. J. ELVING, eds. New York: Wiley-Interscience. Chap. 100.

Una guía de los métodos usados en análisis de trazas.

LAWRENCE, J. F., ed. 1980. *Trace Analysis*. Vol. I; New York: Academic Press.

Una serie anual de artículos publicados sobre técnicas y análisis de trazas orgánicas e inorgánicas.

MINCZEWSKI, J., CHWASTOWSKA, J., DYBCZYNSKI, R. 1982. *Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis*. Chichester: E. Horwood, and New York: Halsted Press.

A pesar de su título, este libro es principalmente una cobertura exhaustiva de la extracción líquido-líquido y el intercambio iónico, para la preconcentración de especies inorgánicas.

BOWMAN, R. L., VUREK, G. G. 1984. «Analysis of Nanoliter Biological Samples.» *Anal. Chem.* 56:291A-305A.

Un repaso fascinante y corto sobre cómo manejar muestras líquidas en volúmenes de nanolitros.

MORRISON, G. H. 1971. *Anal. Chem.* 43 (7):23A-31A.

Un repaso del informe del análisis de rocas de la Luna.

TREIMAN, A. 1996. *Science*. 272:1447-8.

Describe el análisis de roca marciana.

Revisión de conceptos

- ¿Qué diferencia hay entre la sensibilidad y el límite de detección?
- Diferénciese entre límite de detección, límite de cuantificación y límite de detección instrumental.
- ¿Qué relación hay entre el ruido pico-pico y el ruido rmc?

Ejercicios

5.1. Clasifíquense los siguientes ejemplos según las definiciones de la Figura 5.1.

- Plomo como óxido de plomo en un trocito de pintura de 1 cm × 1 cm × 0,5 mm de una casa vieja. (Estas pinturas llevaban a veces más del 50% de plomo en peso.)
- Niveles en micromoles de dopamina en una muestra de 10 mg de cerebro de rata.
- Niveles de sodio en 2 mL de sangre. (El contenido normal de Na⁺ en sangre es de 140 mM.)
- El nivel de toxina nerviosa en un residuo de café del fondo de una taza que está al lado de la cama de una víctima de asesinato. (Algunas toxinas son letales en cantidades menores de 100 µg por kg de peso corporal.)

5.2. Se quiere determinar Mn en 100 mL de disolución, las impurezas orgánicas se eliminaron tratando la muestra con 10,0 mL de ácido nítrico y luego diluyendo a 100,0 mL

con agua desionizada. ¿Cuál es la concentración mínima de Mn (en ppm) en una muestra de 100,0 mL que podría ser detectada fiablemente (Mn > 10 veces la cantidad de Mn en el fondo debido a la contribución del ácido) si usamos la muestra 1 de ácido del proveedor 3 de la Tabla 5.1a?

- Supóngase que se está analizando la presencia o ausencia de Ni en un intervalo de 0,1 ppb (p/p) en 2 g de muestra de tejido biológico. El tejido se obtuvo con un escalpelo de metal que tiene 10% Ni.
 - ¿Qué masa del escalpelo que frotó la muestra contribuiría con una contaminación de Ni de 0,1 ppb?
 - Supóngase que la densidad del acero es 7,0 g cm⁻³ y que el material perdido del escalpelo es un trozo perfectamente cúbico. ¿Qué longitud tiene el lado del cubo?

5.4. El polvo recogido en un filtro de laboratorio se analiza, obteniéndose los siguientes resultados:

Elemento	Contenido (% peso)
Ca	10
Si	5
Fe	3
Al	1,5
Ni	1,5
K	1
Mg	1
Cu	0,5
Mn	0,5
Otros	Trazas

Una partícula de polvo, que es una esfera perfecta con un diámetro de $100 \mu\text{m}$ y una densidad de 2 g cm^{-3} , se deposita en 10 mL de la muestra acidulada y se disuelve.

- (a) Si se fuera a determinar el contenido de hierro en la muestra en niveles de 10 ppm, ¿se verían los efectos de esta partícula de polvo?
- (b) Si se analizasen trazas de Si al nivel de 1 ppm, ¿qué tamaño esférico tendría la partícula de polvo para contener una cantidad de Si igual a la que se obtuvo en la muestra?
- (c) ¿Se podría analizar correctamente el Mn a niveles de ppb en un 1 g de muestra si ésta contuviera una partícula de polvo esférica de $100 \mu\text{m}$ (con la composición que aparece en la tabla)? (En otras palabras, el contenido de Mn estaría dentro del 5% del valor verdadero.)
- 5.5. El carbón activo se puede usar para concentrar trazas de metales. Los metales se adsorben en disolución básica y se desorben con ácido. La disolución usada para desorber los iones se analizó posteriormente. En las condiciones experimentales, se obtuvieron las recuperaciones que se muestran en la tabla. Además, se encontraron algunas impurezas del carbón, cuyas cantidades dependen de la cantidad de carbón usado. Los niveles de impurezas en el carbón aparecen a continuación:

Elemento adsorbido	% de recuperación	Impurezas en el carbón ($\mu\text{g/g}$)
Zn	85	<1
Cu	96	18
Ni	98	19
Mn	98	150
Ag	92	<0,2
Cd	96	<0,1
Pb	92	2,3

Se emplearon 0,5 g de carbón para la muestra. El carbón se lavó con ácido de manera que 10 mL del blanco proporcionó una señal no superior al 1% del total de las impurezas presentes en el carbón. (Esto significa que no se lixiviará

más del 1% de cada impureza del carbón en la disolución ácida durante el análisis.) Se pasaron por el carbón activo 500 mL de la disolución conteniendo los metales y una vez adsorbidos se desorbieron con 10,0 mL.

- (a) Si las recuperaciones son del 100%, ¿cuánto más concentrada está la disolución eluida que la muestra?
- (b) ¿Cuáles son las concentraciones metálicas en 500 mL de disolución blanco si el 1% de las impurezas metálicas del carbón se encuentra en 10 mL de la disolución que desorbe?
- (c) Se usaron como estándares muestras con 10 ppb de cada uno de los elementos. Se considera que el método analítico se puede usar si las muestras tienen cinco veces las concentraciones del blanco del carbón. ¿Se pueden analizar todos los metales en el intervalo de 10 ppb?
- 5.6. Se considera que un método analítico de trazas tiene una desviación estándar relativa inherente del 2% por errores aleatorios. Tenemos una muestra con un contenido bajo del componente a analizar. Medimos varios blancos y varias muestras y se encuentra que la medida de la muestra está sólo un 25% por encima del nivel del blanco. En otras palabras, cuando se analiza el contenido de una muestra, la medida (la media) consiste en un valor del fondo que es el 80% de la medida, considerando que el contenido de la muestra es el 20% del total.
- (a) ¿Cuál es la desviación estándar relativa del contenido de la muestra? (Obsérvese que el 2% RSD se aplica a las medidas del fondo así como a las de la muestra.)
- (b) ¿Cuál es la RSD del contenido de la muestra si la medida de la muestra es igual a la del blanco?
- 5.7. La Tabla 5.7.1 de la página siguiente muestra los resultados de las determinaciones del contenido inorgánico de disolventes orgánicos empleados habitualmente. [Datos de Jacobs, F. S., Ekambaram, V., Filby, R. H. 1982. *Anal. Chem.* 54:1240.] Se determinan los elementos inorgánicos traza en aceite de arena aceitosa. El método incluye la extracción con un disolvente orgánico seguida de una cuantificación multielemental. Los elementos mayoritarios son Co, Fe, K, Na, V y Zn.
- (a) Considérese que la extracción del aceite se hace por calefacción y mezcla de la arena con aceite con un volumen fijo de disolvente y que la extracción es cuantitativa. Supóngase que el análisis instrumental se hace directamente en la disolución. Si no hay ninguna interferencia para el análisis del Zn, ¿cuál sería el mejor disolvente para determinar sólo Zn?
- (b) Si en el método de análisis hay un gran número de interferencias de Na, ¿qué disolvente(s) sería el más adecuado?
- (c) Si se puede corregir totalmente la interferencia de Na, ¿qué disolvente sería mejor usar?
- (d) Supóngase que la solubilidad de los componentes orgánicos de la muestra es diez veces mayor en metanol que en cualquier otro disolvente. Como resultado, sólo se necesita la décima parte de disolvente para la extracción. ¿Cómo se respondería a los apartados (b) y (c) en este caso?

Tabla 5.7.1. Niveles máximos de concentración de elementos traza en disolventes orgánicos representativos (en ng/l) (los ceros los colocan sólo los fabricantes)

Elemento	Hexano	Tolueno	Cloroformo	Metanol	Éter
As	39	200	16	4200	9,1
Br	10	230	13	140	50
Ce	200	120	200	200	200
Cl	20000	10000	40000	1800	30000
Co	90	72	90	90	90
Cr	170	6700	70	490	140
Cs	30	30	30	30	30
Eu	20	20	20	20	20
Fe	7000	71000	10000	7000	5000
Ga	30	300	40	200	50
Hf	20	20	20	20	20
Hg	0,7	59	25	0,7	0,3
K	3000	250000	10000	9000	1000
La	0,6	100	40	50	4
Mn	500	4200	700	700	40
Mo	400	2000	400	1000	400
Na	4800	390000	2500	99000	580
Sb	4	4	8	40	40
Sc	2,6	22	2,2	1,1	0,5
Se	10	10	60	7	80
Sm	2	7,6	1,9	5	3
Tb	5	6	6	5	5
Th	20	35	30	20	20
V	9000	8000	20000	10000	20000
Zn	40	17000	200	2700	580
Zr	200	600	1000	700	2000
Total inorgánicos ($\mu\text{g/L}$)	45,3	759	85,0	137	37,1

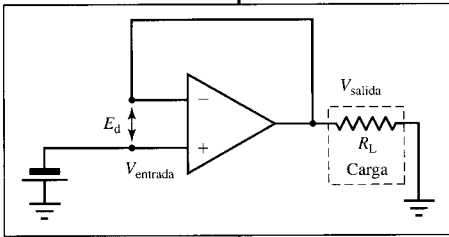
- (e) Supóngase que se hace el análisis de los seis elementos mayoritarios. Los seis están presentes en el mismo intervalo de concentración, y se usaría el mismo volumen de disolvente para su extracción. ¿Qué disolvente de los de la tabla se descartaría debido a su alta contribución al fondo?
- (f) ¿Se puede decidir el mejor disolvente que se puede usar sin determinar el intervalo general de cada uno de los seis elementos más importantes?

5.8. El bitumen (fase orgánica) se extrajo de diez gramos de arena con aceite de Athabasca con 1000 mL de tolueno usando un extractor soxhlet (como el que se representa en la Sección 4.4). El disolvente se elimina con un rotavapor, y los elementos traza del bitumen se analizan mediante análisis por activación neutrónica. Los valores medidos para nueve elementos se muestran en la tabla de la derecha, junto con las desviaciones estándar de las medidas.

- (a) Supóngase que los números del límite superior de la Tabla 5.7.1 son ciertos y exactos. Corríjanse los datos del bitumen con el fondo.

Elemento	Concentración observada (ng/g)
Br	276 ± 20
Co	239 ± 28
Fe	242.000 ± 17.000
Mn	4.760 ± 210
Hg	31 ± 5
Cr	854 ± 70
K	44.300 ± 2.900
Na	21.200 ± 1.600
Zn	2.730 ± 140

- (b) ¿Algunos de los valores corregidos están fuera del intervalo $\pm 2\sigma$ para los valores observados?
- (c) ¿El valor del contenido de Na de la muestra tiene algún sentido si se hace una extracción con tolueno?
- 5.9. El fabricante de un instrumento registra como límite de detección de un detector 1 pg para un analito específico ($MW = 100 \mu$) en condiciones óptimas. Si el detector tiene un volumen de $2,5 \mu\text{l}$, ¿cuál es el límite de detección en términos de
- (a) molaridad?
- (b) ppb (p/v)?
- 5.10. Una muestra de 600 L de aire a 25°C y 1,00 atm se ha bombeado a través de una trampa que contiene una fase sólida, que atrapa los VOC del aire. Los analitos se desorben a 200°C durante un período de tiempo de 12 segundos empleando helio como gas portador, que está saturado con vapor de hexano, y a un caudal de 10 mL/min. El helio se pasó luego a través de 10,0 mL de hexano, que disolvió los VOC. ¿Cuál es el factor de preconcentración del VOC?
- 5.11. (Se necesita la información de la Sección 5.7.) Si suponemos que el ruido del instrumento es la mayor contribución a σ_b en un análisis instrumental, que el ruido pico-pico del instrumento es 0,20 mV, y que el factor respuesta para el analito es $1,25 \text{ mV}/\mu\text{M}$, ¿cuál es la concentración del límite de detección? (Sugerencia: ¿Cuál de las definiciones de la S/R refleja el valor del ruido aleatorio?)



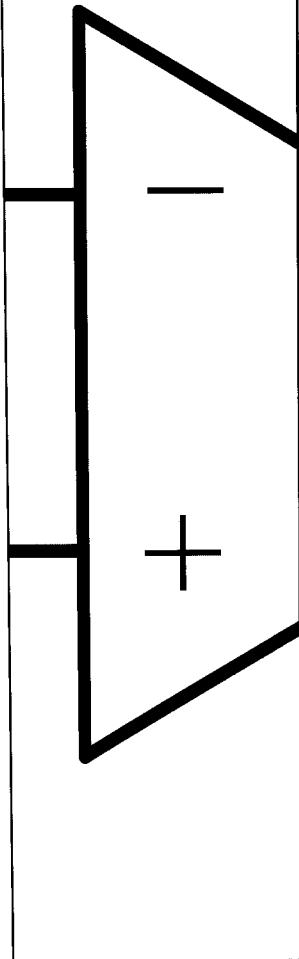
Electrónica y ruido

Contenido

- 6.1. Introducción
- 6.2. Corriente continua (CC), potencial y resistencia
- 6.3. Potencia
- 6.4. Las leyes de Kirchhoff
- 6.5. Respuestas de los circuitos dependientes del tiempo
- 6.6. Relaciones señal-ruido
- 6.7. Tipos de ruido
- 6.8. Amplificadores y amplificación
- 6.9. Límite de detección con un detector multicanal

Profundizando

- 6A. Símbolos electrónicos
- 6B. Breve introducción a la nomenclatura de la lógica digital
- 6C. Condensadores, inductores y corriente alterna (CA)



6.1. Introducción

El análisis instrumental actual no existiría sin las posibilidades que brinda el uso de instrumentos electrónicos. La mayoría de estos instrumentos contiene un **transductor/detector** y un **procesador de señal** en comunicación con un microprocesador o una computadora.

En resumen, los transductores convierten los cambios de temperatura, concentración, presión, volumen o luminosidad en señales eléctricas. En condiciones óptimas, esta respuesta será exactamente proporcional a la cantidad de analito.

El procesador de señal convierte la señal eléctrica obtenida de uno o más transductores en una forma más conveniente para su salida. La información se modifica a partir de cambios de intensidad de corriente o potencial a un tipo de información más fácil de utilizar en el análisis; por ejemplo, una pantalla digital de concentración de analito. Los procesadores de señal más sofisticados también pueden diferenciar entre la información de interés y las señales inútiles. Actualmente, esta diferenciación ha llegado a ser tan precisa que en condiciones especiales y para un átomo o molécula específicos se puede conseguir detectar la presencia o ausencia de una sola molécula o átomo.

En el Capítulo 17 puede verse más sobre procesador de señal.

Las computadoras se programan para manipular, convertir y almacenar los datos obtenidos. No son tan imprescindibles como los transductores, pero con la utilización de procesadores de señal electrónicos para convertir la información en digital, muchos instrumentos modernos se apoyan totalmente en el control computerizado. La capacidad de almacenamiento, manipulación y disgregación de información de estas computadoras las ha hecho impulsoras de la alta productividad de los análisis químicos actuales. Los costes de un análisis químico sin la capacidad de manipular y procesar datos de una computadora, serían mucho más elevados que los actuales.

Asimismo las computadoras también han mejorado la calidad de los análisis facilitando las correcciones de línea base y la comparación de resultados. Esta facultad ayuda al desarrollo de métodos; por ejemplo, ayudando a discernir la causa por la que un análisis no funciona correctamente. Los instrumentos que utiliza una computadora son, además, significativamente más precisos en análisis repetitivos, pero antes, tanto la toma de muestras como su preparación deben ser realizadas correctamente.

Aparte de en el Capítulo 17, no volveremos a mostrar las capacidades de las computadoras o de los procesadores de señal; sin embargo, estudiaremos en detalle los transductores y los detectores. Las limitaciones y las posibilidades de estos últimos determinarán las exigencias, ventajas y desventajas de los métodos analíticos en los que se utilicen. Después de todo, si una reacción de la muestra hace que el detector responda a la especie química equivocada, ni siquiera los instrumentos más sofisticados o las computadoras a las que están conectados lograrán que se consigan datos útiles.

Para comprender el funcionamiento de los detectores y la manera en que transforman la información, son necesarios ciertos conocimientos de electrónica, por lo que en este capítulo se incluye una pequeña introducción a este campo. Su contenido, comprende el comportamiento de los circuitos y dispositivos en los que la corriente circula siempre en la misma dirección. Este tipo de corriente se denomina corriente continua o CC.

Para asignar la dirección de una corriente se pueden utilizar dos convenios. El primero propone que la corriente resulta de los electrones, y por lo tanto circula de negativo a positivo. Esta definición es utilizada por la mayoría de químicos y electroquímicos. Tanto ingenieros eléctricos como físicos siguen el segundo convenio, por el que la corriente circula de positivo a negativo. En la práctica, el uso de estos dos convenios hace

que las flechas representativas de la corriente sean opuestas, y que sus signos en los cálculos algebraicos cambie. En este capítulo, elegimos el segundo convenio y, por tanto, la corriente fluye de potenciales más positivos a potenciales más negativos.

6.2. Corriente continua (cc), potencial y resistencia

Cualquier dispositivo electrónico, por complicado que parezca, ha sido concebido para manipular los flujos de la corriente eléctrica. La magnitud de la corriente depende del potencial eléctrico (potencial) y de la resistencia a esta circulación. El Potencial, la Corriente y la Resistencia se relacionan por la **ley de Ohm**. La expresión algebraica de esta relación es:

$$V = IR \quad \text{o} \quad I = V/R \quad (6-1)$$

donde:

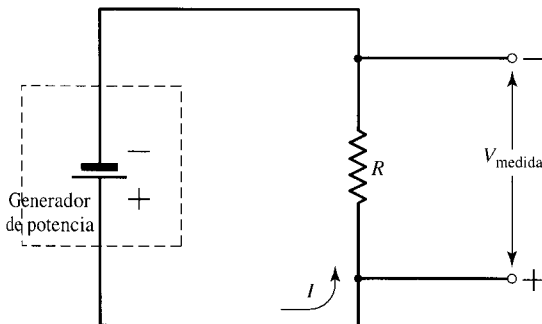
V es el potencial en **Voltios (V)**

R es la resistencia en **Ohmios (Ω)**

I es la intensidad de corriente en **Amperios (A)**

La segunda ecuación expresa que con un potencial V situado en una resistencia R , la intensidad de la corriente eléctrica será I . O, como muestra la primera ecuación, el potencial a través de la **resistencia** es igual al producto I por R . Así pues, el potencial que se mide a través de una resistencia se denomina caída IR . La Figura 6.1 muestra un circuito que confirma la ley de Ohm; este tipo de figuras se llaman **Esquemas** o **Diagramas** del circuito. La ley de Ohm se aplica a resistencias simples de compuestos de carbono o hilos metálicos y a dispositivos como bombillas, **rectificadores** y **transistores** que muestran relaciones relativamente complicadas entre el potencial aplicado y la intensidad de corriente. En los dispositivos más modernos la intensidad de la corriente cambia porque la resistencia depende de la intensidad de corriente y del potencial aplicados.

Si en las siguientes secciones, el lector tiene problemas para entender el comportamiento de las diversas partes de los circuitos, puede resultarle más fácil pensar en términos del flujo de un líquido o fluido en lugar de una corriente eléctrica. Los comporta-



◀ FIGURA 6.1
Diagrama de un circuito para comprobar la ley de Ohm.

Los símbolos del esquema se definen en la Sección 6A. La corriente circula de $-$ a $+$ dentro de la batería, y de $+$ a $-$ a lo largo del circuito y a través de la resistencia. Se admite que los cables son conductores perfectos. En este circuito:

$$V_{\text{medida}} = V_{\text{fuente}}$$

mientos de la corriente eléctrica y del flujo de un fluido son análogos. El potencial se asemejaría a la presión y así, al igual que un líquido fluye a lo largo de una tubería más rápido cuanto mayor sea la presión, la corriente eléctrica circula más rápido con mayor potencial. También la resistencia puede ilustrarse con una analogía similar: comparemos absorber un batido muy denso por una pajita ancha con absorberlo por una pajita fina. Esta diferencia es paralela a la diferencia existente entre forzar el paso de los electrones por un cable fino o grueso. Asimismo, el volumen de fluido sería análogo a la cantidad de carga eléctrica y el flujo de esta corriente (número de cargas que pasan por un punto por unidad de tiempo) sería similar al caudal de un fluido (volumen de fluido que pasa por un punto por unidad de tiempo).

6.3. Potencia

La energía necesaria para mover un electrón a través de un potencial de 1V se denomina electrón-voltio ($1 \text{ eV} = 1,602 \times 10^{-19} \text{ J}$). El signo algebraico de la energía depende de si el electrón debe ser forzado a través del potencial o si espontáneamente lo atraviesa en dirección opuesta.

Si el electrón recorre una resistencia (empujado por la fuerza de un potencial) pierde energía en forma de calor, y además la energía se conserva. La manera más usual de expresar esta pérdida de energía es como una velocidad de producción de energía, es decir, como **potencia**, y:

$$\text{Potencia} = P = VI \quad (6-2)$$

Cuando

V es el potencial a lo largo de la resistencia

I es la corriente (en amperios)

[1 amperio = $6,241 \times 10^{18}$ electrones/segundo],

entonces P tiene unidades de vatios (W) (1 vatio segundo = 1 julio).

La Ecuación 6-2 define la potencia vista desde fuera de la resistencia: como **potencia disipada**. Esta expresión significa que la energía es perdida desde el circuito hacia sus alrededores (por ejemplo, el aire o los dedos si se toca); se puede comprobar que la resistencia se calienta. Otro término utilizado para una resistencia es **carga**.

Se pueden obtener algunas ecuaciones alternativas a estas para expresar la disipación de energía combinando 6-1 y 6-2:

$$P = I^2R = V^2/R \quad (6-3)$$

EJEMPLO 6.1

Una fuente lumínica tiene una resistencia de 160Ω y es atravesada por un potencial de 100 V. ¿Cuál es la potencia disipada en vatios? ¿Qué intensidad de corriente pasa por la bombilla?

Solución:

Sustituyendo en la Ecuación 6-3,

$$P = (100 \text{ V})^2/160 \Omega = 62,5 \text{ W}$$

La corriente se halla resolviendo

$$I = P/V = 62,5 \text{ W}/100 \text{ V} = 625 \text{ mA}$$

6.4. Las leyes de Kirchhoff

Para caracterizar completamente los circuitos de corriente continua, se necesitan dos normas adicionales: las **leyes de Kirchhoff**. (En realidad, estas normas no son leyes propiamente dichas, sino corolarios de dos leyes fundamentales de la física: la conservación de la carga y la conservación de la energía.)

1. *La suma algebraica de las corrientes en cualquier nudo es cero.*

En lenguaje matemático: $\sum_n I_n = 0$ (conservación de la carga)

Véase la Figura 6.2 para ilustrar esta expresión.

2. *La suma algebraica de las diferencias de potencial alrededor de una malla completa de un circuito es cero.*

En lenguaje matemático: $\sum_n V_n = 0$

Ya vimos un ejemplo de esta segunda ley en el circuito de la Figura 6.1. Si se comienza desde cualquier punto de una malla y se traza a su alrededor un bucle cerrado, la suma de los potenciales a lo largo de este bucle debe ser cero. Puede comprobarse esta ley en cualquiera de los esquemas de circuitos en este capítulo.

A continuación exponemos un ejemplo para ilustrar la primera ley de Kirchhoff. Examinamos dos circuitos consistentes en una batería y dos resistencias cada uno. Como muestran las Figuras 6.3 y 6.4, las dos resistencias se pueden conectar al circuito de dos maneras: **en serie** (consecutivamente) o **en paralelo** (los extremos conectados).

Resistencias en serie: potencial dividido

El circuito de la Figura 6.2, con dos resistencias en serie, se denomina **Divisor de Potencial**. El divisor de potencial hace lo que sugiere su nombre: produce un potencial

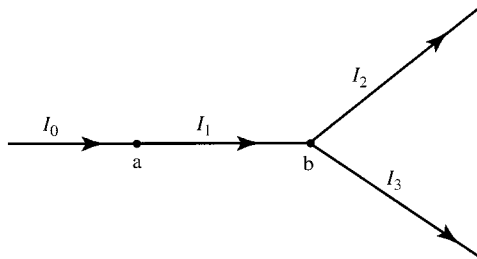


FIGURA 6.2 ▲

Ejemplo de la primera ley de Kirchhoff.

La suma algebraica de las corrientes en cualquier nudo es cero. En la figura se representan dos nudos, a y b.

En el nudo a, $I_0 = -I_1$ o bien $I_0 + I_1 = 0$

En el nudo b, $I_1 = -I_2 - I_3$ o bien $I_1 + I_2 + I_3 = 0$

Las flechas indican la dirección de la corriente positiva en los conductores.

FIGURA 6.3 ►
Aplicación de la ley de Ohm a dos resistencias en serie.

La corriente es la misma a lo largo de las dos resistencias. La caída de potencial total a través de las dos resistencias es igual a la suma de las caídas de potencial a través de cada una de ellas. Los cables se suponen conductores ideales, y la corriente tiene la dirección de la flecha I . Las expresiones que relacionan las resistencias, las caídas de potencial y las intensidades se muestran en el texto.

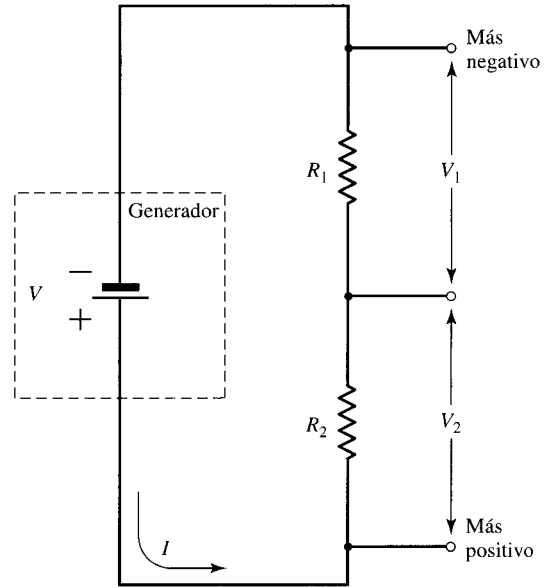
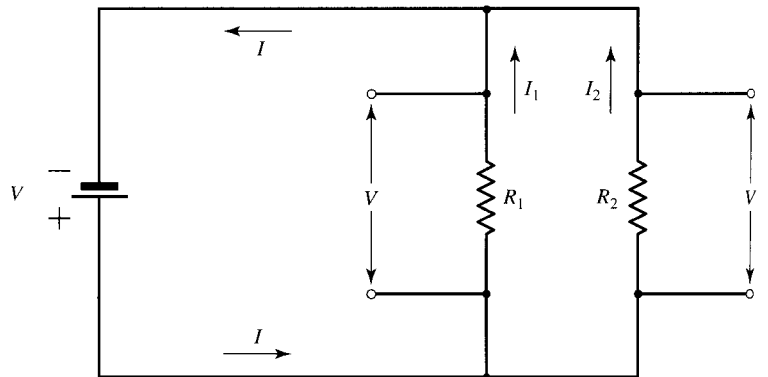


FIGURA 6.4 ►
Aplicación de la ley de Ohm a dos resistencias en paralelo.

La caída de potencial a través de cada una de las resistencias es la misma. La corriente a lo largo de cada una de las resistencias depende del inverso del valor de esa resistencia. Los cables se suponen conductores ideales, y la corriente tiene la dirección de la flecha señalada como I . Las expresiones que relacionan las resistencias, las caídas de potencial y las intensidades se muestran en el texto.



que es una fracción del potencial de referencia. Se pueden encontrar estos divisores de potencial en casi cualquier circuito electrónico que se utilice. El comportamiento de un circuito puede predecirse por aplicación directa de la ley de Ohm. Como los cables se suponen conductores ideales, es decir sin resistencia, podemos aplicar esta ley a cada una de las resistencias:

$$V_1 = IR_1$$

$$V_2 = IR_2$$

Para el generador se debe decir:

$$V = IR_{\text{tot}}$$

Con estas ecuaciones se puede expresar R_{tot} como función de R_1 y R_2 . Sumamos las dos primeras ecuaciones.

$$V_1 + V_2 = I(R_1 + R_2) = V$$

La suma $V_1 + V_2$ debe ser igual al potencial de la fuente V . Así obtenemos:

$$R_{\text{tot}} \text{ (en serie)} = R_1 + R_2$$

Y en general, para cualquier número de resistencias en serie,

$$R_{\text{tot}} \text{ (en serie)} = R_1 + R_2 \cdots + R_n \quad (6-4)$$

También se puede deducir otra expresión útil a partir del mismo grupo de ecuaciones:

$$\frac{V_1}{V} = \frac{IR_1}{IR_{\text{tot}}} \quad \text{o bien} \quad \frac{V_1}{V} = \frac{R_1}{R_{\text{tot}}} \quad (6-5a)$$

El mismo tipo de relación se cumple para V_2 . Podemos sustituir $R_{\text{tot}} = R_1 + R_2$ en la Ecuación 6-4 y obtener la **fórmula del divisor de potencial**:

$$\frac{V_1}{V} = \frac{R_1}{R_1 + R_2} \quad \text{o bien} \quad V_1 = V \left(\frac{R_1}{R_1 + R_2} \right) \quad (6-5b)$$

Esto significa que la fracción del potencial total que se mide a través de una resistencia conectada en serie es proporcional a la fracción de la resistencia total.

EJEMPLO 6.2

Dos resistencias de $10 \text{ k}\Omega$ y de $30 \text{ k}\Omega$ cada una, se conectan en serie y a una fuente de 10 V .

- ¿Cuál es el valor del potencial medido en un punto entre las dos resistencias cuando la de $10 \text{ k}\Omega$ se conecta al extremo $+10 \text{ V}$ de la fuente?
- ¿Cuál es el valor del potencial medido en el mismo punto cuando la resistencia de $30 \text{ k}\Omega$ se conecta al extremo $+10 \text{ V}$ del generador?
- En el apartado (a), ¿qué corriente circula por cada una de las resistencias?

Solución:

El circuito es el mismo que el representado en la Figura 6.3, con $R_1 = 30 \text{ k}\Omega$, $R_2 = 10 \text{ k}\Omega$ y $V = 10 \text{ V}$.

- El potencial medido en un punto situado entre las resistencias es la caída de potencial entre el terminal 0 V de la fuente (el más negativo) y el punto de medida. Utilizando la Ecuación 6-5b llegamos a

$$V_{30 \text{ k}\Omega} = 10 \text{ V} [30 \text{ k}\Omega / (30 \text{ k}\Omega + 10 \text{ k}\Omega)] = 7,5 \text{ V.}$$

- La posición de las resistencias es la inversa a la del apartado a. Ahora medimos el potencial a través de la resistencia de $10 \text{ k}\Omega$, y la solución es:

$$V_{10 \text{ k}\Omega} = 10 \text{ V} [10 \text{ k}\Omega / (30 \text{ k}\Omega + 10 \text{ k}\Omega)] = 2,5 \text{ V}$$

y la suma de los potenciales es igual al original: 10 V .

- Según la primera ley de Kirchoff, la corriente en el punto entre las resistencias debe ser igual a la corriente fuera de ese punto. Esta intensidad de corriente puede determinarse con la ley de Ohm (Ecuación 6-1) para la resistencia total del circuito.

$$I = 10 \text{ V} / (30 \times 10^3 + 10 \times 10^3) \Omega = 0,25 \times 10^{-3} \text{ A} = 250 \mu\text{A}$$

Resistencias en paralelo

Situar resistencias en paralelo significa conectar sus extremos de forma que a través de ellas pasa el mismo potencial. Esta situación se ilustra en la Figura 6.4. Para definir la ecuación general de la resistencia total del circuito, necesitaremos analizar las corrientes que circulan por él. De la primera ley de Kirchhoff sabemos:

$$I = I_1 + I_2$$

De la primera ley de Ohm, $I = V/R_{\text{tot}}$, $I_1 = V/R_1$, e $I_2 = V/R_2$; de esta manera,

$$\frac{V}{R_{\text{tot}}} = \frac{V}{R_1} + \frac{V}{R_2}$$

o bien, dividiendo los dos lados por V ,

$$\frac{1}{R_{\text{tot}}} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad (6-6a)$$

La ecuación general para cualquier número de resistencias conectadas en paralelo es

$$\frac{1}{R_{\text{tot}} \text{ (en paralelo)}} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \dots + \frac{1}{R_n} \quad (6-6b)$$

EJEMPLO 6.3

Dos resistencias de 10 k Ω y 30 k Ω cada una se conectan en paralelo a un generador de 10 V.

- ¿Cuál es la resistencia total del circuito?
- ¿Cuál es la corriente a lo largo de cada una de las resistencias?

Solución:

- La resistencia total puede hallarse aplicando la Ecuación 6-6:

$$\frac{1}{R_{\text{tot}}} = \frac{1}{30000 \Omega} + \frac{1}{10000 \Omega}$$

Después de despejar en esta ecuación se llega a $R_{\text{tot}} = 7500 \Omega$. Este valor es menor que el de cualquiera de las dos resistencias. Para resolver el apartado b sólo es necesario ver que la caída de potencial a lo largo de cada una de las resistencias es la misma: 10 V, por lo que la intensidad de corriente puede deducirse de la ley de Ohm:

$$I_{10 \text{ k}} = 10 \text{ V}/10000 \Omega = 1 \text{ mA} \text{ y, similarmente, } I_{30 \text{ k}} = 0,333 \text{ mA}$$

De las ecuaciones para resistencias en serie y en paralelo (Ecuaciones 6-4 y 6-6, respectivamente) se puede extraer una idea útil de su funcionamiento. Si dos resistencias son muy diferentes en su valor, en serie se comportarán como una sola gran resistencia, y en paralelo como una sola resistencia pequeña.

Circuito de puente de Wheatstone: resistencias combinadas en serie y en paralelo

Construir circuitos eléctricos capaces de medir exactamente cambios de potencial de 1 entre 10000 no es fácil, y lo es menos si se desea medir cambios todavía más pequeños. La manera de superar esta dificultad es midiendo *diferencias* entre potenciales. Por ejemplo, es más fácil determinar precisamente si un potencial es 0,0000, 0,0001 ó 0,0002 que determinar si es 20000, 20001 o 20002. En este último caso, la medida debe realizarse con estabilidad y con precisión de al menos unas pocas partes entre 10^5 , para poder medir 1 entre 20000. Sin embargo, la estabilidad y precisión necesarias para medir el primer caso sólo es de unas partes entre 10.

Un circuito de **Puente de Wheatstone** —véase la Figura 6.5— nos permite medir estas pequeñas diferencias de potencial o incluso de resistencia. En la figura se muestran dos esquemas diferentes para el mismo circuito. Ambos contienen los mismos componentes conectados del mismo modo, aunque a primera vista parezcan distintos. Estas *diferencias* entre esquemas que representan al mismo circuito se dan frecuentemente, y pueden inducir a error. En cualquier caso, siempre que se represente un **circuito en puente**, tendrá la misma organización que la figura. Los circuitos en puente forman parte de ciertos detectores utilizados en cromatografía de gases e instrumentos de análisis térmico, así como en algunos espectrómetros y medidores de conductividad. Además de su utilidad práctica, el puente de Wheatstone es un buen ejemplo para ilustrar la combinación de resistencias en serie y en paralelo. El circuito puede asimilarse a dos divisores de potencial conectados en paralelo y así analizar su comportamiento.

Una manera de utilizar un circuito en puente es la medición precisa de un **nulo**. Un nulo significa que no existe corriente circulando a través de un conductor conectado entre dos puntos como a y b en la Figura 6.5; la condición de la corriente para que se dé el nulo sólo tendrá lugar si a y b se encuentran al mismo potencial. El nulo se detecta gracias a un microamperímetro (capaz de medir microamperios), un nanoamperímetro (capaz de medir nanoamperios) o un picoamperímetro (capaz de medir picoamperios) conectado entre a y b.

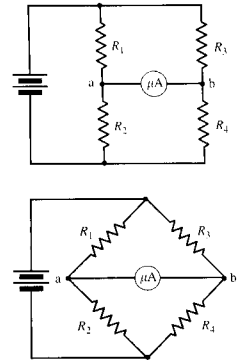


FIGURA 6.5 ▲ **Representación de un puente de Wheatstone.**

Se muestran dos esquemas distintos para el mismo circuito. Obsérvese que las resistencias R_1 y R_2 están conectadas en serie al igual que R_3 y R_4 , y este sistema conectado en paralelo al generador. Supongamos I_{12} , la corriente que circula por las resistencias R_1 y R_2 , e igual para I_{34} por R_3 y R_4 . Entonces, según la ley de Ohm:

$$V = I_{12}(R_1 + R_2) = I_{34}(R_3 + R_4)$$

Existen varias maneras para expresar la condición para obtener un nulo. Entre éstas:

$$I_{a,b} = 0 \text{ o bien}$$

$$V_a = V_b \text{ o bien}$$

$$V_2 = V_4$$

Como se dice en el texto, la condición de equilibrio es:

$$\frac{R_3}{R_4} = \frac{R_1}{R_2}$$

EJEMPLO 6.4

Hallar las resistencias generales R_1 , R_2 , R_3 y R_4 necesarias para obtener un nulo en el circuito en puente de la Figura 6.5.

Solución:

La condición de nulo sólo se da si no existe diferencia de potencial entre los puntos a y b. En ese caso, la caída de potencial a través de las resistencias R_1 y R_3 debe ser igual, ya que ambas resistencias deben tener el mismo potencial en los puntos a y b ($V_a = V_b$). La caída de potencial en las resistencias 2 y 4 también será igual ($V_2 = V_4$). Según la Ecuación 6-5, para los divisores de potencial,

$$V_a = V_b$$

$$\left(\frac{R_2}{R_1 + R_2}\right) \cdot V = \left(\frac{R_4}{R_3 + R_4}\right) \cdot V$$

El valor de V se elimina de los dos lados de la ecuación, e invirtiendo los paréntesis:

$$\frac{R_1 + R_2}{R_2} = \frac{R_3 + R_4}{R_4}$$

Y desarrollando esta expresión se llega a:

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{R_3}{R_4} \tag{6-7}$$

que es la condición de nulo.

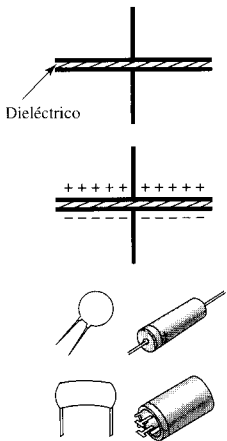
¿Cómo se aplica la Ecuación 6-7 a la utilización del circuito? En general, tres de las resistencias tendrán un valor conocido, y la cuarta varía siendo parte del transductor del instrumento. La resistencia variable se ajusta para que la condición de nulo expresada en la Ecuación 6-7 se cumpla, es decir, que el puente esté *en equilibrio*. Así la cuarta resistencia variable controla la corriente medida con el microamperímetro, y, conociendo su valor, la resistencia del transductor se halla y puede relacionarse con el contenido de analito.

En un gran número de instrumentos actuales, el puente se utiliza de un modo diferente. La respuesta del instrumento se basa en la corriente que circula entre los puntos a y b. Una denominación general para esta respuesta es **señal de error**. La manera de operar en estos instrumentos es ajustar el nulo para el blanco del experimento y posteriormente, con la muestra, la señal de error se puede amplificar y usarse directamente para la medida.

6.5. Respuestas de los circuitos dependientes del tiempo

Hasta ahora, en este capítulo, se ha hablado de circuitos en los que la corriente que circula es básicamente constante, al menos durante unos cuantos segundos o sólo con cambios lentos. Pero, si el potencial o la corriente cambia rápidamente, entonces debe considerarse la respuesta del circuito en función del tiempo. En una resistencia, el potencial y la corriente que circula por ella pueden relacionarse en todo momento por la expresión $V = IR$. En contraposición, existen elementos eléctricos que no siguen este comportamiento. Uno de ellos es el **condensador** (capacitador), que puede almacenar carga, y su respuesta dependiente del tiempo se conoce como **capacidad**. Otro es el **inductor**, que resiste cambios en la corriente, cuya respuesta dependiente del tiempo se conoce como **inductancia**. La respuesta total del circuito en función del tiempo puede explicarse en tres propiedades: capacidad, inductancia y resistencia. Las definiciones de capacidad e inductancia se muestran en la Tabla 6.1.

Un condensador consiste, en esencia, en dos láminas metálicas conectadas al resto del circuito pero separadas entre sí, normalmente por un aislante llamado dieléctrico. Véase la Figura 6.6. Cuando la corriente llega a una de las láminas, aparece en su super-



▲ FIGURA 6.6 Esquema de la estructura de las placas de un condensador.

También se muestra el aspecto externo de algunos tipos de condensador.

Tabla 6.1. Definiciones de capacidad e inductancia
(e en voltios, t en segundos e i en amperios)

La corriente a través del condensador es:

$$i_c = C \frac{de_c}{dt}$$

La capacidad C se expresa en faradios.

El potencial a través de un inductor es

$$e_L = L \frac{di_L}{dt}$$

La inductancia L se expresa en henrys.

ficie una carga que origina cargas de signo opuesto en la superficie de la otra lámina. De esta manera la corriente salva la separación entre las láminas. Pero la corriente circula sólo si el potencial está cambiando; con un potencial constante entre placas no existirá circulación de corriente. De este modo, a frecuencias cercanas a las ondas de radio el condensador deja circular la corriente fácilmente. Se puede considerar un condensador como una resistencia dependiente de la frecuencia que disminuye su valor con el aumento de la frecuencia. A esta dependencia entre la resistencia y la frecuencia se la denomina **impedancia**, que se explica con mucho más detalle en la Sección 6C.

Un inductor consiste en un alambre enrollado en forma de bobina alrededor casi siempre de un elemento de hierro, o de cerámica de hierro llamada **ferrita**, como se indica en la Figura 6.7.

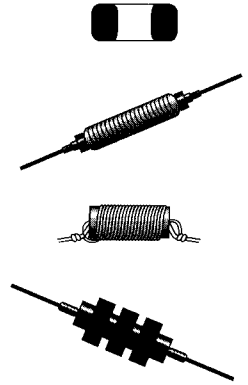


FIGURA 6.7 ▲ **Representación de algunos tipos de inductores.**

Todos consisten en alambres arrollados en espiral alrededor de un material que enfoca el campo magnético.

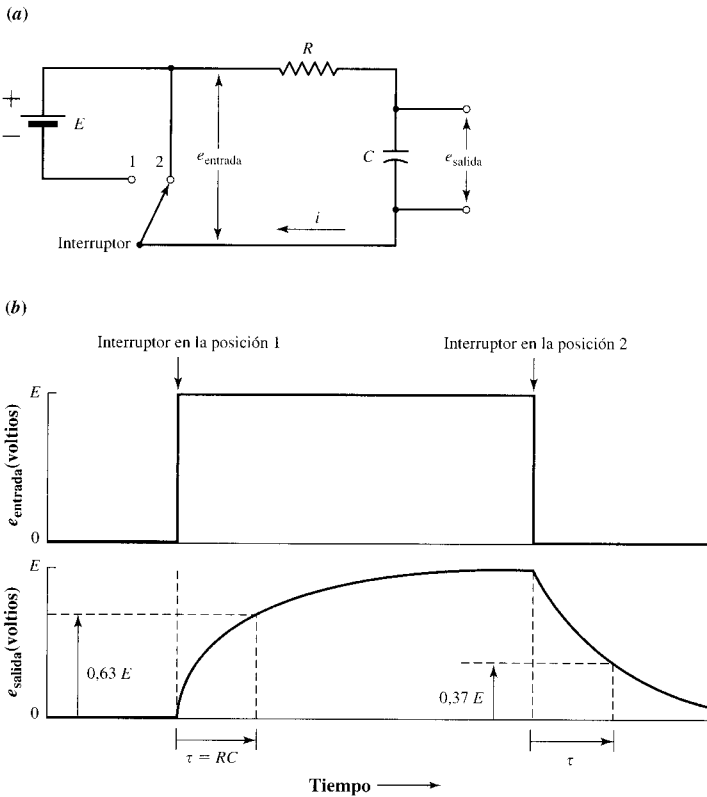


FIGURA 6.8 ▲ (a) Esquema de un circuito con un condensador y una resistencia conectados en serie. (b) Representación de la respuesta de este circuito a un salto en el potencial aplicado.

Se varía el potencial que circula a través del condensador mediante la aplicación de un cambio brusco del potencial de entrada, e_{entrada} , como se muestra en el eje. Más tarde el potencial cae a cero de e_{entrada} , repentinamente. Como se indica en la figura inferior, el potencial resultante muestra un crecimiento y un decrecimiento exponencial con una constante característica. La respuesta del circuito puede describirse algebraicamente como:

Para el crecimiento, $e_{\text{salida}} = E(1 - e^{-t/RC})$; $t = 0$ en el escalón de ascenso

Para la caída, $e_{\text{salida}} = E e^{-t/RC}$; $t = 0$ en el escalón de descenso

La constante para un circuito como éste es

$$\tau = RC$$

τ tiene unidades de segundos si C está en faradios y R en ohmios.

Esta constante se define como el tiempo necesario,

Para el aumento, cuando $e_{\text{salida}} = E(1 - e^{-1}) = E(1 - 0,37) = 0,63 E$

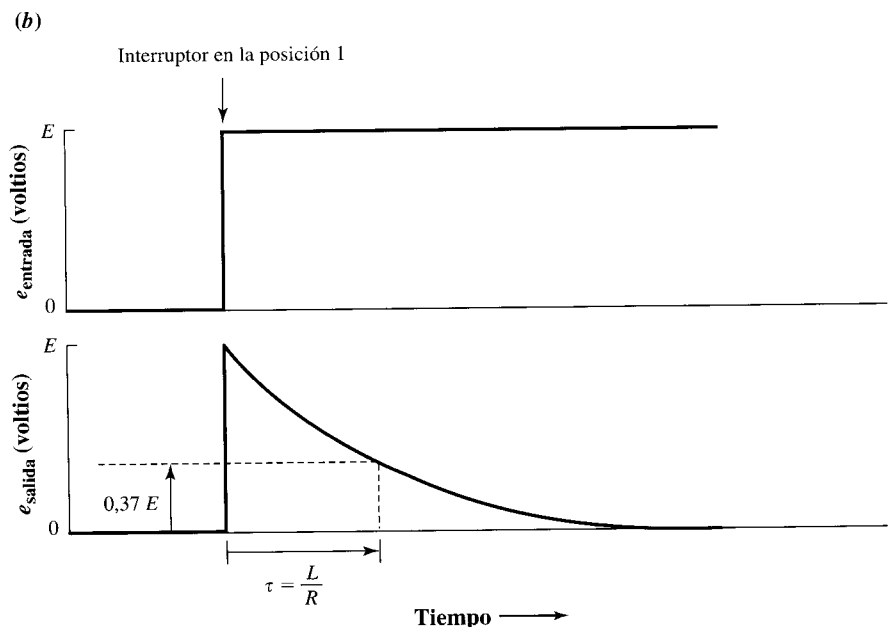
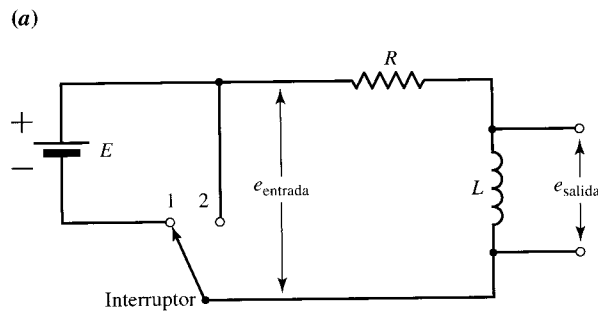
Para la caída, cuando $e_{\text{salida}} = E e^{-1} = 0,37 E$

Las corrientes constantes circulan sin obstáculos a través del inductor, pero las corrientes variables crean un campo magnético que impide la corriente almacenando la energía eléctrica en el campo magnético hasta que la corriente disminuye. El hierro o la ferrita incrementan la cantidad de energía que puede almacenarse por unidad de volumen. En un circuito, un inductor puede verse como una resistencia dependiente de la frecuencia que aumenta su resistencia con el aumento de la frecuencia.

Cuando los potenciales y las corrientes cambian con el tiempo, pueden encontrarse variaciones en las expresiones algebraicas que describen los circuitos respecto a cuando son constantes. El convenio utilizado especifica el uso de minúsculas cuando se quiera hacer referencia a propiedades variables: un potencial variable se representa por e , mientras que una corriente sería i . Es fácil confundir esta e con la base de los logaritmos neperianos o con la carga del electrón, aunque pueden evitarse confusiones observando el contexto en el que se encuentre.

En las Figuras 6.8 y 6.9 se representan dos ejemplos de respuestas a una variación de potencial en el tiempo. El cambio utilizado en los ejemplos debe considerarse como un salto extremadamente rápido: un escalón de potencial. En ambos casos, el potencial en la salida crece de una manera exponencial; en cambio, el potencial aplicado, *entra-*

FIGURA 6.9 ▶
(a) Esquema de un circuito con un inductor y una resistencia conectados en serie.
(b) Representación de la respuesta de este circuito a un salto en el potencial aplicado.



Se varía el potencial que circula a través del inductor mediante la aplicación de un cambio brusco del potencial de entrada, e_{entrada} , como se muestra en el eje. Como se indica en la figura inferior, el potencial resultante muestra un decrecimiento exponencial con una constante característica. La respuesta del circuito puede describirse algebraicamente como:

$$e_{\text{salida}} = E e^{-(R/L)t}$$

La constante de tiempo se define como el tiempo cuando:

$$e_{\text{salida}} = e^{-1} E = 0,37 E$$

Esta constante es

$$\tau = L/R$$

τ tiene unidades de segundos cuando L se expresa en henrys y R en ohmios.

Tabla 6.2. Comparación de cinética y electrónica

Cinética	Electrónica
El tiempo de vida media para $A = A_0 \exp(-kt)$ es cuando $A = \frac{1}{2} A_0$ Esto ocurre cuando $\exp(-kt) = 0,5$. $\exp(-kt_{1/2}) = 0,5$ $t_{1/2} = (\ln 2)/k = 0,69/k$	La constante de tiempo para $e_0 = E[1 - \exp(-t/RC)]$ es cuando $e_0 = (1 - 1/e)E$ Esto ocurre cuando $\exp(-t/RC) = 1/e$. $\exp(-\tau/RC) = 0,368 = e^{-1}$ $t = (\ln e)RC = RC$

da, experimenta un escalón. La velocidad de crecimiento en cada aumento es caracterizable por una **constante de tiempo**, que cuantifica la rapidez o lentitud con que se responde al cambio de la entrada. Por definición, la constante de tiempo τ es el intervalo de tiempo necesario para que la respuesta llegue a 0,632 veces ($= 1 - 1/e$) la respuesta final. Aquí, la palabra *final* significa después de un tiempo infinito. **Tiempo de respuesta** o **tiempo de crecimiento** son otras dos denominaciones para esta constante, y aunque las tres se refieren al mismo tiempo, se suelen utilizar en distintos contextos. Esta constante es de mucha importancia a la hora de caracterizar la respuesta de un transductor así como la electrónica de un instrumento.

La constante de tiempo, τ , caracteriza un aumento exponencial al igual que el tiempo de vida media se utiliza en cinética. En la Tabla 6.2 se apuntan importantes similitudes entre las constantes de tiempo y los tiempos de vida media.

La constante de tiempo depende de las magnitudes de la capacidad, la inductancia y la resistencia de cada uno de los componentes de un circuito. Para los circuitos simples que hemos descrito hasta ahora, los valores de τ pueden calcularse a partir de las fórmulas presentes en las figuras. El cálculo de este tiempo de respuesta para circuitos más complicados en función de los distintos componentes del circuito está por encima del nivel de este libro, pero las lecturas recomendadas al final de este capítulo pueden ser un buen punto de partida para ese estudio. Un importante algoritmo diseñado para realizar ese tipo de cálculos es el denominado «SPICE», en el que se basan numerosos programas comerciales y de libre distribución.

6.6. Relaciones señal-ruido

La relación o proporción señal-ruido, S/R, se introdujo en la Sección 5.5 al tratar los límites de detección. En aquel momento, definimos S/R como la relación del potencial de la señal y el potencial de ruido, y lo llamamos **relación de potencial de señal-ruido**. Esto es:

$$\frac{S}{R} \text{ (voltios)} = \text{constante} \cdot \frac{\text{potencial de señal}}{\text{potencial de ruido}} \quad (6-8)$$

El potencial S/R puede expresarse como un número, «La proporción señal-ruido es 3», o como una proporción simple, «... con una proporción señal-ruido de 3:1».

El ruido puede tratarse como una onda sinusoidal y la magnitud del ruido puede medirse bien de pico a pico o bien como la raíz cuadrada de la media de los cuadrados (rmc). La relación entre ellas se indicó en la ecuación 5-1. Esto es,

$$\begin{aligned} \text{rmc} &= \frac{0,707}{2} (\text{potencial de pico a pico de la onda sinusoidal}) \\ &= 0,35 V_{p-p} \end{aligned} \quad (5-1)$$

Esta expresión fue ilustrada en la Figura 5.6c. Reordenando la Ecuación 5-1 se llega a:

$$2,8 \times S/R (\text{rmc}) = S/R (p-p) \quad (6-9)$$

Se pueden utilizar otros tipos de relación señal-ruido, como por ejemplo la que relaciona la potencia de la señal y la potencia del ruido. La unidad que se suele utilizar para expresar esta proporción es el **decibelio** (su abreviatura es dB). Un decibelio es una medida de la proporción de dos potencias:

$$\text{Proporción de potencias (decibelios)} = 10 \log_{10} \frac{P_2}{P_1} \quad (6-10)$$

donde P_2 y P_1 son dos medidas de potencias distintas. Así la proporción S/R en decibelios se convierte en:

$$S/R (\text{dB}) = 10 \log_{10} \left(\frac{\text{potencia de señal}}{\text{potencia del ruido}} \right) \quad (6-11)$$

Esto se relaciona con los potenciales de señal y de ruido y con las corrientes en la expresión de la potencia eléctrica:

$$P (\text{vatios}) = \frac{V^2}{R} \quad (6-3)$$

$$P (\text{vatios}) = I^2 R$$

Por ejemplo, la resistencia R tanto para la señal como para el ruido se suponen iguales, así que:

$$S/R (\text{dB}) = 10 \log_{10} \left[\frac{(\text{potencial de señal})^2}{(\text{potencial del ruido})^2} \right]$$

o bien:

$$S/R (\text{dB}) = 10 \cdot 2 \log_{10} \left(\frac{\text{potencial de señal}}{\text{potencial del ruido}} \right) \quad (6-12)$$

Para calcular la relación S/R correctamente en dB, se utiliza un factor 10 para la proporción de potencias (Ecuación 6-11), y un factor 20 para la proporción de potenciales (Ecuación 6-12). Algebraicamente,

$$\text{Valor en dB} = 10 \log \frac{P_2}{P_1} = 20 \log \frac{V_2}{V_1} = 20 \log \frac{I_2}{I_1}$$

6.7. Tipos de ruido

Como ya se ha dicho, el valor absoluto de los niveles de ruido no es tan importante como la relación S/R para las medidas analíticas. A menudo, no es necesario en absoluto tener en cuenta la medida del ruido, porque se dispone de una gran cantidad de muestra, llena de las señales de los analitos presentes, y la señal residual es casi imperceptible. Aun así, la presencia de ruido es inevitable en cierta medida durante el análisis, y cuando éste interfiere, merece la pena conocer su origen para poder determinar cómo disminuirlo si es posible.

El ruido en señales eléctricas nace de bastantes fenómenos diferentes, y pueden dividirse en al menos cuatro tipos: ruido **Térmico**, ruido de **Disparo**, ruido **1/f** (leído como ruido uno sobre f), y el ruido procedente de las **Interferencias Eléctricas**. A menudo, uno de estos tipos de ruido predomina limitando la calidad de una medida específica en algún ensayo. A continuación, se hace una breve descripción de cada uno de ellos.

Los tipos de ruido se tratan más adelante en la Sección 17.6.

Ruido térmico

El ruido térmico es el resultado de los movimientos aleatorios de las cargas eléctricas (electrones o «huecos») cuando son influidas por las fuerzas térmicas en una celdilla atómica de un sólido. Estos movimientos son aleatorios y el potencial rmc se produce incluso cuando no existe una corriente neta; la corriente media total es cero.

Recuperemos ahora la expresión que estudiamos en el Capítulo 1 para el ruido térmico:

$$V_{\text{ruido}}(\text{rmc}) = \sqrt{4 k_B T R B} \quad \text{voltios} \cdot \text{Hz}^{-1/2} \quad (1-3)$$

donde:

$V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ es la raíz cuadrada de la media de los cuadrados del potencial de ruido

k_B es la constante de Boltzmann, $1,38 \times 10^{-23} \text{ V}^2 \text{ s } \Omega^{-1} \text{ K}^{-1}$

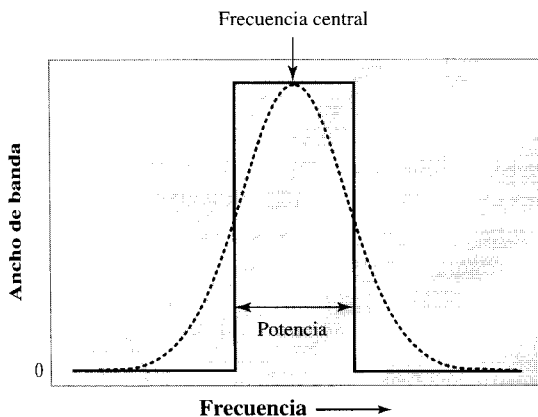
T es la temperatura en grados Kelvin

R es la resistencia en Ω

B es el ancho de banda en Hz

Por supuesto, como se dijo en el Capítulo 2, la raíz cuadrada de la media de los cuadrados de un proceso aleatorio también se llama desviación estándar, por lo que esta expresión tiene su origen en la distribución Gaussiana. El concepto de ancho de banda se ilustra en la Figura 6.10.

En la Sección 17.5 se puede encontrar más sobre filtros electrónicos.



◀ FIGURA 6.10

Representación del concepto de ancho de banda.

Un filtro de banda es exactamente análogo a un filtro luminoso. A través de un filtro luminoso sólo pasan ciertas frecuencias de luz, al igual que un filtro electrónico sólo permite el paso de ciertas frecuencias. Si la potencia (o el potencial asociado a esa potencia) se representa en función de la frecuencia, se llega a la línea representada en puntos. Para los cálculos y la comprensión del concepto, puede utilizarse un rectángulo perfecto centrado en la frecuencia central del pico. Otro nombre para el ancho de banda es el de **paso de banda** del filtro.

Un circuito como el mostrado en la Figura 6.8 actúa como un filtro.

Como se indicó en la Sección 1.6, el ruido térmico puede reducirse estrechando el ancho de banda (mientras no se dejen fuera las frecuencias utilizadas para la medida). También, disminuir la resistencia y la temperatura del aparato que origina el ruido podría tener el mismo efecto. El ruido térmico no depende de la frecuencia a la que cambie el potencial. En otras palabras, está presente por igual en todas las frecuencias a lo ancho del paso de banda. Como resultado, al igual que la luz que aparece a todas las frecuencias, el ruido térmico se conoce como **ruido blanco**. Otras dos maneras de denominarlo son, **ruido Johnson**, llamado así por la primera persona que lo midió y lo describió, o de **Nyquist**, por la primera persona que derivó la Ecuación 1-3. El ruido blanco marca el límite inferior de ruido de *cualquier* detector que tenga resistencia eléctrica.

EJEMPLO 6.5

¿Cuál es el potencial del ruido rmc de una resistencia de 10 kΩ a 20 °C cuando se amplifica con un amplificador de audio (ancho de banda 20 kHz)? ¿Cuál sería el ruido si la resistencia se enfriara hasta los 77 K con nitrógeno líquido? ¿Y con helio líquido a la temperatura de 4,2 K?

Solución:

Todos los potenciales de ruido rmc se hallan fácilmente sustituyendo directamente los valores en la Ecuación 1-3.

$$\begin{aligned} V_{\text{ruido}}(\text{rmc}) &= \sqrt{4 \cdot 1,38 \times 10^{-23} \cdot 293 \cdot 10^4 \cdot 2 \times 10^4} \\ &= \sqrt{3,23 \times 10^{-12}} \\ &= 1,8 \mu\text{V} \end{aligned}$$

El ruido a temperaturas más bajas se calcula de la misma manera. A 77 K cae a 0,95 μV y a la temperatura del helio líquido $V_{\text{ruido}}(\text{rmc})$ es 0,22 μV. Obsérvese que se ha supuesto que el circuito eléctrico del amplificador no tiene ningún ruido, lo que es absurdo.

Un circuito RC como éste, en la Figura 6.8, actúa como filtro.

El ruido es una desviación aleatoria en la salida, y sus variaciones pueden disminuirse utilizando un circuito RC en el potencial de salida. Para hablar correctamente debe decirse que el circuito RC integra la señal. Como se vio en la Figura 6.8, la constante del filtro $\tau = RC$. Es importante comprender que esta constante de tiempo es equivalente al ancho de banda. La relación, empírica, viene dada por:

$$B = \frac{1}{4\tau} \quad (6-13)$$

La relación del tiempo (constante de tiempo) y la frecuencia (paso de banda) se estudia en la Sección 17.4.

Esto sólo es válido para un único filtro RC simple. Para otros tipos de filtros o integradores pueden expresarse otras relaciones con el paso de banda equivalente.

EJEMPLO 6.6

Si la respuesta de una resistencia de 10 kΩ a 20 °C se pasa por circuito RC sin ningún ruido (lo que es imposible, porque cualquier resistencia tiene un ruido) con $\tau = 0,1$ s, ¿cuál será el potencial de ruido rmc?

Solución:

El valor de τ posee un ancho de banda equivalente de $1/0,4 = 2,5 \text{ s}^{-1} = 2,5 \text{ Hz}$. Utilizando la Ecuación 1-3, $V_{\text{ruido}}(\text{rmc}) = 20 \text{ nV}$. La utilización del filtro produce una supresión de ruido mucho mayor que enfriar la fuente hasta la temperatura del helio líquido. Es importante asegurarse que el filtro no integre tanto la señal que la deje como parte de la línea base CC.

Como puede observarse de la diferencia del ruido rmc entre pasos de banda de 20000 Hz y 2,5 Hz, la filtración es un buen método para reducir el ruido. Sin embargo la utilización de un filtro tiene la contrapartida en el aumento del tiempo necesario para obtener datos no distorsionados.

Ruido de disparo

Ni la corriente eléctrica ni la luz se propagan como un flujo suave ya que las dos están cuantizadas —la corriente en unidades de electrones y la luz en unidades de fotones—. Ambos tipos de flujo fluctúan alrededor de su valor medio; en un instante existe más corriente y en el siguiente menos. Se puede pensar en la corriente como una componente CC y otra fluctuante superpuestas.

El ruido de disparo tiene su origen en la salida o entrada aleatoria de los cuantos —electrones o fotones—. Estos fenómenos aleatorios ocurren cuando los electrones cruzan un nudo o llegan a una superficie. Similarmente, los fotones salen de una fuente de luz al azar, y su choque con una superficie también muestra un ruido de disparo.

Como ejemplo más intuitivo, podemos imaginarnos debajo de un techo metálico ondulado cuando empieza a llover. Al principio podremos oír cada gota, y el ruido total será pequeño. Si la lluvia aumenta, el ruido se hará más alto aunque el ruido de cada gota no pueda ser discernido, y cuando se convierta en un fuerte aguacero, el ruido se convertirá en un silbido: las gotas individuales son promediadas y la lluvia presiona el techo metálico uniformemente sin sonar como disparos separados. Denominar a este tipo de ruido como ruido de disparo parece bastante apropiado. Otros nombres para este ruido son **ruido cuántico** o ruido de **Schottky**, llamado así por uno de los inventores del transistor.

La ecuación que describe el ruido de disparo rmc para la corriente eléctrica es la siguiente:

$$I_{\text{ruido}}(\text{rmc}) = \sqrt{2qI_{\text{dc}}B} \quad (6-14)$$

donde:

q es la carga del electrón ($1,60 \times 10^{-19}$ culombios) y
 B es la medida del ancho de banda

Otra vez, como para el ruido térmico, el valor rmc es la desviación estándar del proceso aleatorio. Sin embargo el ruido de disparo, en contraposición al térmico, depende del valor de la corriente. Si sólo pasan unos pocos cuantos, la corriente media o el flujo será más pequeña que las fluctuaciones y cuando el número de cuantos se incrementa, podrá observarse que la variación del cuanto individual se convierte en una pequeña *fracción* del flujo total.

EJEMPLO 6.7

¿Cuál es el ruido de disparo para una corriente de 1 A y un ancho de banda de 20 kHz?

Solución:

Un amperio es igual a un culombio s^{-1} , por lo que sustituiremos en la Ecuación 6-14:

$$\begin{aligned} I_{\text{ruido}}(\text{rmc}) &= \sqrt{2 \cdot 1,6 \times 10^{-19} \cdot 1 \cdot 2 \times 10^4} \\ &= \sqrt{6,4 \times 10^{-15}} \\ &= 80 \text{ nA} \end{aligned}$$

Ruido $1/f$

El tercer tipo de ruido cuantifica el exceso de ruido medido por encima del ruido Johnson y el de disparo. El origen físico de este ruido no se comprende bien, pero empíricamente se comprueba que es proporcional al número de electrones o fotones que llegan a una superficie. Esto es, el ruido es proporcional a la magnitud de la señal. Se ha determinado que el nivel de ruido $1/f$ depende de la manera de construir, incluidos materiales utilizados y formas, los componentes como resistencias y detectores de fotones. Una razón es que se origina, al menos en parte, en los contactos entre materiales conductores y resistentes. Por ejemplo, una resistencia hecha con carbono muestra cerca de diez veces más ruido $1/f$ que una resistencia hecha de un material metálico no conductor ($2 \mu\text{V}$ contra $0,2 \mu\text{V}$). Este ruido $1/f$ aparece principalmente en las medidas a bajas frecuencias —desde CC hasta 300 Hz—. La razón por la que se lo denomina $1/f$ es que la energía que pasa por un ancho de banda B decrece casi linealmente con el aumento de la frecuencia; esto es, $1/f$. Otras denominaciones utilizadas para este fenómeno son ruido **de parpadeo** o ruido **rosa**. El uso de «rosa» indica que no es ruido blanco, pero contiene más «rojo» (baja frecuencia) que «azul» (alta frecuencia). El ruido de parpadeo puede reducirse en las medidas evitando ensayos entre CC y los kHz aproximadamente. En cualquier caso las técnicas utilizadas están por encima del nivel que queremos dar a este asunto.

Si el ancho de banda es relativamente estrecho, el ruido $1/f$ parecerá permanecer constante a lo ancho del paso de banda y se observará dentro del ruido blanco, así que en la práctica, el ruido $1/f$ y el ruido blanco no deben ser separados.

Interferencia eléctrica

El último tipo de ruido que consideraremos aquí es la *interferencia eléctrica*: señales no deseadas que se producen fuera de la muestra y del instrumento. La interferencia eléctrica es similar a la interferencia química en un análisis: señales que se parecen a la que se investiga, pero que no vienen de la fuente deseada. Las dos causas más usuales de esta interferencia son, por una parte, pérdidas de energía en algún circuito, y la más importante: corrientes inducidas por campos eléctricos o magnéticos provenientes de la red eléctrica. En Estados Unidos, la interferencia suele ocurrir a 60 Hz y en sus múltiplos (120, 180, 240, ... Hz). Un ruido como éste, situado en unas frecuencias concretas y con una amplitud relativamente constante, es fácil de localizar y puede ser eliminado utilizando láminas y pantallas metálicas situadas en el lugar preciso, y

conectadas a una toma de tierra. Estas pantallas y láminas se denominan **escudos o blindaje**, y el ruido producido por la interferencia eléctrica se conoce como **ruido de línea**.

Más difícil de evitar es el ruido causada por ascensores, iluminación, coches cercanos y motores de cámaras frigoríficas. En alguno casos, las emisoras de radio o de televisión cercanas pueden crear un ambiente eléctrico ruidoso. La interferencia eléctrica también se conoce como **ruido ambiental o electrical pickup**.

El ruido producido por las vibraciones mecánicas es igualmente molesto. Los equipos que muestran interferencias eléctricas por causas mecánicas, como vibraciones accidentales causadas por el operario, se llaman **microfónicos**. Muchos detectores son muy sensibles a la vibración, y deben estar firmemente anclados y aislados de las fuentes de vibración e, incluso, de los cambios de temperatura. Existen muchas maneras de conseguir este aislamiento, pero el lector podrá aprenderlas cuando este tipo de vibraciones influya en su trabajo.

El ruido observado en cualquier señal proviene del ruido introducido por todas y cada una de las partes del instrumento electrónico. Pero, sin entrar en detalle, puede asegurarse que la mayoría del ruido presente en la espectrometría proviene de la fuente de luz (como ruido de parpadeo) o del ruido térmico del transductor de señal. En las medidas no espectroscópicas, la mayor fuente de ruidos viene del ruido Johnson en la etapa de transducción o en la primera amplificación de señal. Actualmente, los circuitos electrónicos son tan sofisticados y poco costosos que incluso los instrumentos relativamente baratos poseen amplificadores y otros componentes que contribuyen con despreciables cantidades de ruido, mientras sean utilizados de una manera apropiada.

6.8. Amplificadores y amplificación

Se sabe que la luz se compone de fotones cuya energía viene dada por $E = hv$, y actualmente es fácil detectar experimentalmente la llegada de un solo fotón de luz visible al detector. Un fotón dentro del intervalo de energías de la luz visible, posee una energía alrededor de los 4×10^{-19} J. Teniendo en cuenta que la pantalla de cristal líquido de una calculadora de bolsillo consume una potencia de aproximadamente 1 mW, la energía contenida en el fotón sería capaz de hacer funcionar la pantalla durante 4×10^{-16} s, lo que no permitiría un cambio en la pantalla para registrar el fotón. Claramente, la energía del fotón debe ser amplificada para que podamos detectar su llegada. En un contador de fotones, la energía del fotón causa un movimiento de un electrón, y esta pequeña y breve corriente se amplifica para cambiar el valor que muestra la pantalla, registrarlo en una computadora, o, en instrumentos antiguos, mover una aguja.

En la Figura 6.11 se muestran algunos diagramas esquemáticos de amplificadores. Obsérvese que todos poseen una o más conexiones de **entrada** y una conexión de **salida**. Cuando llega la señal a la entrada (o entradas), aparece en la salida un cambio en la corriente o en el potencial, un aumento respecto a la corriente o el potencial en la entrada. Una de las exigencias de un amplificador es que la salida cambie precisa y exactamente cuando la entrada varíe. Esta afirmación es ambigua ya que el amplificador puede tener distintas maneras de responder a la entrada. Por ejemplo, la salida puede ser el cuadrado, la integral, la derivada, o el logaritmo de la entrada. Es posible otro tipo de operación si se varía el diseño del circuito del amplificador. Algunas de estas transformaciones están contenidas en la Tabla 6.3. En cualquier caso, en este texto consideraremos únicamente los amplificadores en los que la salida es un múltiplo de la entrada, es decir, los **amplificadores lineales**.

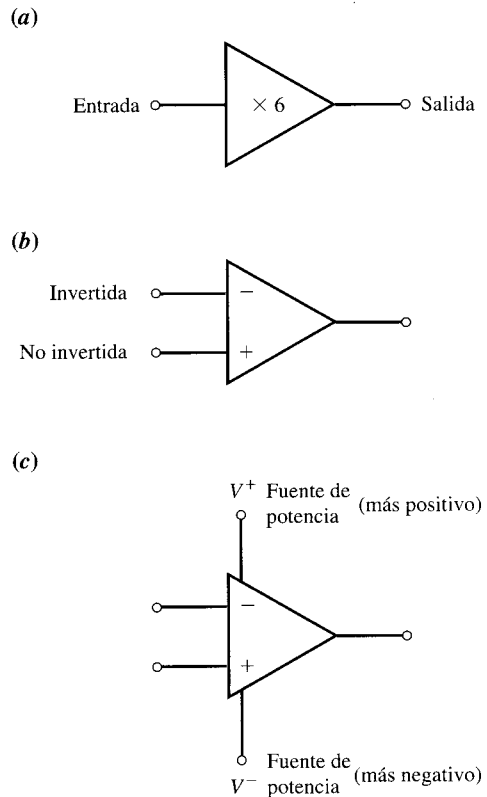


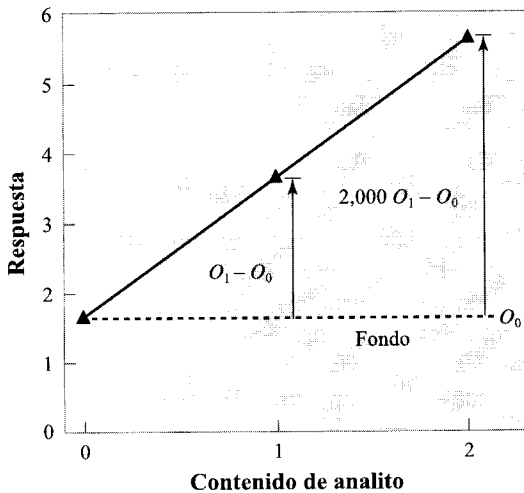
FIGURA 6.11 ► Esquemas de amplificadores.

En todas las figuras, la línea que sale del vértice representa la conexión de salida. En (a) se representa la entrada mediante la línea opuesta al vértice. El número $\times 6$ indica una amplificación de un factor 6. También se puede expresar mediante un 6 o $+6$. En (b) el signo $+$ indica la entrada no invertida. El signo $-$ indica la entrada invertida. En (c) se incluyen las líneas de la fuente de energía suplementaria. Otra manera de representar V^+ sería V_{cc} y V^- como V_{ee} .

Tabla 6.3. Algunas transformaciones de señal de amplificadores

Amplificación (multiplicación por un número > 1)
Atenuación (multiplicación por un número < 1)
Adición
Sustracción
Aislamiento de una parte del circuito de la otra (normalmente multiplicando la señal por $+1$ o -1)
Integración
Diferenciación

Un amplificador lineal *ideal* produce una respuesta que es exactamente una multiplicación de la entrada. Véase la Figura 6.12. Por ejemplo, si la señal de entrada (llamémosla I) cambia de I_0 a I_1 , y después a $20000 I_1$, la salida (llamémosla O) debe cambiar de O_0 a $(O_1 - O_0)$ y a $(20000 O_1 - O_0)$. Cuando un amplificador se acerca a este comportamiento, se dice que tiene un **gran intervalo lineal**. La respuesta lineal de un instrumento depende directamente de la linealidad de los amplificadores que utilice. Si la respuesta del amplificador no es lineal, se dice que tiene una respuesta no lineal. Los amplificadores reales se aproximan a la linealidad sólo en intervalos finitos de señal. En general se intenta que este intervalo sea lo más grande posible y que las respuestas de los amplificadores sean lo más lineales posible.



◀ FIGURA 6.12
Respuesta de un amplificador lineal ideal.

Idealmente, la respuesta debe ser exactamente lineal al contenido de analito después de restar la señal residual.

La cantidad de amplificación obtenida con un determinado amplificador se puede expresar cuantitativamente por la relación entre la potencia de salida y la potencia de entrada. Esta proporción se denomina **ganancia**:

$$\text{Ganancia} = \frac{P_{\text{salida}}}{P_{\text{entrada}}} \quad (6-15)$$

También se suelen utilizar otros dos parámetros de ganancia distintos: la ganancia de potencial ($V_{\text{salida}}/V_{\text{entrada}}$) y la ganancia de corriente ($I_{\text{salida}}/I_{\text{entrada}}$). La ganancia de potencia es el producto de estos dos, dado que $P = VI$. Puede encontrarse cierta ambigüedad si se utiliza el término *ganancia* sin mencionar si se refiere a la potencia, al potencial o a la corriente.

Se utilizan dos símbolos simples para los amplificadores cuando se encuentra en un esquema con pocos componentes. Son los utilizados en la Figura 6.11. Ambos son triángulos con dos o tres líneas conectadas. Una línea que sale de un vértice del triángulo es el símbolo de la salida, mientras que en el lado vertical opuesto a este vértice pueden encontrarse dos o tres líneas que representan la o las entradas. Si sólo existe una línea de entrada, se debe especificar la transformación de la señal. Como se puede observar en la figura, el +6 representa la operación de multiplicar la señal por 6. No siempre se especifica la transformación, dificultando mucho la interpretación correcta del circuito.

Cuando se representan dos líneas conectadas al lado vertical, se suelen etiquetar como + y -. Este sistema se suele utilizar cuando se incluye algún tipo de información adicional en el esquema, como resistencias y condensadores conectados al amplificador. Éste es el esquema normal para un **amplificador operacional** u op amp. Los signos + y - indican la **polaridad** de la salida respecto a la entrada. La entrada señalada como + indica que es una entrada **no invertida**; la polaridad de la salida es la misma que la de la entrada. La entrada marcada - es la **entrada invertida**; la polaridad de la salida es la opuesta a la entrada.

En la sección siguiente se estudian los amplificadores operacionales más comunes. Los detalles más profundos de su utilización no se presentan, ya que, normalmente, los instrumentos utilizados son robustos y bastante complicados, lo que imposibilita introducirnos a fondo en la estructura de sus circuitos para analizar algún tipo de fallo. La mayoría de las veces las reparaciones consistirán en sustituir alguna placa de circuito de

la que la computadora del instrumento notifica su mal funcionamiento. No obstante se presentan algunos conceptos que ayudarán a indicar las características básicas de un instrumento contemporáneo. El concepto más importante es el de **modo común de rechazo**, así que continuemos hacia la comprensión de esta idea.

Modos normales de operar con amplificadores en circuitos

Si se conecta un amplificador operacional de la manera que ilustra la Figura 6.13 a un generador que tiene dos conexiones de +15 V y -15 V, y a un voltímetro para medir el potencial entre los terminales 3 y 4, es esperable medir un potencial cercano a +15 o -15 V. La razón es que cuando se une de esta manera, el amplificador operacional no puede producir un potencial en la salida mayor que la potencia suministrada, y el amplificador tiene una ganancia de potencial en el rango de 200000, lo que es un diseño normal para un amplificador operacional. Con una ganancia tan grande, el amplificador intentará dar una salida de 15 V con una entrada de

$$V_{\text{aplicado}} = V_{\text{medido}} / \text{ganancia} = 15 \text{ V} / (2 \times 10^5) = 75 \mu\text{V}$$

Éste es un potencial aplicado muy pequeño, y no es descartable que una emisora de radio o incluso las luces fluorescentes cercanas puedan causar la aparición de un potencial como ése entre las conexiones 1 y 2. Está claro que un amplificador operacional no se debe utilizar como en la figura. Por el contrario, se construye una conexión entre los puntos 1 y 3 para crear realimentación (**feedback**) a la entrada invertida. Esta conexión se conoce como **el bucle de realimentación**. Como se verá a continuación, con la utilización de resistencias, condensadores y/u otros componentes en el bucle, el *feedback* ayuda a determinar el modo de trabajar del amplificador dentro del instrumento. Así pues, la ganancia de 200000 se denomina **ganancia de bucle abierto** del amplificador, ya que el bucle de realimentación no está conectado.

Así que conectaremos el bucle de realimentación más sencillo, un cable. Además, como se muestra en la Figura 6.14, se conecta una resistencia fuera del bucle desde la

FIGURA 6.13 ►
Cómo se puede conectar un amplificador operacional.
 El potencial de entrada respecto a la toma de tierra puede aplicarse al terminal 1 (línea sólida). El potencial de salida puede medirse relativo a la toma de tierra.

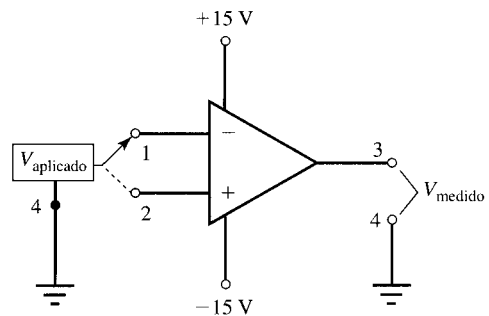
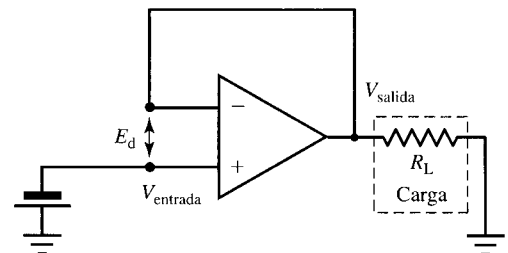


FIGURA 6.14 ►
Conexión de un amplificador operacional como seguidor.



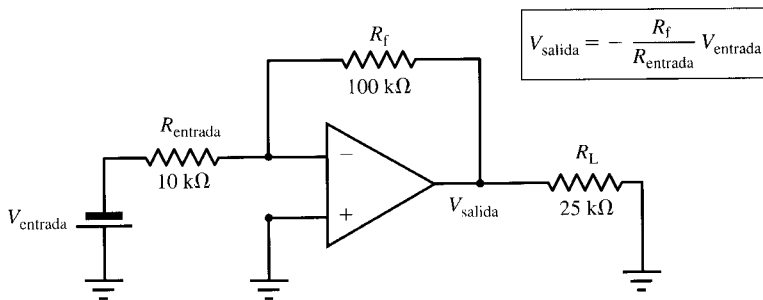
toma de tierra de la salida. Esta resistencia representa las propiedades eléctricas de un componente como puede ser una pantalla o una parte de un voltímetro; estos componentes se denominan genéricamente **carga**. Después se conecta un generador a la entrada no invertida. ¿Qué sucederá en ese momento? El amplificador continúa expulsando más y más corriente desde la salida a través del bucle de realimentación hasta que el potencial E_d llega a ser cero. Esto es, el amplificador de gran ganancia sigue aumentando la corriente hasta que el potencial en la entrada invertida y en la no invertida son iguales. En ese momento no se genera más corriente *adicional*. Dicho de otro modo, el potencial de salida puede interpretarse como la combinación de dos salidas diferentes, una motivada por la entrada no invertida y otra por la invertida. En el momento en el que $E_d = 0$, la salida amplificada *invertida* se convierte exactamente en el negativo de la de la salida amplificada *no invertida*. Las dos respuestas se anulan exactamente ya que son iguales en magnitud pero de signo opuesto. La salida se convierte en cero respecto a V_{entrada} , y no tiene lugar ningún *cambio adicional* en el potencial. También, la corriente circula a través del cable de realimentación y de la resistencia de la carga; además V_{salida} , el potencial a través de la resistencia de carga, se iguala a V_{entrada} .

Supongamos ahora que la resistencia de carga es reducida a la mitad. El amplificador expulsa más corriente —otra vez hasta que $E_d = 0$ —. Circula más corriente por la mitad de la resistencia de carga, pero el *potencial se mantiene igual*. Esto significa que la entrada no puede llevar casi ninguna corriente, y la salida puede producir corriente hasta la capacidad del amplificador —para los instrumentos normalmente en el orden de las decenas de mA— *siempre en el potencial de la entrada*. Por este comportamiento, se conoce a este tipo de circuito como un **seguidor de potencial**. Otros nombres utilizados son **amplificador amortiguador**, **amplificador aislante**, **amplificador de ganancia unidad**, **seguidor de generador**, o simplemente **seguidor**. Los circuitos seguidores se pueden encontrar en todos los instrumentos, ya que aíslan las señales de entrada de los cambios en las impedancias de los circuitos, principalmente en los circuitos del canal de señal. Ésta es la razón por la que se usa la denominación amplificador amortiguador. Dado que el potencial de entrada se iguala al potencial de salida, la ganancia del seguidor es uno, o la unidad. Éste es el origen del término *amplificador de ganancia unidad*. Un seguidor puede imitar señales, pero con un límite superior de frecuencia. Este límite depende del diseño del amplificador.

El comportamiento descrito anteriormente se cumple sólo para un seguidor constituido por un amplificador ideal. Como consecuencia, el circuito mostrado será sólo una parte del esquema completo del circuito de un amplificador real. Por ejemplo, se suelen conectar una o más resistencias entre la salida no invertida y la toma de tierra para corregir desviaciones de ciertas características del circuito real respecto a la idealidad. No obstante, analizar las maneras en las que los amplificadores se desvían de este comportamiento es un tema muy extenso y sería preciso consultar libros sobre amplificadores operacionales, ya que este punto no se estudiará aquí. En la lista de lecturas recomendadas de este capítulo se pueden encontrar algunos textos sobre este tema.

El esquema del circuito que estudiaremos a continuación se ilustra en la Figura 6.15. El potencial de entrada se aplica a la entrada invertida a través de una resistencia de $10\text{ k}\Omega$, y se añade una **resistencia de realimentación** de $100\text{ k}\Omega$ en el bucle de realimentación. Al igual que para los amplificadores operacionales, se fuerza E_d a cero durante la utilización. (En realidad no se aleja muchos μV de cero, y supondremos que es exactamente cero.) Pero para alcanzar el nivel de respuesta estable final, el amplificador debe llevar corriente a través de R_f para obligar a E_d a que llegue a cero.

FIGURA 6.15 ►
**Conexión de un amplificador
operacional como un amplificador
invertido.**



El comportamiento general de un amplificador como éste se manifiesta en la siguiente ecuación empírica:

$$V_{\text{salida}} = - \frac{R_f}{R_{\text{entrada}}} V_{\text{entrada}} \quad (6-16a)$$

La amplificación depende solamente de la proporción entre la realimentación y las resistencias de entrada. El amplificador de la Figura 6.15 muestra una ganancia de -10 . Por ejemplo, una entrada de $+50$ mV (respecto a la toma de tierra) produce una respuesta de -500 mV a través de la resistencia de la carga. El valor absoluto de la carga tiene su origen en que $R_f/R_{\text{entrada}} = 10$, y el signo negativo tiene su origen en la conexión a la entrada invertida. Este circuito recibe el nombre de **amplificador invertido**.

La Ecuación 6-16a puede reorganizarse como:

$$H = \frac{V_{\text{salida}}}{V_{\text{entrada}}} = \frac{R_f}{R_{\text{entrada}}} \quad (6-16b)$$

que muestra la relación entre el potencial de salida y el potencial de entrada. Esta relación, llamada H , se denomina **función de transferencia** del amplificador. Al igual que el seguidor, un amplificador invertido puede amplificar tanto señales CC como CA.

EJEMPLO 6.8

¿Cuál es la función de transferencia del circuito de la Figura 6.15?

Solución:

De la Ecuación 6-16b, la función de transferencia es simplemente -10 . No obstante, esto sólo se cumplirá para un generador de corriente continua.

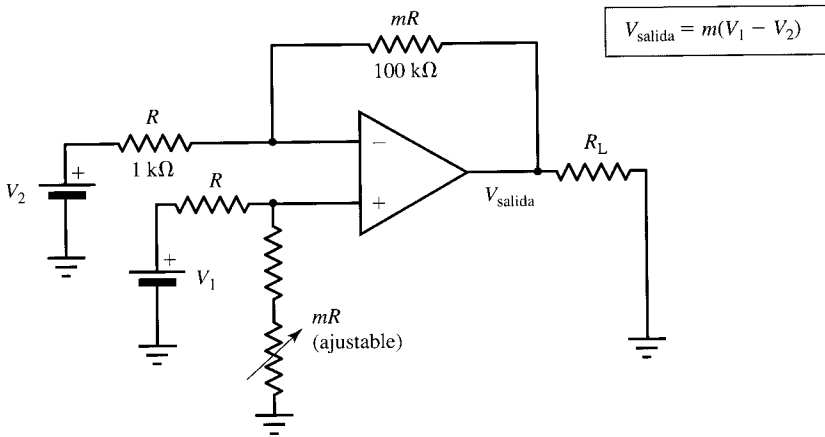
Una función de transferencia para una señal de alta frecuencia tiene una dependencia de la frecuencia que describe cómo la amplificación decrece con el aumento de la frecuencia. Un ejemplo de una función de transferencia simple sería:

$$H(f) = [1 + (2\pi f\tau)^2]^{-1/2}$$

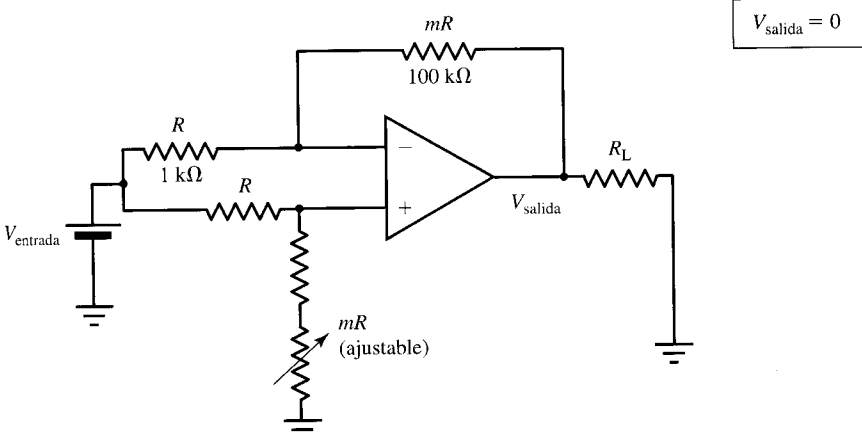
donde τ es una constante de tiempo y f es la frecuencia de la señal. La razón por la cual la ganancia decrece con el incremento de la frecuencia es que el amplificador puede llevar a cabo el cambio de potencial, **velocidad de viraje**, sólo a una determinada velocidad. Los amplificadores operacionales más comunes tienen una velocidad de viraje en el orden de $0,1 - 10 \text{ V } \mu\text{s}^{-1}$.

En la Figura 6.16 se pueden observar los esquemas de los últimos circuitos de esta sección. El amplificador operacional se conecta a potenciales variables en las dos entradas, invertida y no invertida, para producir la salida. La salida se convierte entonces en la *diferencia amplificada* entre dos potenciales de entrada. Como resultado, este circuito es conocido por el nombre de **amplificador diferencial**. Lo que es importante entender en este caso es la necesidad de la resistencia en una de las dos posiciones etiquetadas mR que pueden variar levemente para conseguir un ajuste exacto. ¿Cómo podemos determinar si este ajuste es preciso? Simplemente conectando las dos entradas al mismo generador, como se muestra en la Figura 6.16b. Entonces, se ajusta la resistencia variable hasta el punto en el que el potencial de salida se convierte en cero. Este ajuste se puede llevar a cabo durante una rutina de optimización ocasional, probablemente mediante un tornillo en un panel oculto del instrumento. Después del ajuste, para un

(a)



(b)

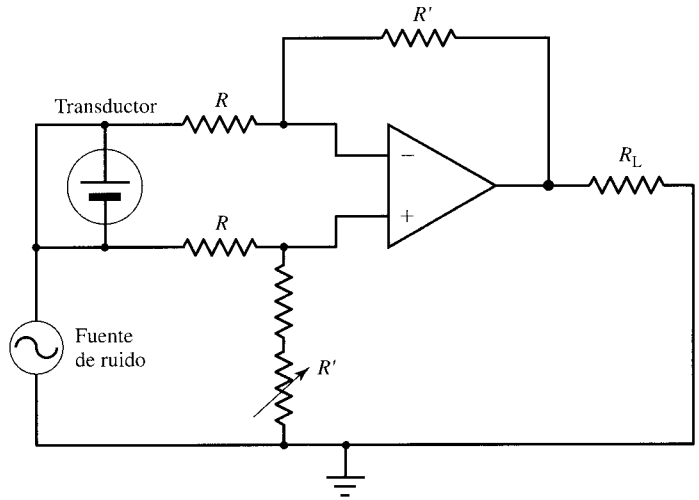


◀ FIGURA 6.16
Amplificadores diferenciales.

(a) Conexión de un amplificador operacional como un amplificador diferencial. (b) Conexión de un amplificador diferencial a la misma entrada de potencial. Un ajuste apropiado del circuito produciría una respuesta que se mantendría cero por el método común de rechazo.

FIGURA 6.17 ►
Modo común de rechazo con transductor.

Se ha conectado a un amplificador diferencial un circuito equivalente a un transductor. De esta manera puede reducirse el ruido producido en cables o en otras partes del circuito. El potencial de ruido se aplica por igual a las dos entradas, mientras que el potencial del transductor difiere para ambas.



amplificador ideal, la respuesta de un amplificador diferencial se mantiene en cero sin importar cómo varíe el potencial de la fuente. Éste es el *modo común de rechazo*.

Un amplificador diferencial es, de una manera general, útil para la eliminación de los efectos del ruido ambiental. Por ejemplo, supongamos que se mide la respuesta CC de un transductor con cambios de respuesta menores de un mV, aunque el ruido eléctrico producido en los cables sea mucho mayor que eso, y la señal no pueda medirse fiablemente. Si se constituye el circuito como un amplificador diferencial, Figura 6.17, el ruido, que se produce en ambos cables, se anula por el modo común de rechazo, y permite encontrar la respuesta del transductor.

Para amplificadores diferenciales reales, ya que las dos entradas no están perfectamente ajustadas, aparece una respuesta de potencial mientras aumenta el nivel común de entrada. Este efecto se mide mediante la relación de modo común de rechazo (RMCR), que se define en la siguiente ecuación:

$$\text{RMCR} = \frac{\text{Señal de modo común}}{\text{Señal de entrada aparente}} \quad (6-17)$$

El RMCR de un amplificador real se ve afectado levemente por la temperatura. Lo que es importante entender es que a mayor RMCR, mejor nos podrá ayudar el amplificador a separar la señal del ruido ambiental.

EJEMPLO 6.9

Se conecta un generador a ambas entradas de un amplificador diferencial con una ganancia de 100. La respuesta medida es 1,0 mV. ¿Cuál es la relación de modo común de rechazo?

Solución:

El potencial aparente en la entrada es $1,0 \text{ mV}/100 = 10 \mu\text{V}$. Así pues, de la Ecuación 6-17,

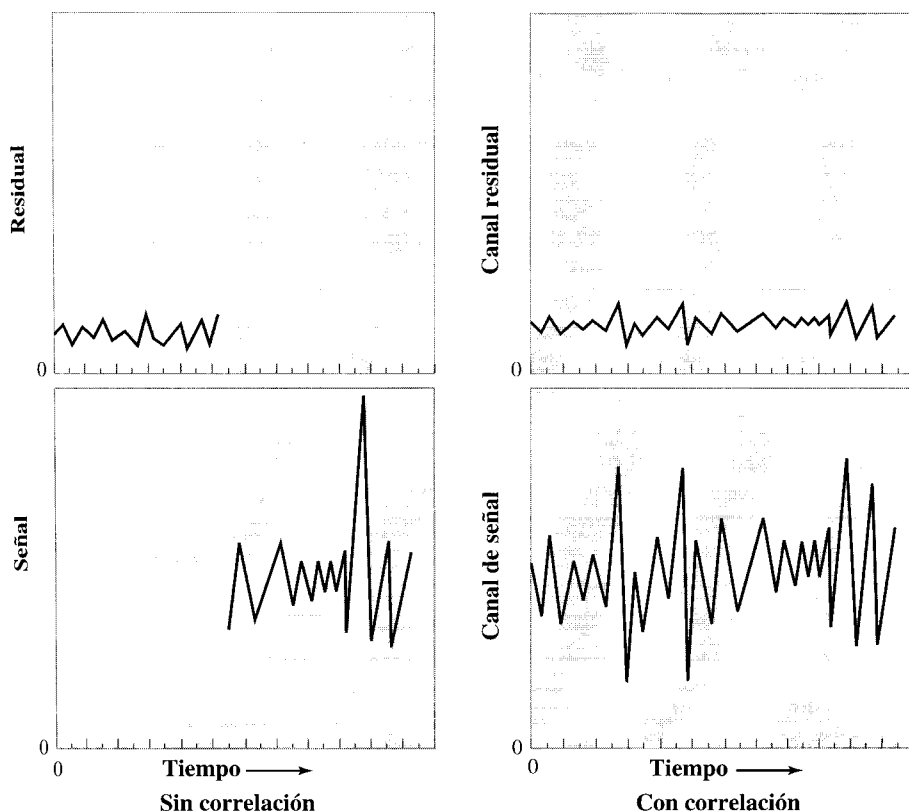
$$\text{RMCR} = 10 \text{ V}/10 \mu\text{V} = 10^6$$

Esto equivale a 10 dB, lo que es una excelente figura de mérito para el amplificador diferencial.

6.9. Límite de detección con un detector multicanal

Los detectores multicanal han cambiado los límites de detección profundamente, dado que las señales del analito y las residuales pueden medirse simultáneamente. Experimentalmente, el límite de detección puede reducirse en dos órdenes de magnitud en los análisis espectrométricos. Esta reducción ocurre porque la detección multicanal reduce mucho la influencia de una fuente de ruido: el ruido del parpadeo de la fuente de luz. Este es el ruido de la fluctuación de la intensidad de luz de la lámpara. La Figura 6.18 puede dar una idea general de la causa, mostrando el tipo de información que podemos esperar. La figura de la izquierda es un ejemplo del mismo tipo de medida que el visto en la Figura 5.6. Primero se mide la señal residual y después la señal. Los valores medios se restan a la señal para obtener el valor del analito solamente. Sin embargo, obsérvese que cuando el analito está presente existen grandes saltos en la intensidad. El nivel de ruido en la señal es más alto que si esto no ocurriera, y así la S/R es disminuida.

En la derecha, la señal residual y la señal del analito se miden simultáneamente. Cuando estas dos señales se miden a la vez, el parpadeo aparece tanto en la medida de la señal residual como en la del analito. Se dice que los dos canales son **correlativos**. Cuando restamos la señal residual de la señal del analito, la incertidumbre del parpadeo en las dos señales desaparece casi totalmente, y aumenta la veracidad del dato del analito. De hecho, en este caso no puede aplicarse la idea de ruido de fondo que aparece como la Gaussiana del límite de detección. Correlacionar de este modo la señal y la señal residual, es una herramienta extremadamente poderosa para disminuir los límites de detección. Esta correlación es equivalente al modo común de rechazo.

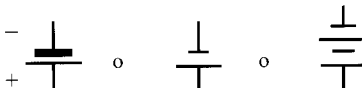


◀ FIGURA 6.18
**Modo normal de rechazo con
 señales ruidosas.**

Ilustración de la diferencia entre (izquierda) detectar la señal y la señal residual en momentos distintos a través del mismo canal y (derecha) detectar la señal residual y la señal simultáneamente en canales separados. Por la correlación de las fluctuaciones con el detector de dos canales, el límite de detección puede llegar a ser de dos órdenes de magnitud menor que el que se obtendría si alternáramos entre ellos un canal único.

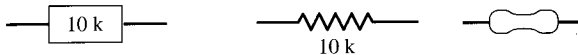
6A. Profundizando: Símbolos electrónicos

Generador de potencial CC
(batería o suplemento de potencia)

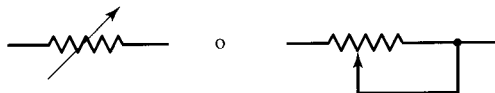


Resistencia

Las unidades utilizadas son ohmios.
(Aquí $10\text{ k}\Omega = 10000\ \Omega$.)



Resistencia variable



(La resistencia puede variar.)

Condensador

Con la polaridad indicada

(Las unidades utilizadas son normalmente μF .)



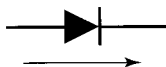
Inductor

Las unidades son henrys.



Diodo rectificador

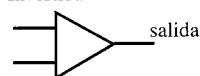
Es una gran resistencia sólo en una dirección.



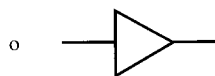
La corriente circula fácilmente sólo en este sentido.

Amplificador

Invertida



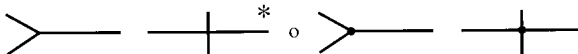
No invertida



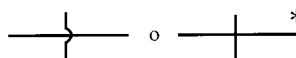
Cable

* Posible confusión.

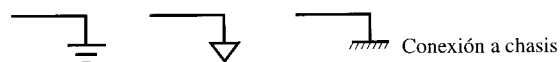
La unión de cables se representa.



La existencia de cables no unidos se representa.



Toma de tierra



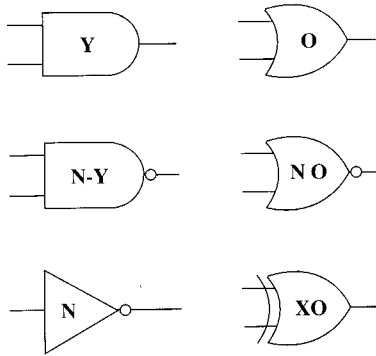
Fuente de corriente constante



FIGURA 6A.1 ► Símbolos electrónicos.

(continúa en la página siguiente)

Símbolos electrónicos



El círculo pequeño indica una negación de la entrada como de la salida. Esto es, verdadero si y sólo si exactamente una de las líneas de entrada es verdadero.

N-Y significa no y

NO significa no o

N es la negación

XO significa exclusivamente o; la respuesta es verdadera si y sólo si exactamente una de las líneas de entrada es verdadera.

◀ FIGURA 6A.1 (continuación)

6B. Profundizando: breve introducción a la nomenclatura de la lógica digital

Los sistemas digitales pueden almacenar y procesar información utilizando un sistema binario: dos valores que representan dos niveles físicos como el potencial o el magnetismo. Estos dos niveles normalmente se representan por 0 y 1 o por L y H (bajo y alto). Cuando los niveles son potenciales, éstos deben ser suficientemente distintos para que se propaguen por los circuitos sin ser confundidos. No obstante, ni su valor exacto ni su signo nos importarán, ya que éstos cambian con la implementación de nuevas tecnologías. Tampoco estudiaremos ningún componente que utilice la óptica o distintos estados de magnetización.

La lógica digital que puede llevar a cabo la manipulación de la información consta de un número de unidades elementales compuestas de transistores y resistencias conectados entre sí para tener relaciones específicas entre su respuesta binaria y uno o dos niveles binarios de entrada. Estas **puertas** lógicas básicas se muestran en la Figura 6B.1. Se muestran también los símbolos para los elementos lógicos, sus nombres, símbolos Boolean (explicada más abajo), y pequeñas tablas de números que ilustran todos los posibles estados de las entradas y salidas de cada componente. Estas últimas se denominan **tablas verdaderas**. Dos de las puertas tienen sólo una entrada, y como consecuencia unas tablas verdaderas pequeñas. En éstas se puede reconocer el triángulo que representa un amplificador, como el amplificador operacional descrito en la Sección 6.8, pero para esta lógica digital, después de una respuesta transitoria, la salida se sitúa sólo en uno de los dos niveles diferentes posibles. Seis de las puertas de la Figura 6B.1 tienen dos entradas, y las tablas verdaderas con columnas A y B muestran los niveles de entrada. La columna Q muestra el nivel de salida para cada uno de los grupos de entradas.

En la última columna de la figura, la abreviatura X significa **exclusivo**. La puerta **XO** es un complemento exclusivo, que significa que cuando $A = 0$, el valor de B aparece en la salida, pero cuando $A = 1$, aparece el complemento de B. Otra vista de la lógica **XO** reconoce que la respuesta indica cuando A o B es verdadero, pero no ambas.

Obsérvese que la puerta invertida tiene un pequeño círculo en la salida. Este círculo indica la **negación** del estado digital. Este estado opuesto también se denomina **complemento** de la señal de entrada. El complemento de cualquier estado, supongamos A, normalmente se indica por una barra sobre el símbolo, \bar{A} . Los componentes de la segunda fila de la figura son todos complementos de los de la primera columna, y esta negación se indica por la letra **N** al principio del nombre.

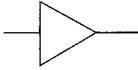
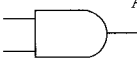
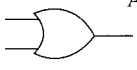
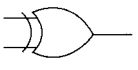
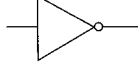


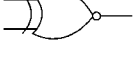
Nombre	Expresión	Símbolo	Tabla verdadera															
Amortiguador	A		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td></tr> </tbody> </table>	A	Q	0	0	1	1									
A	Q																	
0	0																	
1	1																	
Y	AB $A \cdot B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>1</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1
A	B	Q																
0	0	0																
0	1	0																
1	0	0																
1	1	1																
O	A + B $A \vee B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>1</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1
A	B	Q																
0	0	0																
0	1	1																
1	0	1																
1	1	1																
XO	$A \oplus B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
A	B	Q																
0	0	0																
0	1	1																
1	0	1																
1	1	0																
Invertida NOT	\bar{A}		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	A	Q	0	1	1	0									
A	Q																	
0	1																	
1	0																	
NY	$\bar{A}B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0
A	B	Q																
0	0	1																
0	1	1																
1	0	1																
1	1	0																
NO	$\bar{A} + B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0
A	B	Q																
0	0	1																
0	1	0																
1	0	0																
1	1	0																
XNO	$\bar{A} \oplus B$		<table border="1"> <thead> <tr><th>A</th><th>B</th><th>Q</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1</td><td>1</td><td>1</td></tr> </tbody> </table>	A	B	Q	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1
A	B	Q																
0	0	1																
0	1	0																
1	0	0																
1	1	1																

FIGURA 6B.1 ► Propiedades de algunas puertas lógicas digitales.

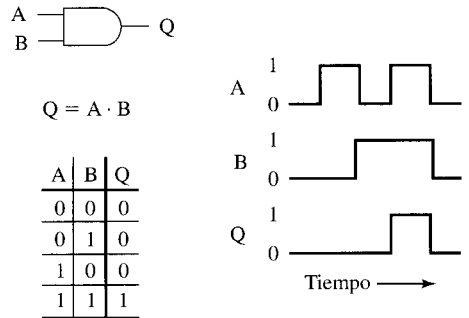


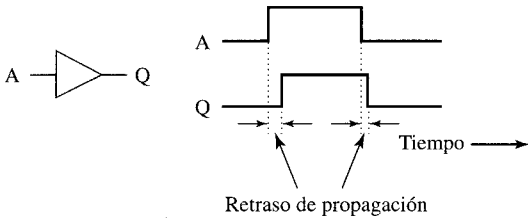
FIGURA 6B.2 ► La puerta Y.

Una puerta Y, una tabla verdadera y un trazado ideal de cómo se espera que varíen los potenciales de respuesta frente al tiempo teniendo en cuenta las propiedades de la puerta y los potenciales de entrada.

Observemos más detenidamente la puerta Y. De acuerdo con la tabla verdadera, la señal de salida Q tiene el valor 1 cuando ambas entradas son 1. De otro modo Q es cero. Dado que estas características son análogas a las de la multiplicación, se utiliza el símbolo de la multiplicación para representar esta puerta Y: $A \cdot B$ o AB. En una lógica algebraica, denominada lógica Booleana, este dato se puede abreviar simplemente como

$$A \cdot B = Q$$

La Figura 6B.2 representa la puerta Y, además de un gráfico de los niveles de potencial en cada conexión, o 1 o 0 (alternativamente, alto o bajo). Podrían registrarse unos gráficos similares a estos si se midieran los potenciales de un osciloscopio. Los potenciales A y B se aplican a las entradas, mientras que el potencial Q aparece como respuesta. El



◀ FIGURA 6B.3
Retraso de propagación.

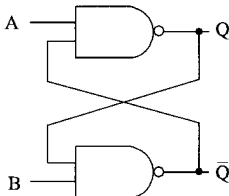
Un gráfico ideal del potencial **Q** que tiene lugar después de aplicar un potencial **A**. El amortiguador presenta un retraso en ambos límites el ascendente y el descendente.

tiempo crece hacia la derecha. Como puede observarse, sólo cuando A y B son 1 hacen que Q sea 1.

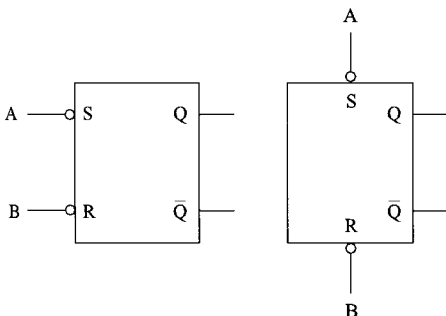
No obstante, la transmisión de información a través de estas puertas no es instantánea. La idea se representa en la Figura 6B.3. Cuando se aplica un cambio de potencial en la entrada A de un amortiguador, la información aparece en Q después de un tiempo denominado **retraso de propagación**. (El retraso de un incremento no es igual, generalmente, al retraso de una caída.) Este retraso es sumamente importante en el diseño de circuitos lógicos y de las computadoras en las que operen, pero no lo trataremos en los comentarios siguientes. También abandonaremos los términos 0 y 1 en los gráficos de potencial.

Una red flip-flop

Estas puertas lógicas básicas se conectan formando **bloques** que logran realizar operaciones binarias específicas necesarias para el proceso y el almacenamiento de la información. Estos bloques varían en complejidad. Examinaremos brevemente uno de los **bloques** más simples, un bit binario **flip-flop** mostrado en la Figura 6B.4. El término flip-flop se utiliza de una manera coloquial —dos estados, tanto uno (flip) como otro (flop) y nada intermedio—. Este flip-flop compone el elemento más simple de la memoria electrónica, un cir-



A	B	Q	\bar{Q}
0	0	1	1
0	1	1	0
1	0	0	1
1	1	0	1
1	1	1	0



◀ FIGURA 6B.4
RS flip-flop.

Un circuito RS flip-flop constituido por dos puertas **N Y**, su tabla de propiedades, y dos esquemas del circuito. En la tabla de función, los dos estados inferiores son estables para una entrada (1, 1).

cuito que almacena un bit como 0 o como 1. Se compone de dos puertas **NY** conectadas como se muestra en la figura. Se utiliza, también, otro nombre para el flip-flop: **pestillo**.

La tabla de la figura es denominada algunas veces **Tabla de Función** —no es una tabla verdadera, ya que una pareja de entradas (1,1) puede producir dos estados diferentes—. Son posibles cinco estados, pero normalmente no se permite la línea superior.

EJEMPLO 6B.1

Demostrar que dos respuestas diferentes son estables con 1,1 como entrada en el circuito de la Figura 6B.4.

Solución:

El resultado puede verse utilizando la tabla verdadera para la puerta **NY** en la Figura 6B.1 y reconociendo que las entradas para la puerta superior son **A** y \overline{Q} , y, para la inferior, **B** y **Q**. Si se sitúa (1,1) en las entradas y se prueba 0 en **Q**, entonces \overline{A} debe ser 1. Además, la entrada 1,1 para **A** y \overline{Q} cumplen 0 para \overline{Q} . Ahora podemos intentar un 1 en **Q**, entonces **Q** debe ser 0. Además, la entrada 1,0 para **A** y \overline{Q} cumplen 1 para \overline{Q} . Así pues ambas respuestas son estables.

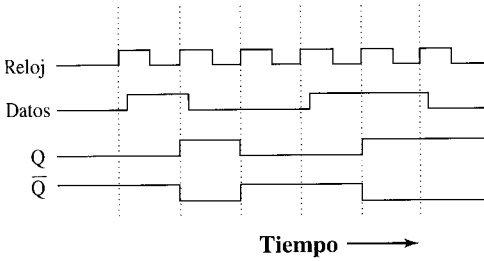
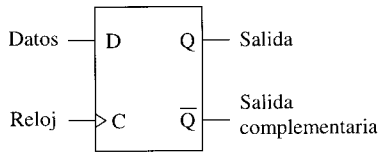
Los nombres correctos para este elemento son el **pestillo \overline{S} - \overline{R}** , **set-reset flip-flop**, o **pestillo RS**, y su símbolo se muestra en la parte inferior de la figura. La **S** representa set, y la **R** reset, mientras que la **A** y la **B** representan las mismas conexiones que el circuito superior. La respuesta aparece en el terminal **Q**, y sus valores dependen de las entradas como se ve en la columna en sombra. La lógica de este circuito tiene lugar de acuerdo con las tres reglas siguientes:

1. Al aplicar un bajo en **A** con **B** en alto se almacena **Q** = alto (línea 2 de la tabla).
2. Al aplicar un alto en **A** con **B** en bajo cambia **Q** a bajo (línea 3 de la tabla).
3. Al aplicar un alto en **A** con **B** en alto deja **Q** (y \overline{Q}) con el nivel que tenía antes de que se establecieran las condiciones de entrada (líneas 4 y 5 —estabilidad doble de la entrada 1,1—).

Veamos ahora como este comportamiento puede almacenar un número. Supongamos que **B** se mantiene en alto excepto durante cortas estancias en el estado bajo. (Esta explicación puede parecer confusa.) Comencemos con ambos **Q** y **B** altos. Valores altos de las dos entradas de la puerta **NY** inferior obligan a que \overline{Q} sea bajo sin importar el estado **A**. Este bajo garantiza que **Q** es alto. Después cuando **B** se convierte en bajo momentáneamente, obliga a \overline{Q} alto. La puerta **NY** superior tiene en este momento ambas entradas en alto, así que su salida es bajo, obligando otra vez a \overline{Q} alto. Como resultado de este comportamiento, la entrada **B** se denomina **entrada reset** porque en estado bajo recoloca (obliga a bajo) la salida **Q**. Similarmente, un bajo en la entrada **A** obliga una salida **Q** en alto, por lo que se denomina a **A** como entrada set. Estas entradas se etiquetan **R** y **S**, respectivamente, en el esquema del bloque.

Soporte del bloque D

Estudiaremos ahora otro bloque para almacenar datos, encaminado a explicar cómo se construye un contador binario. Posee muchos nombres, entre los cuales se encuentran **pestillo de bloque D**, **flip-flop de tipo D** o **flip-flop D**. En la Figura 6B.5 se puede ver el esquema de este circuito donde la letra **D** representa el término datos. Se utilizan



◀ FIGURA 6B.5

Funcionamiento de un flip-flop de tipo D.

En el esquema el canal de datos está etiquetado como **D**, y el canal del reloj como **C**. La cuña dibujada en el gráfico de la entrada del reloj indica que la entrada es un dispositivo disparado por un filo, aquí un disparador de filo positivo. La respuesta dependiente del tiempo idealizada muestra los valores que aparecen en la salida y en los canales complementarios, con las entradas mostradas en los canales del reloj y de datos.

muchos tipos de flip-flop D, algunos ilustrados en la Figura 6B.6. Su funcionamiento es muy similar al RS, cuando se activa la entrada de control, la salida **Q** sigue el comportamiento de la entrada **D** y cuando se desactiva esta entrada de control la **Q** se retiene.

La entrada de control puede activarse de dos maneras diferentes: puede estar activa cuando se sitúa un nivel lógico (digamos bajo), o cuando el escalón de ascenso (o de descenso) de un pulso llega a la entrada de control (**filo disparador**). En la Figura 6B.6 se muestran diagramas de ambos tipos.

El flip-flop D de la Figura 6B.5 se controla mediante un filo disparador positivo. En cada escalón creciente —donde nacen las líneas punteadas— el dispositivo transfiere el estado aplicado en la entrada **D** a **Q**, y a **Q** el complemento. El pestillo, entonces, mantiene el valor hasta el siguiente momento de disparo. Obsérvese que el cambio del canal de datos no coincide con el reloj; cuando se produce el disparo del reloj, el valor del dato ya está presente.

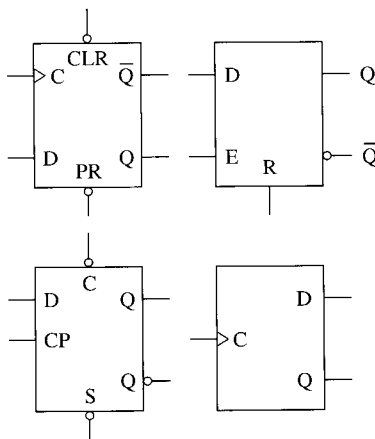
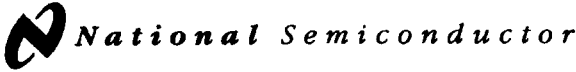


FIGURA 6B.6 ▲

Distintos tipos de flip-flops de tipo D.

Las abreviaturas utilizadas son **S** para set, **CLR** para despejar, **C** para reloj (superior izquierda e inferior derecha) o despejar (inferior izquierda), **CP** para pulso del reloj, **PR** para programar, **E** para autorizar y **R** para reset. El uso de autorizar en el bloque superior izquierdo indica que es un disparador de nivel desde el reloj. Los otros tres tienen disparadores de filo. Las distintas posiciones de las conexiones no corresponden a diferencias en las posiciones de las patillas en un paquete, pero se sitúan para intentar aclarar los diagramas de los circuitos.



January 1992

MM54HC74A/MM74HC74A Dual D Flip-Flop with Preset and Clear

General Description

The MM54HC74A/MM74HC74A utilizes advanced silicon-gate CMOS technology to achieve operating speeds similar to the equivalent LS-TTL part. It possesses the high noise immunity and low power consumption of standard CMOS integrated circuits, along with the ability to drive 10 LS-TT loads.

This flip-flop has independent data, preset, clear, and clock inputs and Q and \bar{Q} outputs. The logic level present at the data input is transferred to the output during the positive-going transition of the clock pulse. Preset and clear are independent of the clock and accomplished by a low level at the appropriate input.

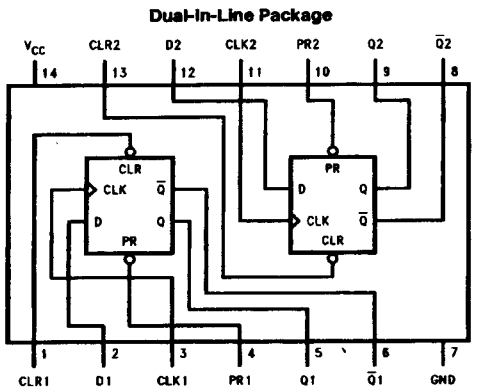
The 54HC/74HC logic family is functionally and pinout compatible with the standard 54LS/74LS logic family. All inputs are protected from damage due to static discharge by internal diode clamps to V_{CC} and ground.

Features

- Typical propagation delay: 20 ns
- Wide power supply range: 2V–6V
- Low quiescent current: 40 μ A maximum (74HC Series)
- Low input current: 1 μ A maximum
- Fanout of 10 LS-TTL loads

Connection and Logic Diagrams

Truth Table



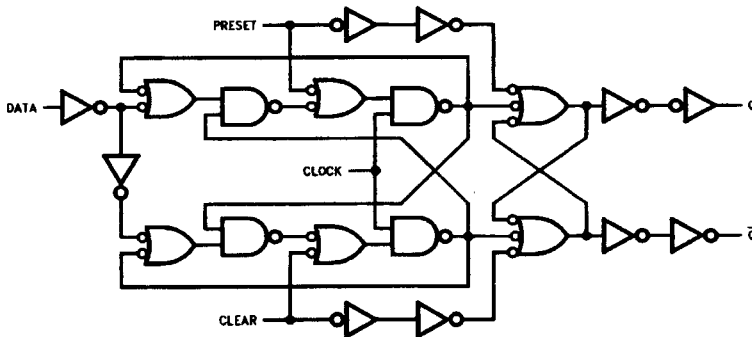
Inputs				Outputs	
PR	CLR	CLK	D	Q	\bar{Q}
L	H	X	X	H	L
H	L	X	X	L	H
L	L	X	X	H*	H*
H	H	↑	H	H	L
H	H	↑	L	L	H
H	H	L	X	Q0	$\bar{Q}0$

Note: Q0 = the level of Q before the indicated input conditions were established.

* This configuration is nonstable; that is, it will not persist when preset and clear inputs return to their inactive (high) level.

TOP VIEW

Order Number MM54HC74A or MM74HC74A



TL/F/11319-2

FIGURA 6B.7 ▲
Primera página de la hoja de datos de un flip-flop D dual.

El diagrama superior muestra cómo se conectan los flip-flops a las patillas del paquete. El término **fanout** indica cuántas entradas pueden conectarse a cada una de las salidas del chip.

MM54HC74A/MM74HC74A Dual D Flip-Flop with Preset and Clear

La Figura 6B.7 muestra la primera página del folleto de especificaciones del fabricante para un **flip-flop D dual**. La palabra dual indica que cada paquete contiene dos unidades. Como se puede ver a través de las conexiones, el chip tiene dos unidades de bloque-D. Cada una tiene un preset y un despejar, como se vio en el pestillo RS, además del reloj y la entrada de datos. Las características de los estados de cada unidad se muestran en la tabla de la derecha, que incluye importantes notas al pie. El disparador de filo en el filo ascendente del pulso del reloj se indica mediante una flecha ascendente \uparrow . (El símbolo \lrcorner también se utiliza en lugar de la flecha.) La X de la tabla indica que el estado de la entrada no tiene importancia. En la parte inferior se utiliza un diagrama para mostrar las puertas empleadas en la construcción del bloque. (Cuando aparecen tres entradas en una puerta O, si cualquiera de las tres está en alto, la salida es alto.) El chip tiene 14 patillas, dos de las cuales son para la conexión de la corriente CC, abreviadas como V_{cc} y GND. V_{cc} es el potencial más positivo, y GND es la abreviatura de la toma de tierra.

Contador binario

Ya se han visto dos ejemplos de puertas conectadas para formar bloques: el pestillo RS y el flip-flop D. El siguiente nivel consiste en conectar bloques para formar circuitos capaces de realizar una tarea específica. En la Figura 6B.8 se muestran cuatro bloques de flip-flops D unidos formando un contador binario de cuatro bits. La abreviatura INI representa el pulso iniciador que comienza la cuenta. Los símbolos en el comienzo de los cuatro gráficos de potencial inferiores (inmediatamente a la derecha de las letras) indican que los niveles de las salidas son desconocidos, pero todos son reposicionados en bajo mediante la iniciación. Los asteriscos señalan qué bit registra cada bloque. Los números de cuatro bits se representan en la parte inferior del diagrama. Obsérvese que la salida Q_A se dispa-

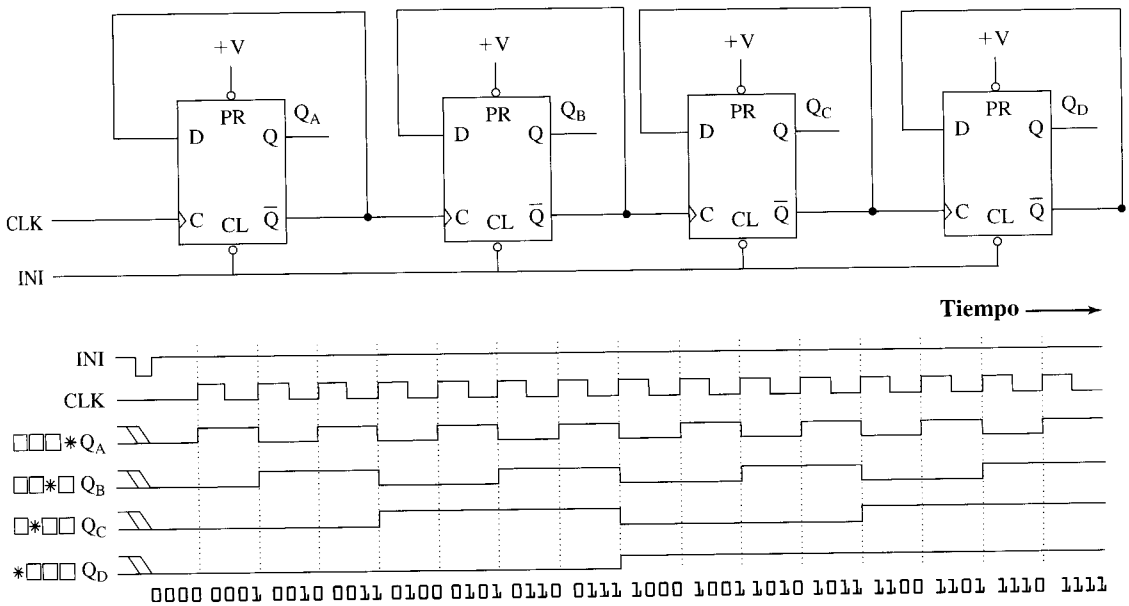


FIGURA 6B.8 ▲
Contador binario de cuatro bits.

Se puede construir un contador binario de cuatro bits a partir de cuatro bloques flip-flops D disparados por filo. Aquí, la abreviatura INI indica la iniciación. El preset se mantiene en alto conectándolo al generador de potencial positivo, y las salidas son Q_A , Q_B , Q_C , Q_D . Las líneas dobles inclinadas en la izquierda indican un estado inicial incierto.

Una utilidad de estos contadores es un convertidor analógico digital (CDA). Estos CDA se describen con más detalle en el Capítulo 17.

ra con el filo ascendente del reloj, y las otras tres salidas se disparan en el filo ascendente de su \overline{Q}_i anterior (esto es, en el filo descendente del Q_i precedente).

En conclusión, hemos observado brevemente una variedad de puertas, algunos bloques constituidos por esas puertas y un contador binario de cuatro bits construido a partir de estas puertas. Este estudio araña levemente la superficie del campo de la lógica binaria y las operaciones computerizadas, pero estas puertas, bloques lógicos y contadores sirven de base de las computadoras digitales que han revolucionado nuestras vidas y, además de otras áreas, el análisis químico.

6C. Profundizando: condensadores, inductores y corriente alterna (CA)

En el Capítulo 17 se puede encontrar una descripción más rigurosa de las corrientes y potenciales de corriente alterna.

En esta sección veremos cómo se extiende la ley de Ohm a la corriente alterna. Veremos sólo potenciales que varían de forma sinusoidal. Matemáticamente, describiremos este potencial como

$$e = V_p \text{ sen } \omega t$$

donde ω se relaciona con la frecuencia mediante $\omega = 2 \pi f$.

Condensadores y CA

Si se conecta un circuito como se indica en la Figura 6C.1, que es un generador de onda sinusoidal con un condensador acoplado a sus dos polos, y midiendo el potencial y la corriente simultáneamente, se obtendría el gráfico que se muestra en la Figura 6C.2. Este resultado puede explicarse mediante la definición de capacidad y la descripción del potencial aplicado.

Según la definición de capacidad de la Tabla 6.2 (denominada ahora i , para señalar la corriente alterna),

$$i_C = C \frac{de_C}{dt}$$

donde el subíndice C indica a través del condensador. Sustituyendo la derivada del potencial,

$$\frac{dV_p \text{ sen } \omega t}{dt} = V_p \omega \text{ cos } \omega t$$

FIGURA 6C.2 ► **Cambio de fase en una corriente capacitativa.**

Cuando el potencial e_C se hace pasar a través del condensador, aparece una corriente como la representada. Su máximo aparece en un ángulo de 90° en fase por delante del potencial. La corriente máxima se da con el potencial mínimo; la corriente va por delante del potencial.

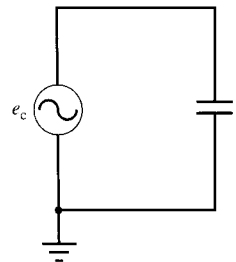
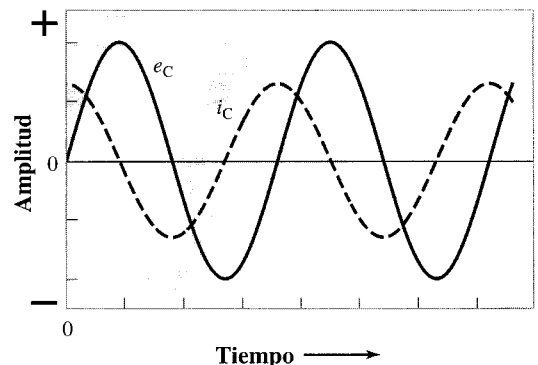


FIGURA 6C.1 ▲ **Un generador CA con un condensador.**

Se supone que los cables tienen una impedancia despreciable.

llegamos a

$$i_C = CV_p \omega \cos \omega t \quad (6C-1)$$

Ya que $\sin(\omega t + 90^\circ) = \cos \omega t$, una manera alternativa de esta ecuación es:

$$i_C = CV_p \omega \cdot \sin(\omega t + 90^\circ) \quad (6C-1)$$

La resistencia a través del condensador es calculable mediante la ley de Ohm. Así que escribimos la inversa de una resistencia efectiva, $R_{C,ef}$ como

$$\frac{1}{R_{C,ef}} = \frac{i_C}{e_C} = \frac{CV_p \omega \sin(\omega t + 90^\circ)}{V_p \sin \omega t}$$

Esta ecuación muestra que el condensador provoca un cambio de fase. Una alternativa para escribir esta relación se denomina nomenclatura **fasor**, y se expresa

$$\frac{1}{R_{C,ef}} = C\omega \angle 90^\circ$$

donde el seno desaparece y deja sólo el cambio en la fase de 90° , que se escribe $\angle 90^\circ$.

Para ajustarnos a la manera normal de escribir esta ecuación, utilizamos el siguiente convenio. Indicamos el cambio de fase escribiendo

$$\frac{1}{R_{C,ef}} = \omega C \angle 90^\circ = j\omega C \quad ; \quad j = \sqrt{-1}$$

En las expresiones matemáticas se suele utilizar i en vez de j . Sin embargo, fuera del campo más estricto de la matemática, i puede confundirse con la corriente, por lo que se utiliza j . Finalmente, en lugar de utilizar una R efectiva, empleada para indicar resistencia, se utilizará la letra Z y se denomina **impedancia**. Entonces,

$$Z_C = \frac{1}{j\omega C} \quad (6C-2)$$

para el condensador (después de invertir la ecuación). La Ecuación 6C-2 describe el comportamiento del condensador a distintas frecuencias. Por ejemplo, si simplemente se conecta un condensador a un generador con un amperímetro en serie, después de un determinado tiempo consumido en estabilizar el circuito, encontraríamos que no existe ninguna corriente circulando. Éste sería un resultado esperable, ya que las placas del condensador están separadas por un aislante, y el circuito no está cerrado. Pero, cuando se utiliza un generador de CA, circula una cierta corriente que crece con el aumento de la frecuencia. Al final, el condensador parece un simple cable: la corriente pasa como si no existiera el condensador. Una de las placas del condensador está transmitiendo la corriente alterna a la otra. Al igual que las ondas de radio alcanzan un receptor a muchos kilómetros de la antena de la emisora, la energía se transmite a la otra placa del condensador separada una fracción de milímetro. Este comportamiento se encuentra descrito en la Ecuación 6C-2. Para la corriente continua, ω es cero, y la impedancia es muy elevada; no circula corriente, pero la impedancia decrece con el aumento de la frecuencia.

La descripción de fasor y de los orígenes de su nomenclatura puede encontrarse con más detalle en la Sección 17A.

La impedancia se utiliza para extender la ley de Ohm a la corriente alterna. Esto es:

$$V = IZ \quad \text{o} \quad e = iZ$$

EJEMPLO 6C.1

¿Qué corriente atraviesa un condensador de $1 \mu\text{F}$ conectado a una corriente alterna CA de 3,0 V. y 60 Hz? ¿Y a 60 kHz?

Solución:

A 60 Hz:

Debemos escribir la corriente alterna CA en su forma dependiente del tiempo, convirtiendo la frecuencia a ω , teniendo en cuenta que $\text{Hz} \equiv \text{ciclos s}^{-1}$.

$$\omega = 60 \text{ ciclos s}^{-1} \cdot 2 \pi \text{ rad ciclos}^{-1} = 377 \text{ rad s}^{-1}$$

Seguidamente necesitamos conocer la amplitud de 3,0 V en corriente alterna para utilizar la ecuación del potencial aplicado:

$$e(t) = V_p \text{ sen } \omega t$$

La amplitud V_p es el pico de potencial rmc. El pico es

$$V_p = \sqrt{2} \cdot 3,0 \text{ V} = 4,24 \text{ V}$$

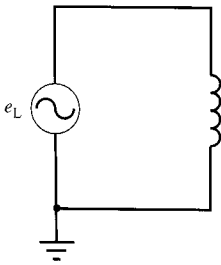
Ahora sustituimos los volares en $i_C = e_C/Z$ a 60 Hz.

$$i_C = 4,24 \text{ sen } \omega t \cdot j \cdot 377 \cdot 1 \times 10^{-6} \text{ F} = (1,60 \text{ cos } \omega t) \times 10^{-3} \text{ A}$$

donde j indica el cambio de fase de seno a coseno. La relación entre el potencial y la corriente se muestra en la Figura 6C.2. Se dice que la corriente **aventa** al potencial.

A 60 kHz:

La única diferencia en el cálculo para 60 Hz es que la frecuencia angular se convierte en $377 \times 10^3 \text{ rad s}^{-1}$. Como resultado, la corriente a través del condensador se convierte en mil veces mayor, esto es, $(1,60 \text{ cos } \omega t) \text{ A}$.



Inductores y CA

Si conectamos un inductor como sugiere la Figura 6C.3, las medidas mostrarán que los inductores se resisten a la corriente alterna. La corriente que atraviesa el inductor depende de la frecuencia de manera inversa a la que atraviesa un condensador; esto es, en corriente continua la corriente atraviesa el inductor como si éste fuera un cable simple y de baja resistencia, pero con el aumento de la frecuencia las corrientes son fuertemente impedidas. Esta respuesta se describe mediante la definición de inductancia de la Tabla 6.2. Es decir:

$$e_L = L \frac{di_L}{dt}$$

Para encontrar una expresión de la impedancia, buscamos la derivada de la corriente, como se acaba de mostrar. Dado que $i_L = I_p \text{ sen } \omega t$,

$$e_L = jL\omega i_L(t) \tag{6C-3}$$

FIGURA 6C.3 ▲
Un generador CA
con un inductor.

Se asume que los cables poseen una impedancia muy pequeña.

Comparando e_L con $e = iZ_L$, encontramos que la impedancia de un inductor es:

$$Z_L = j\omega L \quad (6C-4)$$

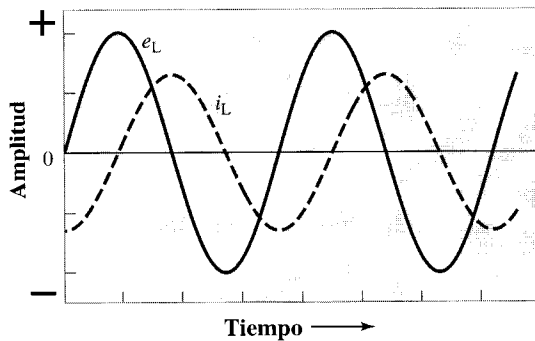
La resistencia se convierte en despreciable cuando ω tiende a cero ($\omega \rightarrow 0$) y, además, crece linealmente con la frecuencia.

EJEMPLO 6C.2

¿Qué corriente existe a través de un inductor de 1 henry a 60 Hz y a 60 kHz con 3,0 V de corriente alterna?

Solución:

Los valores de ω a las dos frecuencias son las mismas que en el Ejemplo 6C.1: 377 y $377 \times 10^3 \text{ rad s}^{-1}$, respectivamente. El valor de $e(t) = (4,24 \text{ sen } \omega t) \text{ V}$ como antes.



◀ FIGURA 6C.4
Cambio de fase en una corriente inductiva.

Cuando se aplica un potencial V_c a un condensador la corriente medida aparece como se muestra en la figura. Su máximo aparece en fase con el potencial en un ángulo de 90° por detrás. La corriente máxima tiene lugar cuando el potencial es mínimo y la corriente se retrasa al potencial.

A 60 Hz:

$$i_L = \frac{e_L}{Z} = \frac{e_L}{j\omega L} = \frac{4,24 \text{ sen } \omega t}{j \cdot 377 \text{ rad s}^{-1} \cdot 1 \text{ H}} = \frac{11,2 \text{ sen } \omega t}{j} \text{ mA}$$

Para completar el cálculo, debemos cambiar la fase de acuerdo con la presencia de j . Dado que $1/j = -j$, podemos escribir el resultado como:

$$i_L = (-11,2 \cos \omega t) \text{ mA}$$

El signo negativo indica que la corriente circula en sentido opuesto. Este resultado se indica en la Figura 6C.4. Se dice que la corriente se **retrasa al potencial**, como indica la figura.

A 60 kHz:

El único cambio en el cálculo de la corriente consiste en utilizar $377 \times 10^3 \text{ rad s}^{-1}$ en el denominador. Como resultado, la corrientes más pequeña en un factor de 10^3 . Esto es:

$$i_L = (-11,2 \cos \omega t) \mu\text{A}$$

Circuitos CL y resonancia

Si se combinan un inductor y un condensador en paralelo, como se ve en la Figura 6C.5, el comportamiento es muy diferente al que tendrían por separado. Este ejemplo también

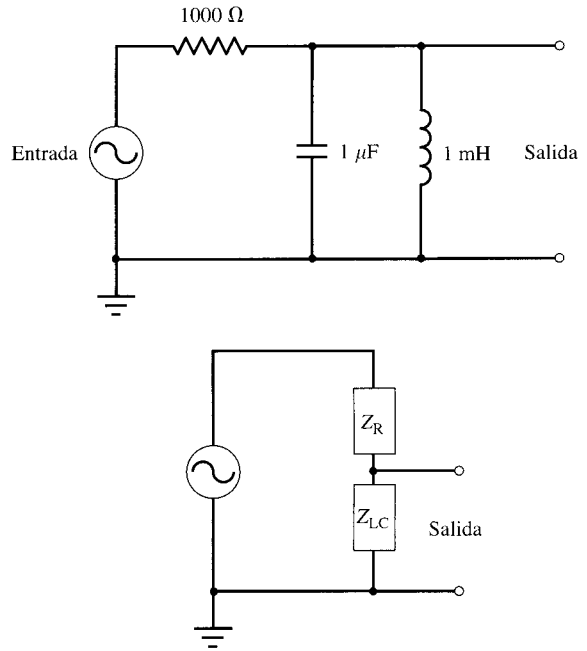


FIGURA 6C.5 ►
Circuito con inductor y condensador en serie y resistencia en paralelo.
 (Superior) Esquema.
 (Inferior) El circuito equivalente tiene dos impedancias.

muestra que las impedancias se manipulan igual que las resistencias en un circuito de corriente continua. Por ejemplo, si se desea calcular la resistencia total de un grupo de resistencias conectadas en paralelo, se utilizaría

$$\frac{1}{R_{\text{tot}}} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad (6-6a)$$

Similarmente, la impedancia de un grupo de impedancias en paralelo se halla utilizando

$$\frac{1}{Z_{\text{tot}}} = \frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} \quad (6C-5)$$

Para el **circuito LC** de la Figura 6C.5 (ignorando la resistencia, ahora Z_R) escribiremos

$$\frac{1}{Z_{LC}} = \frac{1}{Z_L} + \frac{1}{Z_C} = \frac{1}{j\omega L} - \frac{\omega C}{j} = j\left(\omega C - \frac{1}{\omega L}\right)$$

Con algunas modificaciones, la ecuación se convierte en

$$Z_{LC} = \frac{j}{\left(\frac{1}{\omega L}\right) - \omega C}$$

Pasemos por alto ahora la fase y miremos al denominador. Cuando $1/\omega L = \omega C$, el denominador se convierte en cero y la impedancia en infinito. La frecuencia a la que esto ocurre se denomina **frecuencia de resonancia**, y se simboliza ω_o o f_o .

$$\omega_o = \frac{1}{\sqrt{LC}} \quad ; \quad f_o = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \quad (6C-6)$$

EJEMPLO 6C.3

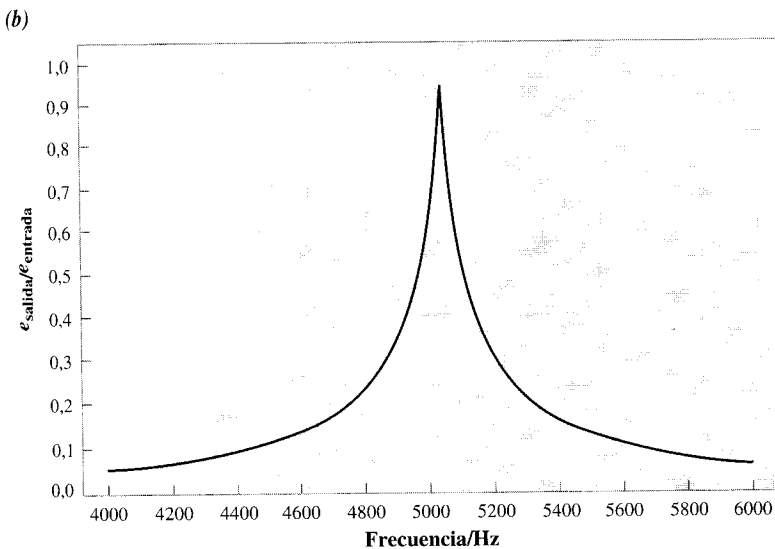
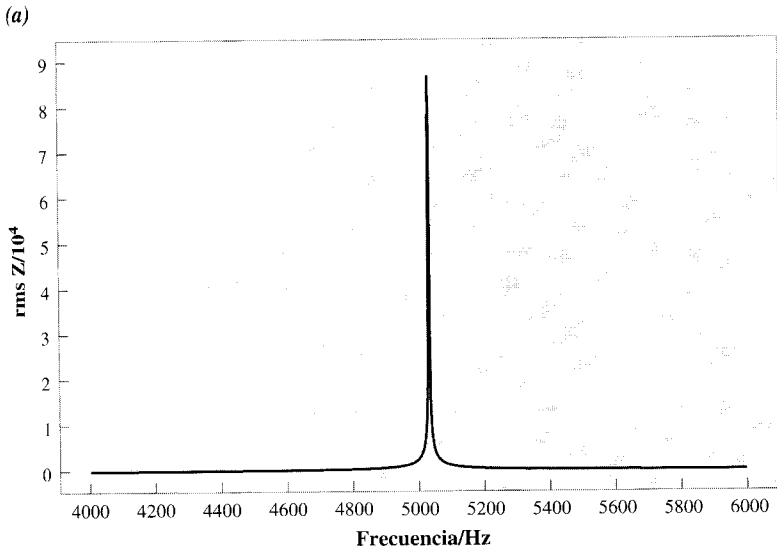
Hallar la frecuencia de resonancia de un inductor de 1 mH conectado en paralelo con un condensador de $1\mu\text{F}$.

Solución:

La frecuencia de resonancia es:

$$f_o = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} = \frac{1}{2\pi\sqrt{1 \times 10^{-3} \text{ H} \cdot 1 \times 10^{-6} \text{ F}}} = 5033 \text{ Hz}$$

En la Figura 6C.6a se muestra un gráfico de la respuesta según la frecuencia de un circuito LC. La anchura del pico en sistema real depende de la resistencia existente dentro de del **circuito LCR**: a mayor resistencia, pico más ancho.



◀ FIGURA 6C.6

(a) Gráfico de la impedancia rms frente a la frecuencia para el circuito LC de la Figura 6C.5. (b) Gráfico de la relación del potencial de salida y el de entrada en la misma escala de frecuencias.

Otra manera de ilustrar este caso es representar la relación $e_{\text{salida}}/e_{\text{entrada}}$ para la totalidad del circuito; esta proporción se denomina función de **transferencia de potencial** y aparece representada en la Figura 6C.6b. Las dos impedancias forman un divisor de potencial, pero la parte *LC* del circuito LCR por sí sola depende de la frecuencia. El potencial de respuesta casi se iguala al potencial de resonancia. En otro punto, este **filtro de paso de banda** bloquea la corriente.

Bibliografía recomendada

VASSOS, B. H., EWING, G. W. 1993. *Analog and computers electronics for scientists*. 4th ed. New York: Wiley.

Un buen libro de introducción a la electrónica analógica y digital.

WAYNE, R. P. 1994. *Chemical Instrumentation*. Oxford: Oxford University Press.

Un buen libro de introducción a la electrónica analógica y digital.

COUGHLIN, R. F., VILLANUCCI, R. S. 1987. *Introductory Operational Amplifiers And Linear ICs: Theory And Experimentation*. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall.

Un libro útil que incluye muchas de las especificaciones de los amplificadores operacionales y sus muchos usos. Claramente escrito.

HOROWITZ, P., HILL, W. 1989. *The Art Of Electronics*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press.

El mejor libro en su campo para estudiantes rigurosos de electrónica. Una aproximación de ingeniería electrónica a soluciones prácticas para problemas prácticos.

INGLE, J. D. J., CROUCH, S. R. 1988. *Spectrochemical Analysis*. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall.

En los Capítulos 5 y 13 se puede encontrar un tratamiento excelente de S/R espectroscópico.

MCWHORTER, G., EVANS, A. J. 1994. *Basic Electronics*. Lincolnwood, Illinois: Master Publishers.

Una buena introducción. Puede encontrarse en Radio Shack®. Por ejemplo, libros de especificaciones de MOTOROLA, NATIONAL SEMICONDUCTOR, LINEAR TECHNOLOGY, BURR-BROWN, APEX.

Tanto los libros de especificaciones de los fabricantes como sus sitios web son buenos lugares para encontrar datos y circuitos para solucionar problemas. Los libros de componentes analógicos explican los amplificadores operacionales.

Ejercicios

6.1. Para el circuito de la Figura 6.1:

- (a) Calcular la resistencia total del circuito.
- (b) ¿Qué corriente se espera que circule a través de R_1 ? ¿Y de R_2 ? ¿Y de R_3 ?

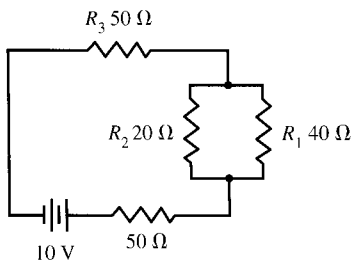


FIGURA 6.1.1 ▲

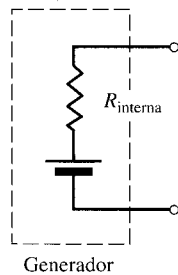


FIGURA 6.2.1 ▲

6.2. Una batería real se comporta como un generador de potencial y una resistencia en serie como se ve en la Figura 6.2.1. Una pila vieja, cuando se conecta a un cable de

resistencia despreciable, sólo crea una corriente de 5 mA. ¿Cuál es su resistencia interna?

6.3. El circuito de la Figura 6.3.1 se utiliza con un detector para medidas de intensidad de luz. El potencial aplicado es de 900 V y $R = 100 \text{ k}\Omega$.

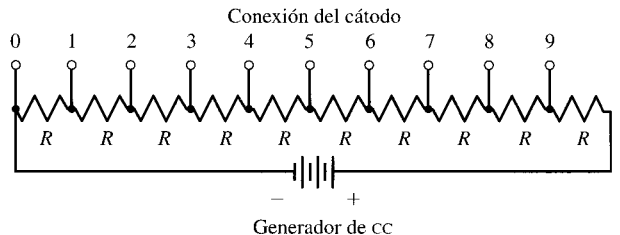


FIGURA 6.3.1 ▲

- (a) ¿Qué corriente circula por el circuito?
- (b) ¿Cuál es el potencial entre los puntos 1 y 2? ¿y entre 5 y 6? ¿y entre 0 y 4?
- (c) Responder a la pregunta (a) si $R = 10 \text{ k}\Omega$.

- 6.4. El circuito de la Figura 6.4.1 se encuentra formando parte de un amplificador. Específicamente, controla el nivel de amplificación. ¿Cuál será la resistencia total cuando se conectan:

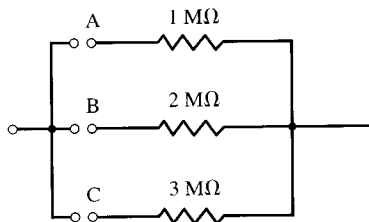


FIGURA 6.4.1 ▲

- (a) Solamente A?
 (b) Solamente A y B?
 (c) A, B y C?
- 6.5. Un transductor de diodo que convierte la luz en corriente eléctrica se denomina fotodiodo. La respuesta del fotodiodo es lineal con una corriente de hasta 3 mA. Supongamos que se utiliza un fotodiodo con un amplificador que responde al potencial. El amplificador es lineal con potenciales de hasta 4,2 V. ¿Qué resistencia se necesitará en el circuito de la Figura 6.5.1 para que se utilicen ambos intervalos de linealidad?

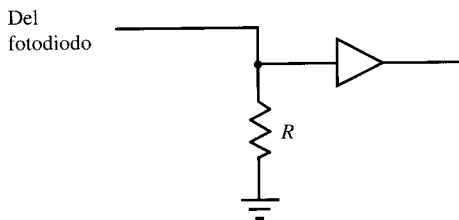


FIGURA 6.5.1 ▲

- 6.6. Para el circuito de la Figura 6.6.1,

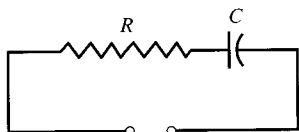


FIGURA 6.6.1 ▲

- (a) Hállese la constante de tiempo cuando $R = 300 \text{ k}\Omega$ y $C = 10 \text{ pF}$.
 (b) Si C se mantiene constante, ¿qué valor de R se necesitará para que la constante de tiempo se incremente en 0,1 s?
 (c) Si R se mantiene constante, ¿qué valor de C se necesitará para que la constante de tiempo se incremente en 0,1 s?
- 6.7. El circuito de la Figura 6.7.1 se carga con 10 V a través del condensador ($C = 0,01 \text{ }\mu\text{F}$; $R = 10 \text{ k}\Omega$) y después se descarga mediante el interruptor.

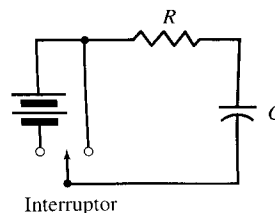


FIGURA 6.7.1 ▲

- (a) ¿Cuánto tiempo será necesario para descargar el condensador un 10% de su potencial original?
 (b) Si el condensador se carga a 20 V, ¿cuánto tiempo se necesitará para descargarlo un 10% de su potencial original?

- 6.8. Para el circuito de la Figura 6.8.1,

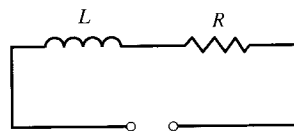


FIGURA 6.8.1 ▲

- (a) Hállese la constante de tiempo cuando $R = 300 \text{ }\Omega$ y $L = 10 \text{ H}$.
 (b) ¿Cuál será el valor de R necesario para que la constante de tiempo se incremente en 0,1 s?

- 6.9. Una manera de crear un cambio lineal de potencial es cargar o descargar un condensador durante un tiempo corto comparado con la constante de tiempo del circuito. Para el circuito de la Figura 6.9.1, ¿cuál es el valor de R necesario para hacer que el condensador se cargue de 0 al 5% de V_{aplicado} exactamente 50 ms después de que se cierre el interruptor si $C = 0,1 \text{ }\mu\text{F}$?

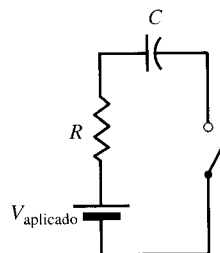


FIGURA 6.9.1 ▲

- 6.10. Una manera de determinar el potencial de un transductor es aplicar un potencial exactamente conocido contra el del transductor y determinar cuándo no existe circulación de corriente utilizando un amperímetro de gran sensibilidad. Este circuito se muestra en la Figura 6.10.1. El potencial conocido se denomina potencial de oposición. En el circuito de oposición, la resistencia variable con su valor entre R_1 y R_2 puede situarse en cualquier valor de la

proporción R_1/R_2 desde cero hasta infinito. Suponemos que $V = 9\text{ V}$ exactamente. Se conectan las tomas de tierra.

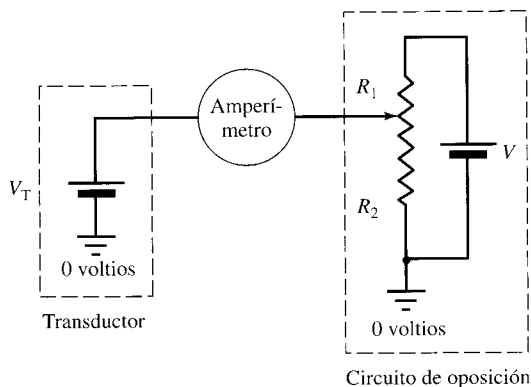


FIGURA 6.10.1 ▲

- (a) ¿A qué valor de R_1/R_2 se encuentra a 0 V el amperímetro?
 - (b) ¿A qué valor de R_1/R_2 se encuentra a 9 V el amperímetro?
 - (c) Si el potencial del transductor es 2,32 V, ¿a qué valor de R_1/R_2 se compensará el potencial y, por lo tanto, no circulará corriente?
- 6.11. Para el seguidor de la Figura 6.14, escríbase la expresión algebraica de la corriente que circula a través de R_L como función de V_{entrada} .

6.12. ¿Cuál es la función de transferencia del amplificador de la Figura 6.15?

6.13. Con un paso de banda de 20 kHz:

- (a) ¿Cuál será la magnitud del ruido de disparo para una corriente de $1\ \mu\text{A}$? ¿Y para una corriente de $1\ \text{pA}$?
- (b) ¿Qué fracción de 1 A, $1\ \mu\text{A}$ y de $1\ \text{pA}$ en CC es la fluctuación del ruido?

6.14. Si $V_{\text{disparo}}(\text{rmc}) = 30\ \mu\text{V}$ y $V_{\text{térmico}}(\text{rmc}) = 45\ \mu\text{V}$, ¿cuál será el potencial del ruido total del circuito?

6.15. En el Ejemplo 6.7, encontramos una corriente de 80 nA de ruido de disparo. Si estos 80 nA se hacen pasar por la misma resistencia de $10\ \text{k}\Omega$ del Ejemplo 6.6, ¿qué potencial se produciría? ¿Predominaría el ruido de disparo o el térmico en el potencial de respuesta?

6.16. Un modo normal de rechazo de 100 dB es bastante bueno. ¿En qué factor algebraico difieren si se aplica este modo normal de rechazo a potenciales? ¿Qué factor es la proporción de potencia rechazada referida a RMCR?

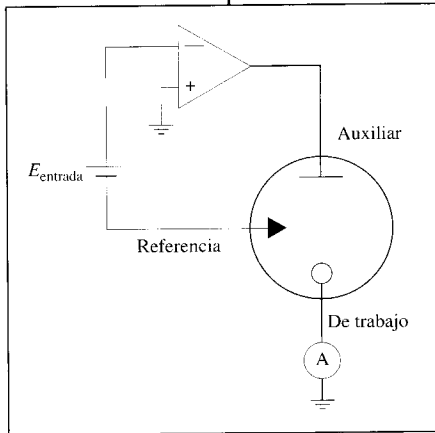
6.17. Una medida de la potencia mientras decrece desde la frecuencia central (media) normalmente se da en $-\text{dB}_m$ respecto al centro. ¿En qué factor se reduce la potencia cuando es $-80\ \text{dB}_m$ a 100 Hz de la frecuencia central?

6.18. Demostrar que las unidades de la ecuación del ruido de disparo (Ecuación 6-14) son amperios.

6.19. Para la Figura 6.15, ¿cuál es la corriente a través de R_L cuando $V_i = 2,3\ \text{V}$? ¿En qué dirección circula la corriente?

CAPÍTULO

Métodos electroquímicos

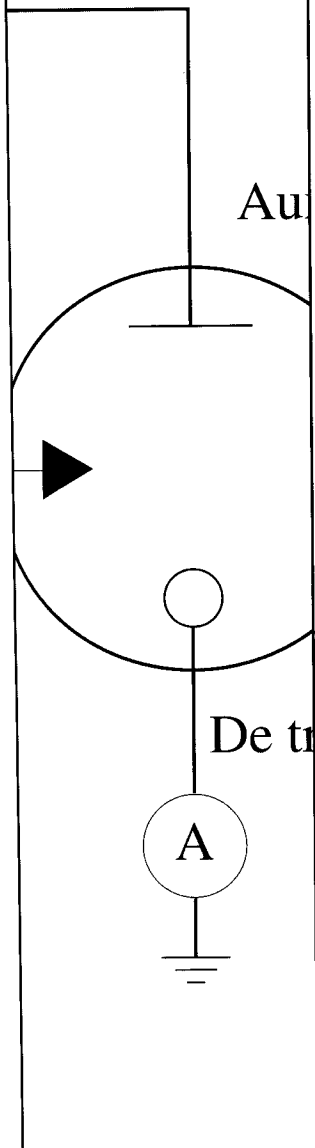


Contenido

- 7.1. Variedad de métodos electroquímicos
- 7.2. Repaso: potenciales electroquímicos y la ecuación de Nernst
- 7.3. Sobre las medidas
- 7.4. Potenciometría y electrodos selectivos de iones
- 7.5. Métodos electroquímicos basados en el flujo de corriente
- 7.6. Potenciostato de tres electrodos
- 7.7. Conductimetría
- 7.8. Culombimetría
- 7.9. Amperometría
- 7.10. Voltamperometría
- 7.11. Voltamperometría de redisolución

Profundizando

- 7A. Notación de las células electroquímicas
- 7B. Determinación de coeficientes de selectividad
- 6C. Puentes salinos y uniones líquidas
- 7D. Potenciales, medida de intensidad de corriente y voltamperometría diferencial de impulsos



7.1. Variedad de métodos electroquímicos

Este capítulo lo hemos organizado de la forma que describimos a continuación. Después de un breve repaso de la ecuación de Nernst, exponemos los métodos experimentales que la utilizan directamente; son los métodos **potenciométricos** basados en la medida del potencial.

A continuación, describiremos las técnicas para medir los cambios de resistencia de disoluciones electrolíticas, cuyo valor cuantitativo depende de la ley de Ohm. La inversa de la resistencia, $1/R$, se llama **conductancia**, y es directamente proporcional a las concentraciones iónicas. La medida de la conductancia se llama por consiguiente **conductimetría**.

El siguiente conjunto de técnicas establece la relación entre el número de moles de una sustancia oxidada o reducida y la carga total. Estas técnicas **culombimétricas** las veremos en la tercera parte de este capítulo.

El último grupo de técnicas que describimos combina la medida de potencial, intensidad y tiempo. Con estos métodos, observamos los cambios en intensidad en un período de tiempo, en función del potencial aplicado a la célula electroquímica. Debido a que el potencial y la intensidad se miden simultáneamente estos métodos se denominan **voltamperométricos**. Son muy sofisticados en cuanto a concepto, y posiblemente sean los métodos más elegantes para el análisis de trazas.

7.2. Repaso: potenciales electroquímicos y la ecuación de Nernst

Actividades químicas

Los potenciales electroquímicos de las disoluciones dependen de las **actividades** de los solutos que las componen, y a su vez de una serie de condiciones estándar, relacionadas con los cambios de temperatura, presión, y concentración; las condiciones son fijas y sus valores fueron establecidos por los primeros investigadores de este campo en 298 K y 1 atm de presión. Asimismo, establecieron que el estado estándar de concentración para

un sólido es el sólido puro;
un disolvente es el disolvente puro;
un soluto es una disolución 1M de ese soluto; y
gas es la concentración de gas puro.

El establecimiento de estas condiciones estándar es también crítico en la descripción y catalogación de reacciones electroquímicas.

Como ya sabemos, debido a que la actividad de cualquier sólido puro es siempre la unidad, la concentración de un sólido no aparece en la ley de acción de masas. De igual forma, la actividad del disolvente en una disolución diluida es la unidad, por lo que las concentraciones de disolventes no aparecen en la ley de acción de masas para soluciones diluidas. La acción de las especies activas generalmente se designa como a_x para la actividad de X. La ley de acción de masas tiene formas similares a la disociación del HBr.

$$K_{\text{act}} = \frac{a_{\text{H}^+} \cdot a_{\text{Br}^-}}{a_{\text{HBr}}}$$

Para expresar con mayor claridad la ley de acción masas, escribiremos las especies activas como $[\text{H}^+]$, $[\text{Br}^-]$, $[\text{HBr}]$, y así sucesivamente. Sin embargo, sabremos cuándo éstas

corresponden a *actividades* porque la constante de equilibrio se designará como K_{act} . Si se van a usar las *concentraciones* de algunas especies, lo indicaremos expresamente.

La ecuación de Nernst

En el resto de esta sección, vamos a repasar las relaciones entre potenciales eléctricos y las reacciones químicas que pueden producirlos. Otros nombres para el potencial eléctrico son la **fuerza electromotriz FEM**, **potencial electroquímico**, y también voltaje. Para generar un potencial, a partir en una reacción química, *es necesaria una transferencia de cargas*. (Para algunas reacciones puede parecer que no se deduce esto de las ecuaciones estequiométricas; por ejemplo: $3\text{H}_2 + 2\text{N}_2 \rightleftharpoons 2\text{NH}_3$.)

La magnitud del potencial asociado con un equilibrio químico que implique transferencia de cargas se describe cuantitativamente por la ecuación de Nernst.

$$E = E^\circ - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln K_{\text{act}} \quad (7-1a)$$

donde:

E es el potencial electroquímico y está relacionado con la energía libre de reacción, ΔG , según la ecuación $\Delta G = -n\mathcal{F}E$.

E° , **Potencial estándar**, es el potencial electroquímico de la reacción cuando los reactivos y productos están en *condiciones estándar*.

R es la constante de los gases ($8,3145$ julios $\text{K}^{-1} \text{mol}^{-1}$).

T es la temperatura en Kelvins.

n es el número de moles de electrones transferidos en la reacción por mol de reactivo.

\mathcal{F} es la constante de Faraday, y representa el número de coulombios por mol de electrones ($\mathcal{F} = 96485$ coulombios $\cdot \text{mol}^{-1} = 96485$ julios $\cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$).

K_{act} es la constante de equilibrio termodinámica correspondiente al E específico de la ecuación. En otras palabras, al igual que las constantes de equilibrio dependen de T y P , también dependen de E . Por tanto, K_{act} es constante para valores fijos de T , P y E . Por otro lado, para suministrar una descripción correcta del equilibrio químico y de su relación con el potencial electroquímico, todas las concentraciones tienen que expresarse como actividades, por lo que usamos la K_{act} . En este texto suponemos que las concentraciones son iguales a las actividades.

Si en la ecuación de Nernst se sustituye $T = 298$ K (25 °C) se transforma el logaritmo neperiano en decimal y se incluyen los valores de las constantes R y \mathcal{F} . El potencial en voltios de la *reacción electroquímica* es:

$$E = E^\circ - \frac{0,059}{n} \log K_{\text{act}} \quad \text{a } 298 \text{ K} \quad (7-1b)$$

La ecuación de Nernst se aplica a dos tipos de procesos químicos que comprenden movimientos de carga eléctrica. Un tipo es el de reacciones de oxidación-reducción, que ya expusimos anteriormente, en las que se transfiere un electrón. El otro proceso comprende la transferencia de carga iónica por difusión, de iones de una zona donde están más concentrados a zonas donde están más diluidos. El equilibrio químico asociado con cada uno de

estos procesos —tanto reacciones redox (transferencia de e^-) como cambios de concentración (transferencia de cargas iónicas)— puede *siempre* tratarse por separado utilizando la ecuación de Nernst. Cuando *ambas* redox y cambios de concentración tengan lugar simultáneamente, la FEM de la reacción total será igual a la suma de las FEM de ambos casos: redox más concentración. Estos cálculos los demostraremos más adelante en este capítulo.

Merece la pena que nos fijemos en dos situaciones especiales relacionadas con el equilibrio químico, descritas por la ecuación de Nernst. En primer lugar, cuando las concentraciones de las especies activas presentes son respectivamente las mismas que las de su estado estándar, entonces su actividad en la ley de acción-masas es igual a 1. En esta condición estándar especial, la constante de equilibrio adquiere el valor de 1 en todos los casos:

$$K_{\text{act}} = 1; \quad \text{todas las especies activas en estado estándar.}$$

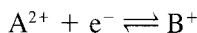
Y, por tanto:

$$E = E^\circ; \quad \text{todas las especies activas en estado estándar.}$$

La segunda condición especial ocurre cuando una reacción química ha llegado a equilibrio. En este punto no puede proseguir la reacción ni hay más transferencia de carga neta. La transferencia de carga cesa sólo cuando la FEM es igual a cero, y así,

$$E = 0; \quad \text{en equilibrio}$$

Por tanto, cuando medimos un potencial positivo o negativo, el sistema no está en equilibrio. ¿Cómo están relacionadas las medidas de potencial con la reacción química? la respuesta general puede deducirse analizando el modelo descriptivo de la ecuación de Nernst. Podemos escribir una reacción general de reducción:



para ello,

$$K_{\text{act}} = \frac{a_{B^+}}{a_{A^{2+}}}$$

Supongamos que el potencial estándar $E^\circ = 0$, y que las concentraciones molares pueden sustituirse por actividades. Por estequiometría podemos ver que se transfiere una carga, y $n = 1$.

En equilibrio, cuando $E = 0$,

$$E = 0 = 0 - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[B^+]}{[A^{2+}]}$$

Esto es cierto sólo cuando $[B^+]/[A^{2+}] = 1$, lo que quiere decir que:

$$[A^{2+}] = [B^+]; \quad \text{en equilibrio}$$

Ahora, supongamos que mezclamos dos disoluciones más de las mismas especies activas A^{2+} y B^+ , pero con distintas relaciones de concentración, y veamos cómo cambia el potencial de su valor de equilibrio cero. La primera disolución que mezclamos tiene más A^{2+} que B^+ ; concretamente, supongamos que $[A^{2+}] = 10 [B^+]$. Como consecuencia,

$$E = 0 - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[B^+]}{[A^{2+}]} = 0 - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{1}{10} = + 2,303 \frac{RT}{n\mathcal{F}} \text{ voltios}$$

Sabemos por el principio de Le Chatelier que cuando $[A^{2+}] = 10 [B^+]$ la reacción tenderá a desplazarse hacia la derecha, tratando de alcanzar la condición de equilibrio donde

$[A^{2+}] = [B^+]$. Así, para una reacción que tiende a desplazarse espontáneamente hacia la derecha (Le Chatelier) prevemos un potencial positivo E (Nernst).

En la segunda disolución hay más B^+ que A^{2+} ; supongamos que $[A^{2+}] = 0,10 [B^+]$. Como consecuencia,

$$E = 0 - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[B^+]}{[A^{2+}]} = -2,303 \frac{RT}{n\mathcal{F}} \text{ voltios}$$

Tal como hemos imaginado, un potencial negativo significa que la reacción tenderá a desplazarse espontáneamente a la izquierda, hacia el lado del reactivo.

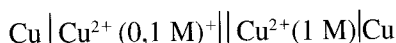
Resumiendo: cuando la reacción se desplaza espontáneamente hacia el lado del producto, el potencial es positivo. Cuando la reacción se desplaza hacia el lado del reactivo, el potencial es negativo. Éste es un resultado general.

Una reacción química se desplaza espontáneamente en la dirección en que se ha escrito, si el potencial de la misma es positivo.

Este principio significa que si el potencial de reacción es mayor que cero los productos se forman preferentemente hacia los reactivos. La reacción no tiende espontáneamente a formar productos si el potencial es negativo. También corroborado por ser $\Delta G = -n\mathcal{F}E$.

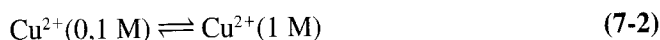
Células de concentración

El potencial generado únicamente por gradientes de concentración, podemos medirlo utilizando una célula electroquímica descrita como:



En la Sección 7A proporcionamos una descripción de la notación de esta célula. El potencial de la célula es el equivalente a diluir una disolución de $\text{Cu}^{2+} 1 \text{ M}$ para producir una disolución de $0,1 \text{ M}$. La célula de concentración la dibujamos con menor concentración por el lado izquierdo porque la oxidación se produce ahí, en una reacción espontánea. (Para comprender mejor este punto consideremos cómo el $[\text{Cu}^{2+}]$ alcanza el equilibrio en las dos semicélulas cuando las disoluciones no se mezclan.)

La ecuación que describe la reacción global de la célula es:



El potencial de Nernst para la célula es:

$$E_{\text{célula}} = E^{\circ}_{\text{célula}} - \frac{0,059}{2} \log \frac{1}{0,1} = (E^{\circ}_{\text{célula}} - 0,029) \text{ V} \quad (7-3a)$$

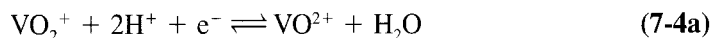
Sin embargo, si requerimos el valor de $E^{\circ}_{\text{célula}}$ para obtener el potencial de la misma, en este caso la célula estándar es cobre *versus* cobre y el resultado del cálculo es: $E^{\circ}_{\text{célula}} = E^{\circ}_{\text{Cu}} - E^{\circ}_{\text{Cu}} = 0 \text{ V}$; con lo que la Ecuación 7-3a se convierte en:

$$E_{\text{célula}} = (0 - 0,029) \text{ V} = -0,029 \text{ V} \quad (7-3b)$$

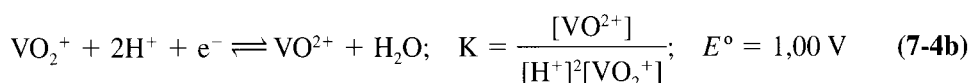
El potencial total resulta de la diferencia de concentraciones únicamente.

pH y el potencial electroquímico

Podemos desplazar la FEM de una célula cambiando la concentración de una especie *no electroactiva*, presente en el equilibrio electroquímico. Un ejemplo muy estudiado de este tipo es el efecto del pH sobre el potencial de una disolución de vanadio. Observamos que con la siguiente ecuación podemos describir la reducción del vanadato, VO_2^+ en disolución ácida:



La posición de este equilibrio puede desplazarse alterando el pH de la disolución. Al disminuir el pH (sube $[\text{H}^+]$), la reacción se desplaza hacia la derecha favoreciendo la formación de la especie reducida VO^{2+} en comparación con la forma oxidada VO_2^+ . Lo describiremos de forma cuantitativa con el siguiente cálculo:



con el potencial estándar descrito. Aplicamos la ecuación de Nernst a $T = 25^\circ\text{C}$ y obtenemos:

$$E = E^\circ - \frac{0,059}{1} \log \frac{[\text{VO}^{2+}]}{[\text{H}^+]^2[\text{VO}_2^+]} = E^\circ - \frac{0,059}{1} \left(\log \frac{[\text{VO}^{2+}]}{[\text{VO}_2^+]} - \log [\text{H}^+]^2 \right)$$

Por la definición de pH sabemos que $\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+}$; sustituyendo y reagrupando términos tenemos:

$$\begin{aligned} E &= E^\circ - \frac{0,059}{1} \left(\log \frac{[\text{VO}^{2+}]}{[\text{VO}_2^+]} + 2 \text{pH} \right) = \\ &= E^\circ - \frac{0,059}{1} \log \frac{[\text{VO}^{2+}]}{[\text{VO}_2^+]} - 0,118 \text{ pH} \end{aligned} \quad (7-5)$$

Por tanto, la diferencia de potencial, ΔE , resultante únicamente del cambio de pH, ΔpH , nos da:

$$\Delta E = -0,118 \Delta\text{pH}$$

Lo que significa que la concentración de H^+ se multiplica por diez por cada unidad de disminución del pH; el potencial de la semicélula aumenta en 118 mV, y el equilibrio de la Ecuación (7-4) se desplaza más hacia la derecha.

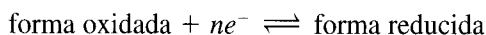
Los potenciales electroquímicos pueden verse afectados también por la presencia de especies activas que no figuran en la ecuación principal del proceso de oxidación-reducción. La presencia de AEDT afecta al potencial de reducción de Cu^{2+} a Cu metálico, ya que disminuye la concentración de Cu libre y modifica el potencial esperado, basado en la concentración total de cobre ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{libre}} + [\text{CuAEDT}^{2-}]$).

El potencial formal

Sólo cuando usamos la constante de equilibrio termodinámico K_{act} , la ecuación de Nernst describe correctamente los cambios de potencial de células y semicélulas electroquímicas. La FEM depende de las *actividades* de los componentes del par redox.

Sin embargo, en la mayoría de los casos, medimos el potencial de equilibrio en disoluciones complicadas, con numerosas especies de iones conocidas o desconocidas que pueden influir en las actividades del par redox. En un fluido biológico se dan estas condiciones, y pueden ser tan complicadas que no podamos comprender totalmente los efectos de los miles de especies activas presentes. Todos estos efectos hacen difícil, si no imposible, comparar los potenciales medidos con los potenciales estándares tabulados. Utilizando este criterio, debemos considerar complicadas incluso las disoluciones relativamente sencillas, como las que resultan de una digestión con ácidos.

Para evitar estos problemas del equilibrio electroquímico, se define $E^{\circ'}$ como el **potencial formal**, que lo equipara con el hidrógeno estándar. El signo prima (') indica que no todas las especies tienen como actividad la unidad, siendo la ecuación general:



Definimos el potencial formal cuando:

$$\frac{[\text{forma reducida}]}{[\text{forma oxidada}]} = 1 \quad (7-6)$$

Ésta es la fracción de concentraciones no activas y que además no tienen por qué ser 1 M.

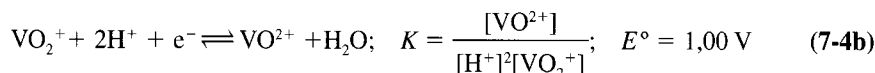
Si el potencial de un par redox (semicélula) es un potencial formal, *tiene* que ir acompañado de una descripción detallada de las condiciones en las que se midió el valor, si no, los datos serían inútiles ya que dichas condiciones son desconocidas para los lectores. Para una gama amplia de métodos electroanalíticos, el potencial formal es más útil que el potencial estándar por ser un parámetro que puede medirse directamente. Describimos las variaciones de potencial formal para dos semirreacciones representativas en la Tabla 7.1. Las variaciones del potencial formal se deben a cambios en el entorno, incluyendo los efectos de la fuerza iónica, formación de complejos y el pH. Los mayores efectos suelen ser debidos a variaciones en el pH. Para ilustrar este punto, veamos el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 7.1

¿Qué valor podemos esperar de $E^{\circ'}$ para el par vanadio (V)/vanadio (IV) en una disolución de pH 3 donde la concentración total de vanadio es de 0,02 M? Omitáanse los posibles efectos de la fuerza iónica y de la formación de complejos.

Solución:

Dada la reacción descrita en la Ecuación 7-4b,



El potencial formal se define en el momento en el que la relación de concentraciones de la forma oxidada y reducida de vanadio es 1 (Ecuación 7-6). Ya que el total de la concentración es de 0,02 M, el potencial formal se medirá cuando $[\text{VO}_2^+] = [\text{VO}^{2+}] = 0,01 \text{ M}$. Por tanto, de la Ecuación 8-7 obtenemos:

$$\begin{aligned} E^{\circ'} &= E^{\circ} - (0,059/1) \log [(0,01)/(0,01)(10^{-3})^2] \\ &= 1,00 - 0,059 \cdot (+6) = 0,65 \text{ V} \end{aligned}$$

Prevedemos que el potencial formal del vanadio en disolución total acuosa de pH 3 y 0,02 M está sobre 0,65 V *versus* ENH (Electrodo Normal de Hidrógeno) comparado con el potencial estándar de 1,00 V.

Nota: hemos supuesto que la concentración total de vanadio no afecta al valor del E° calculado. Esto sólo es verdad si las especies de vanadio incluidas tienen los mismos coeficientes estequiométricos, es decir, si sus concentraciones aparecen elevadas a la misma potencia. Por otro lado, los efectos de fuerza iónica y de la formación de complejos dependerán de la identidad del ácido; estos efectos pueden verse en la Tabla 7.1.

Una indicación final relacionada con la nomenclatura: El potencial electroquímico medido en un experimento en el que la fracción:

$$[\text{reducida}]/[\text{oxidada}] \neq 1,$$

lo diferenciamos, de los estándares y formales, generalmente escribiéndolo como E . Solamente cuando los datos pueden relacionarse¹ al potencial estándar E° o a un potencial formal E° deberán usarse los símbolos indicativos. La falta de un símbolo de estado estándar (°) o la presencia del símbolo de prima (') debe alertarnos para buscar las condiciones experimentales en que se ha realizado la medida.

Tabla 7.1. Potenciales formales para las semirreacciones del hierro y el dicromato en varias disoluciones *versus* EEH (Electrodo Estándar de Hidrógeno)

Ácido y concentración/M	$E^\circ_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}/N^*$	$E^\circ_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}}/N^*$
HCl		
0,1	0,73	0,93
0,5	0,72	0,97
1	0,70	1,00
3	0,68	1,08
H ₂ SO ₄		
0,1	0,68	0,92
0,5	0,68	1,08
4	0,68	1,15
HClO ₄		
0,1	0,735	0,84
1	0,735	1,025
Potencial estándar	0,771	1,33

* Estos valores incluyen potenciales que surgen de los instrumentos de medida, llamados potenciales de contacto.

Fuente: Smith, G. F. 1951. *Anal. Chem.* 23:925.

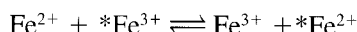
¹ Relacionado significa que está unido por extrapolación, interpolación o por una medida directa, y que incluye varias correcciones posibles.

7.3. Sobre las medidas

¿Cómo un electrodo inerte mide el potencial de un par redox?

Si un hilo conductor químicamente inerte (o fibra o placa) se introduce en una disolución, encontramos que el potencial medido en el hilo conductor es igual al potencial electroquímico de la disolución. Por ejemplo, al utilizar un hilo conductor de platino con un par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. También podemos usar otros materiales además del platino —entre otros el carbono, en forma de grafito o de carbono vitrificado, y el oro—. ¿Por qué pueden usarse los llamados electrodos inertes para medir el potencial de una solución de reacción redox? Esta pregunta la responderemos en esta sección.

En una disolución, el equilibrio electroquímico es un proceso dinámico, como el de cualquier otro equilibrio. Por ejemplo, en una solución que contenga una mezcla de Fe^{3+} y Fe^{2+} , los electrones se están transfiriendo continuamente de los iones de Fe^{2+} a los iones de Fe^{3+} , haciendo que los pares intercambien estados de oxidación. Podemos escribir así la reacción:



Usamos aquí el asterisco para señalar un átomo específico de hierro, sin que importe su forma iónica. Mientras las concentraciones de equilibrio de ambos iones Fe^{2+} y Fe^{3+} se mantienen constantes, las transferencias de electrones entre pares ocurren continuamente. La interpretación de los datos experimentales ha producido una imagen de la **reacción de transferencia de electrones**, en la que se dan dos procesos por separado:

- a. **Transferencia de masas.** Así se denomina al movimiento y colisión al azar entre los dos iones. Ocurre cuando ambos se mueven lo suficientemente próximos el uno del otro.
- b. **Transferencia de electrones.** Durante la colisión entre los componentes de un par redox, como $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, el electrón se transfiere de la especie reducida a la especie oxidada. Este paso se denomina **transferencia electrónica**, y se caracteriza, como en cualquier otra reacción, por la constante de velocidad de reacción.

En todos los ejemplos que vamos a considerar la reacción de transferencia de electrones es muy rápida, y una vez que los iones están lo suficientemente próximos la velocidad de reacción de oxidación-reducción se ve limitada por la velocidad de la transferencia de masa, según la frecuencia de colisión de los iones.

El potencial del par redox, en este caso los iones de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, se determina por la fracción de concentraciones relativas de los iones Fe^{3+} y Fe^{2+} . Como ya sabemos, la dependencia del potencial con la concentración viene definida por la ecuación de Nernst. Pero, ¿qué pasa cuando el hilo conductor se introduce en la disolución? ¿Cómo mide el hilo conductor el potencial de la disolución?

La respuesta requiere buscar cómo el hilo conductor adquiere el valor de potencial. Por la teoría electrostática podemos explicar que el potencial de un metal es debido al aumento o disminución de las cargas de electrones. Por consiguiente, para cambiar el potencial de un hilo, se le añaden o quitan algunos electrones, y en consecuencia, fluye una corriente. Supongamos, por el momento, que no conectamos el hilo a ningún sistema de medida; la corriente tiene que resultar de la transferencia de los electrones transferidos entre iones de la disolución y el hilo conductor (electrodo inerte) para cambiar así el potencial del mismo. Los procesos moleculares implicados en la transferencia de electrones se muestran en la Figura 7.1.

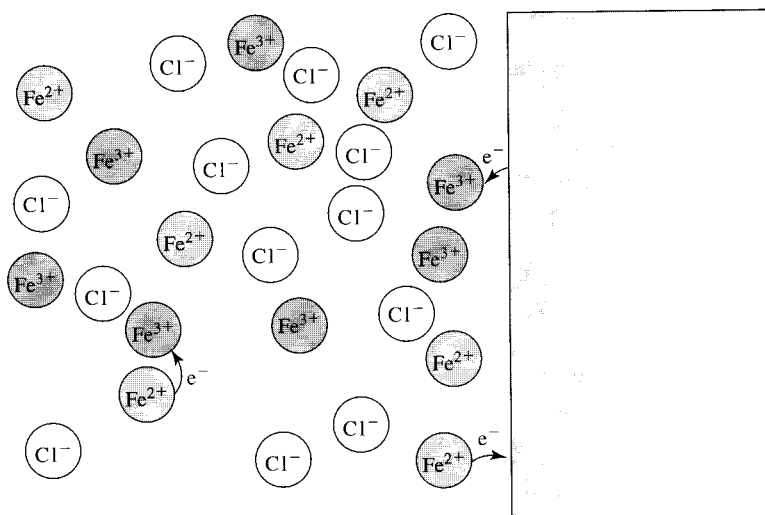


FIGURA 7.1 ►
Medida del potencial electroquímico.

El bloque de la derecha representa el electrodo inerte en una disolución que contiene un par redox. Este responde al potencial electroquímico de la forma siguiente: cuando el electrodo y los iones están lo suficientemente próximos puede haber una transferencia de electrones, bien de los iones de Fe(II) al electrodo, o bien del electrodo a los iones Fe(III). Así, el electrodo inerte puede actuar como un intermediario en el intercambio de electrones entre Fe(III) y Fe(II).

Supongamos que cuando introducimos el hilo conductor en la solución su potencial es más negativo que el par en la disolución redox. Entonces el hilo tiene un exceso de electrones y, en consecuencia, éstos se transfieren del hilo a cualquiera de los iones Fe³⁺ que sean *vecinos inmediatos* de la superficie del hilo. (La transferencia rápida del electrón, que indicamos en la figura con una flecha desde el hilo conductor al ion de Fe³⁺ próximo a la superficie, no se produce a no ser que la superficie del hilo conductor y el ion estén lo suficientemente próximos.) Como resultado de esta transferencia del electrón, el potencial del hilo se hace menos negativo, porque ha cedido una carga negativa a la disolución. Estas transferencias de electrones tienen lugar hasta que el potencial del hilo es el mismo que el de la disolución.

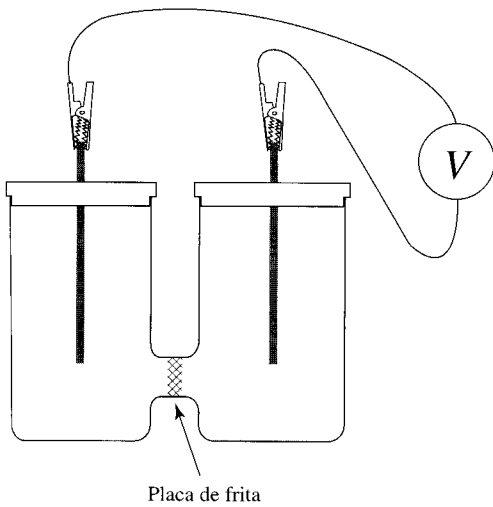
¿Qué ocurre si el potencial inicial del hilo es más positivo que el de la disolución? Entonces se transferirán los electrones al hilo conductor desde los iones de Fe²⁺ que estén suficientemente próximos. Esto lo indicamos con una flecha desde un ion contiguo de Fe²⁺ al hilo. Estos incrementos de cargas negativas en el hilo hacen que el potencial del hilo sea más negativo. Los electrones fluyen al hilo, hasta que su potencial es el mismo que el de la disolución. Por tanto, cuando se alcanza el equilibrio, el hilo que puede intercambiar electrones con los iones en disolución debe tener el mismo potencial que la disolución. Si medimos cuidadosamente el potencial, de modo que fluya muy poca corriente, la medida del potencial del electrodo inerte (el hilo conductor) continúa siendo igual al definido por la solución. Con instrumentos modernos, esto es fácil de conseguir.

Medidas experimentales

Además de las uniones porosas mostradas (de frit), el contacto eléctrico puede conseguirse con otros tipos de uniones. Véase Sección 7C.

Como puede verse en la Figura 7.2, una célula electroquímica puede compararse a un circuito eléctrico. El potencial medido en el circuito eléctrico es equivalente a la diferencia de potencial de dos semicélulas electroquímicas. La resistencia del circuito representa la suma de las resistencias de la disolución y de los cables que conectan los electrodos al voltímetro. En la mayoría de las células, la resistencia de los cables de conexión es irrelevante si la comparamos a las resistencias de la disolución.

La medida idónea de los potenciales electroquímicos debe realizarse evitando que haya flujo de corriente. Para explicarlo mejor utilizamos un circuito eléctrico equivalen-



◀ FIGURA 7.2
Diagrama de una célula electroquímica con su circuito eléctrico equivalente.

La célula actúa como una batería, y se conecta en serie con una resistencia debido a la baja conductividad de las disoluciones en su transmisión de carga.

te. El potencial que medimos en el circuito sencillo que se describe en la figura, V_{medido} , es:

$$V_{\text{medido}} = V_{\text{célula}} - V_{\text{resistencia de célula}}$$

Por la ley de Ohm, resulta que:

$$V_{\text{medido}} = V_{\text{célula}} - IR_{\text{célula}}$$

En la ecuación el término $IR_{\text{célula}}$ es igual a cero sólo cuando no hay flujo de corriente ($I = 0$). Solamente entonces el potencial medido es el potencial de la célula electroquímica.

La pregunta que surge a continuación es la siguiente: ¿no pasa algo de corriente por el voltímetro? Si no, ¿cómo íbamos a obtener una lectura? Efectivamente, es cierto que el voltímetro absorbe algo de corriente. Sin embargo, si la intensidad de la corriente es pequeña, el potencial puede medirse con la precisión necesaria. Este punto lo ilustramos en la Figura 7.2.

En la inspección del circuito equivalente, observamos que las resistencias del instrumento de medida y de la célula están en serie. ¿Cuál será el valor del potencial medido en este caso? El voltímetro mide la caída del potencial a través de su resistencia, R_{metro} . Por tanto,

$$V_{\text{medido}} = IR_{\text{metro}}$$

De acuerdo con la ley de Ohm, la intensidad de la corriente que fluye por un circuito depende de la resistencia total del circuito: la suma de la resistencia de la célula más la del voltímetro. Lo describimos de la forma siguiente:

$$V_{\text{célula}} = I(R_{\text{célula}} + R_{\text{metro}})$$

El ratio del potencial medido sobre el potencial verdadero es:

$$\frac{V_{\text{medido}}}{V_{\text{célula}}} = \frac{R_{\text{metro}}}{R_{\text{célula}} + R_{\text{metro}}} \quad (7-7)$$

Esta ecuación aparece de nuevo en la Sección 7.5, donde se desarrollan los métodos con flujo de corriente.

El comportamiento de esta ecuación muestra que cuanto mayor sea la resistencia del voltímetro más cerca estaremos del valor real del potencial de la célula.

EJEMPLO 7.2

Hállese el error de un experimento potenciométrico típico. Los valores típicos para células electroquímicas y los voltímetros simples modernos son:

$$V_{\text{célula}} = 0,5 \text{ V}$$

$$R_{\text{célula}} = 10^3 \Omega = 1 \text{ k}\Omega$$

$$R_{\text{metro}} = 10^{12} \Omega = 1 \text{ T}\Omega$$

Solución:

De la Ecuación 7-7, la relación entre el potencial medido y el de la célula es:

$$\frac{V_{\text{medido}}}{V_{\text{célula}}} = \frac{10^{12}}{10^3 + 10^{12}} = 1 - (1 \times 10^{-9})$$

y el error absoluto previsto en la medida del potencial es:

$$V_{\text{medido}} - V_{\text{célula}} = (1 \times 10^{-9}) \times 0,5 \text{ V} = 5 \times 10^{-10} \text{ V}$$

Esto sólo representa 0,5 nV, que es irrelevante si lo comparamos con errores debidos a interferencias que tienen valores que superan a un milivoltio.

² La solución de la ecuación utiliza la relación

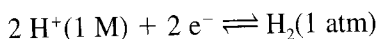
$$\frac{1}{1+x} = 1 - x + x^2 - \dots$$

7.4. Potenciometría y electrodos selectivos de iones

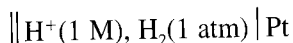
Semicélulas de referencia

En los métodos potenciométricos, medimos el potencial de un sistema electroquímico en equilibrio para determinar la concentración de algunas sustancias. Por medio de la ecuación de Nernst o una modificación de la misma, observamos que la concentración está relacionada con el potencial. La disolución desconocida está en una semicélula, y para medir el potencial necesitamos otra semicélula que nos sirva de referencia y sea estable y consistente. Si además queremos medidas que sean comparables con las de otros laboratorios o realizadas en distintos días, la semicélula tiene que tener un potencial conocido de forma precisa.

Una semicélula o electrodo que puede tomarse como referencia es el electrodo normal de hidrógeno ENH.

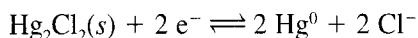


o bien:

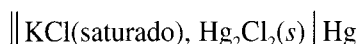


Pero experimentalmente es difícil trabajar con ella. Aun siendo el ENH el electrodo fundamental de referencia, hay otros dos electrodos de referencia que son de uso cotidiano: el de **calomelanos** y el de **plata-cloruro de plata**.

Calomelanos es un viejo nombre empleado para designar al cloruro mercurioso Hg_2Cl_2 . La reacción redox de la semicélula es:



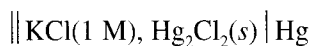
Cuando la disolución del cloruro de mercurio presente en KCl acuoso está saturada y el exceso de KCl presente se deposita en forma de cristales, al electrodo se lo conoce como **electrodo de calomelanos saturado** (ECS). El electrodo de ECS contiene mercurio y Hg_2Cl_2 , y tiene la configuración



$$E = +0,24 \text{ V versus el electrodo normal de hidrógeno (ENH) a } 25^\circ\text{C}$$

Los electrodos ECS pueden tener cualquier tipo de forma física sin que afecte al potencial del mismo siempre que su configuración sea la correcta. Sin embargo, al igual que para otros sistemas, el potencial de la ECS varía con la temperatura, como muestra la Tabla 7.2. Es importante resaltar que el potencial del electrodo normal (estándar) de hidrógeno *se define* como cero exactamente *para todas las temperaturas*.

A veces, en lugar de utilizar una disolución saturada de KCl, utilizamos una disolución 1 M. Denominamos a esta semicélula como electrodo calomelanos normal. El **electrodo calomelanos normal** es:



$$E = +0,280 \text{ V versus ENH a } 25^\circ\text{C}$$

El electrodo de plata-cloruro de plata utiliza el par redox

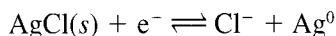


Tabla 7.2. Dependencia del electrodo de calomelanos saturado (ECS)* en la temperatura

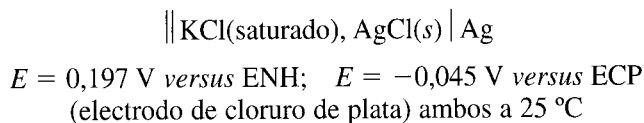
Temperatura °C	E versus ENH (experimental)
10	0,2507
25	0,2412
40	0,2308
70	0,2078

* Los potenciales pueden calcularse a otras temperaturas utilizando la siguiente fórmula empírica, con E voltios versus ENH y T °C.

$$E_{\text{ECS}} = 0,2412 - 6,61 \times 10^{-4} (T - 25) - 1,75 \times 10^{-6} (T - 25)^2 - 9,0 \times 10^{-10} (T - 25)^3$$

La notación que representa la semicélula se describe en la Sección 7A.

La semicélula puede ser tan sencilla como un alambre de plata recubierto de AgCl introducido en una disolución de KCl. La semicélula resultante la representamos así:

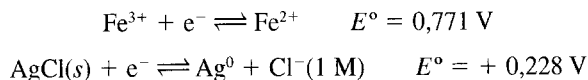


Al igual que en el caso del electrodo de calomelanos, el potencial del electrodo de Ag/AgCl es muy sensible a las variaciones de temperatura. El electrodo Ag/AgCl tiene la ventaja de presentar una mayor estabilidad a altas temperaturas, pero tiene la desventaja de que su potencial es sensible a la luz. Este electrodo puede prepararse también en disolventes no acuosos, que disuelven, incluso por separado, una sal de plata o una sal de cloruro.

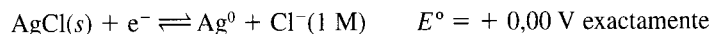
El Ejemplo 7.3 demuestra la facilidad de conversión de potenciales de referencia de diferentes semipilas.

EJEMPLO 7.3

De la escala basada en ENH, obtenemos los potenciales de las siguientes semirreacciones:

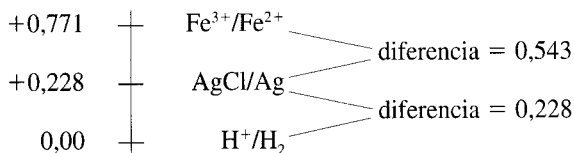


¿Cuál sería el potencial de una semicélula de hierro basada en un electrodo normal³ de plata-cloruro de plata?

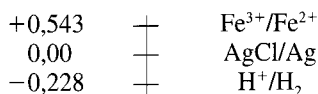


Solución:

Una simple figura con los tres potenciales que intervienen nos puede ayudar a visualizar la respuesta.



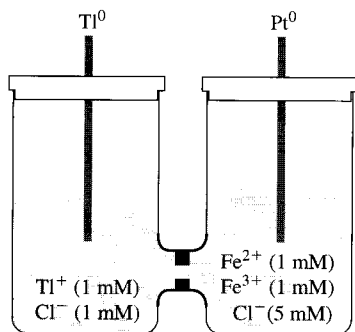
Al cloruro de plata-plata le asignamos ahora el valor de cero, y realizamos este desplazamiento restando 0,228 del valor relativo al de ENH. Los otros dos potenciales se desplazan también de la misma forma. Ahora el diagrama se convierte en:



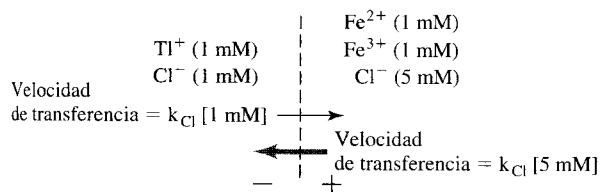
Observemos que las *diferencias* entre potenciales siguen siendo las mismas.

³ Normal en este contexto significa que $a_{\text{Cl}^-} = 1,0$.

(a)



(b)



Potencial de unión líquida producido por los iones de cloruro

◀ FIGURA 7.3
Origen de potenciales de interfase.

(a) Ejemplo de una célula que va a tener un potencial de interfase entre las dos semicélulas. (b) Diagrama esquemático que ilustra un umbral imaginario en un punto del cuello de botella entre los dos recipientes.

Interfases selectivas de iones y electrodos selectivos de iones

Cuando una interfase se forma entre dos fases (es decir, las dos fases no se mezclan libremente) se genera un potencial electroquímico llamado **potencial de unión líquida**. Los potenciales de unión líquida crean dificultades a la hora de tomar medidas precisas de los potenciales en las células electroquímicas. Sin embargo son la base de las medidas hechas con **electrodos selectivos de iones**. (Un ejemplo es el electrodo selectivo de iones con el que podemos medir la actividad del ion H^+ en presencia de varias especies.)

El potencial de unión líquida de electrodos selectivos de iones surge de la siguiente forma. Veamos la Figura 7.3 y pensemos en un plano imaginario que separa las dos semicélulas. Este plano lo indicamos con la línea de puntos de la Figura 7.3b. Los iones cloruro pueden desplazarse de un lado a otro del plano. Pero debido a que la concentración del cloruro es diferente en cada semicélula, se produce un desequilibrio importante en el número de iones de cloruro que traspasan el plano imaginario hacia la izquierda: cinco veces más. Como los iones de cloruro tienen carga negativa, y además se van a mover en mayor número hacia la izquierda que hacia la derecha, se produce una acumulación de carga negativa a la izquierda. El exceso de carga hace que el lado izquierdo sea más negativo que el derecho: esta separación de cargas produce un potencial electroquímico de unión. Además, mientras las corrientes eléctricas vayan conducidas a través de las soluciones y la interfase, el potencial puede medirse, aun cuando la interfase sea de líquido a sólido.

Un electrodo selectivo de pH está formado por una membrana de vidrio delgada localizada entre las dos disoluciones acuosas. Para la medida de otros iones se utilizan membranas construidas por finas capas de distintos tipos de vidrios o de polímeros modificados químicamente (plásticos especiales). Estos materiales los describiremos brevemente, después de presentar los principios generales de los electrodos selectivos de iones (ESI), así como algunas dificultades relacionadas con los mismos. La Tabla 7.3 recoge una lista de electrodos selectivos. La mayoría de los electrodos que actualmente se

Tabla 7.3. Electrodos selectivos de iones y sus aplicaciones

Ion para el que el electrodo es selectivo	Intervalo útil de concentración (M y ppm)	Aplicaciones
Amoníaco, Amonio $\text{NH}_3, \text{NH}_4^+$	10^{-6} –0,1 M 0,02–2000 ppm	El electrodo mide el amoníaco disuelto, y también puede medir otras sustancias por medio de pretratamientos químicos, incluyendo el nitrato de amonio. El amoníaco se mide normalmente en alimentos, aguas residuales, suelos y sistemas biológicos.
Bromuro Br^-	10^{-6} –0,1 M 0,08–8000 ppm	Análisis de aguas contaminadas. Procesos fotográficos.
Cadmio Cd^{2+}	10^{-7} –0,1 M 0,01–11,000 ppm	El Cd^{2+} puede valorarse directamente por neutralización con AEDT. Se utiliza en análisis de baños electrolíticos y como detector de punto final en valoraciones de sulfito en los licores de la pulpa de la madera.
Calcio Ca^{2+}	10^{-5} –1 M 0,4–40000 ppm	Valoraciones directas de Ca^{2+} en fluidos biológicos y de calcio total con AEDT. También en suelos, alimentos y agua.
Anhídrido carbónico CO_2	5×10^{-5} –0,01 M 2–400 ppm	El CO_2 disuelto y los carbonatos pueden medirse directamente. Entre otras muestras se analizan suero, vino, agua y refrescos.
Cloruro Cl^-	3×10^{-5} –0,1 M 1,0–3500 ppm	La presencia de cloruros es crítica en el procesado de alimentos, resinas e insecticidas. También se usa como material biológico y en la investigación médica de la fibrosis cística.
Cobre Cu^{2+}	10^{-6} –0,1 M 0,06–6000 ppm	Baños electrolíticos y baños de decapado ácido, suelos, lodos, productos farmacéuticos, alimentación y bebidas.
Cianamidas CN^-	10^{-6} – 10^{-3} M 0,03–250 ppm	Análisis de baños electrolíticos, extracción de minerales y aguas residuales.
Fluoruro F^-	10^{-6} –0,1 M 0,02–2000 ppm	Muy usado en el análisis del suministro de agua fluorada, pasta de dientes, hueso, baños electrolíticos, vertido de aguas y metabolismo de fluorboratos.
Tetrafluorborato BF_4^-	3×10^{-6} –0,1 M 0,3–9000 ppm	Cuantificación del ácido fluobórico en los baños electrolíticos, análisis de boro en el suelo, tejido vegetal, y vidrio en la formación de fluorboratos.
Hidrógeno H^+	0–14 pH	Medidas de pH.
Ioduro I^-	10^{-7} –0,1 0,01–10000 ppm	Comúnmente usado en los análisis de disoluciones salinas de desechos industriales y en investigaciones farmacéuticas.
Plomo Pb^{2+}	10^{-6} –0,1 M 0,2–20000 ppm	Principalmente se usa en baños electrolíticos y para detectar SO_4^{2-} , de forma indirecta mediante valoración con plomo.
Nitrato NO_3^-	6×10^{-6} –1 M 0,4–60000 ppm	Principalmente en los análisis de suelos y de fertilizantes, tratamiento biológico de aguas, en procesos de fabricación farmacéuticos y fotográficos.
Óxido de nitrógeno NO_x	4×10^{-6} 5×10^{-3} M 0,2–200 ppm	Un electrodo detector de gases que se utiliza principalmente para la detección de nitritos, NO_2^- , en alimentación, aguas subterráneas, baños electrolíticos y medición del NO_x atmosférico.
Perclorato ClO_4^-	3×10^{-6} –0,1 M 0,3–10000 ppm	Principalmente utilizado en explosivos y en la industria de propulsores sólidos.
Potasio K^+	10^{-5} –1 M 0,4–40000 ppm	Análisis de suelos, fertilizantes, fluidos biológicos y vinos.
Plata/sulfuro $\text{Ag}^+, \text{S}^{2-}$	10^{-7} –0,1 M Ag^+ 0,01–10.000 ppm	Aplicaciones de papeleras y de pulpa de papel. Recuperación de plata de los procesos fotográficos.
Sodio Na^+	10^{-5} –0,1 M 0,2–2000 ppm	Análisis de sodio en alimentos dietéticos, manantiales de agua de gran pureza, tejidos, vidrio, licor de pulpa y productos biológicos.
Tiocinato SCN^-	5×10^{-6} –1 M 0,3–60000 ppm	Muy comúnmente usado en la industria de baños electrolíticos.

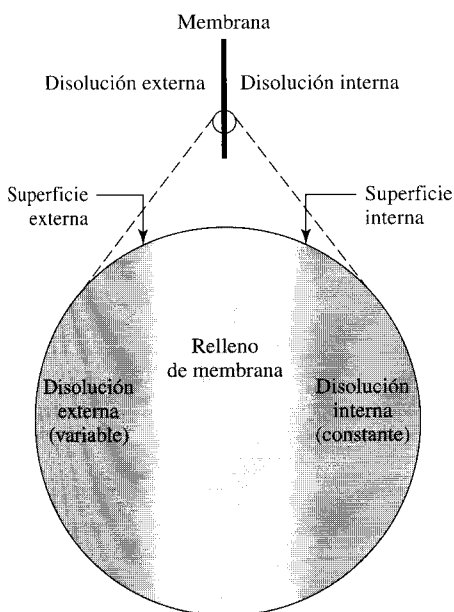
Referencia principal: *The Beckman Handbook of Applied Electrochemistry*. 1980. Fullerton, CA: Beckman Instruments, Inc. AEDT (ácido etilendiaminotetraacético). Se utilizan también las siglas inglesas EDTA.

comercializan son para la determinación específica de especies iónicas. Generalmente, las especies no iónicas determinadas por electrodos ESI son gases. Sin embargo, estos electrodos miden solamente después de separar el gas de la matriz de muestra y atravesar una membrana selectiva. Es entonces cuando reacciona para formar especies iónicas.

Para explicar cómo funciona el ESI, se selecciona un sistema sencillo de electrodo selectivo para medidas de pH. Las razones por las que representamos un modelo tan sencillo son las siguientes:

- Las determinaciones analíticas que utilizan los electrodos selectivos de iones se llevan a cabo bajo condiciones reproducibles de fuerza iónica, temperatura, y pretratamiento de muestras. Por tanto, para utilizar en el análisis el ESI no es necesario el conocimiento de la naturaleza exacta del error, si cambian las condiciones.
- Las interferencias que resultan de estos factores pueden abordarse empíricamente utilizando estándares apropiados.
- Generalmente, no existe un acuerdo en los detalles de funcionamiento de alguno de los electrodos.

Consideremos una membrana fina que separa dos volúmenes de líquidos (Figura 7.4). Para simplificar podemos pensar que la membrana tiene dos superficies y una zona de relleno entre ambas. En muchos casos, los detalles de las reacciones en estas superficies no se comprenden del todo, por eso en la figura están sombreados de gris sin rasgos que las caractericen. Las dos superficies están en contacto con las disoluciones en ambas caras de la membrana. Consideremos ahora que la superficie de la membrana es especial; permitirá que penetren por la superficie de la capa (permeabilidad) sólo algunos tipos de iones, y excluirá a cualquier otro que pudiera estar presente. Expresándolo de forma más apropiada, la permeabilidad ocurre a través de la interfase entre la membrana y la disolución (Figura 7.5). Cuando la membrana se comporta de esta manera se dice que es una membrana **permeable-selectiva**.



◀ FIGURA 7.4
Estructura de membrana selectiva de iones.

La estructura de membrana consiste en una serie de zonas separadas que contribuyen a la medida. Las propiedades medidas experimentalmente pueden atribuirse a todas las zonas: la superficie, el relleno y las disoluciones. Sin embargo, su funcionamiento no se conoce aún en detalle.

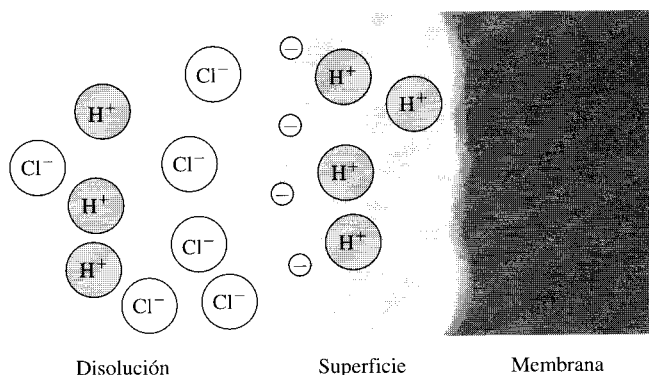


FIGURA 7.5 ▲ **Membrana selectiva de un electrodo selectivo de protones (electrodo pH).**

Los protones pueden penetrar la zona de la superficie, mientras que el cloruro queda prácticamente excluido. El exceso de iones positivos en la zona de la superficie, y el exceso de iones negativos en la zona de la disolución, producen un potencial de unión. Al menos parte de la selectividad se debe a las cargas negativas que están fijas en la superficie y que producen una barrera a la entrada de iones negativos tales como los de cloruro.

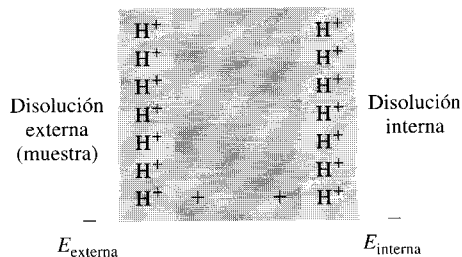
Todo afecta al potencial de la superficie: la complejidad de la carga iónica, los coeficientes de actividad y las distintas velocidades de difusión de los iones.

Supongamos que la disolución en contacto con la superficie es ácido clorhídrico mezclado con agua. Los protones con sus cargas positivas penetran el vidrio, dejando fuera al cloruro con sus cargas negativas. Esto crea un potencial de interfase. ¿Cómo varía este potencial con cambios en las concentraciones? En presencia de mayor concentración de protones habrá un mayor número que se difundan a través de la interfase. (Esto es equivalente, exactamente, a lo que ocurre con la interfase del cloruro que describimos anteriormente, sólo que aquí la interfase depende de una disolución y una fase sólida.) Cuanto más alta es la concentración de protones difundidos dentro del sólido, mayor será el exceso de aniones que se quedan fuera, y mayor el potencial que se desarrolla a través de la interfase.

Hay dos puntos que debemos tener en cuenta en la Figura 7.4. En primer lugar, hay dos superficies que originan un potencial a través de la superficie interna y de la superficie externa. El potencial que medimos desde un lado de la membrana al otro es la suma del potencial de ambas superficies, como vemos en la Figura 7.6. Debido a esta estructura, la disolución estándar debe estar en contacto con la parte interna de la superficie del

FIGURA 7.6 ► **Operación y estructura de un electrodo H^+ ion-selectivo.**

El potencial total es la suma de los potenciales de las dos interfases. Al tener signos opuestos: su suma es menor que el valor del potencial mayor. La resistencia entre las superficies es mayor que las resistencias de las disoluciones iónicas.



$$E_{membrana} = E_{externa} + E_{interna}$$

electrodo. La membrana se comporta como dos semicélulas conectadas por un puente salino y su potencial se describe por la ecuación de Nernst:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln a_{\text{H}^+} = E^\circ - 0,059 \text{ pH} \quad \text{a } 25^\circ\text{C} \quad (7-8)$$

De esta manera, el potencial que se desarrolla a través de la membrana de vidrio puede usarse para cuantificar la actividad del ion de hidrógeno en la disolución.

En segundo lugar, el circuito de la célula electroquímica tiene que ser completo. Se han de hacer dos conexiones: una a través de la membrana y la otra que vaya por la parte interior del electrodo que vuelve a la disolución. En un electrodo de vidrio para la medida de pH, la conexión se realiza a través de la membrana y por medio de iones como el sodio y el litio que se desplazan a través del vidrio sólido. Sin embargo, no se mueven con facilidad, y para obtener una buena conexión (o sea, bajar la resistencia), la membrana de vidrio tiene que ser lo más fina posible. (Casi todos los químicos analíticos que ejercen como tales, recuerdan esto al rompérseles sin querer una de estas membranas.)

La conexión necesaria para completar el circuito desde el electrodo a través de la disolución del electrolito se hace por el puente salino desde el electrodo de referencia. Un ejemplo del electrodo de vidrio para pH se muestra en la Figura 7.7a. Sin embargo es más habitual el empleo de un electrodo combinado de vidrio con electrodo de referencia de plata-cloruro de plata (Figura 7.7b).

Puentes salinos: Sección 7-C.

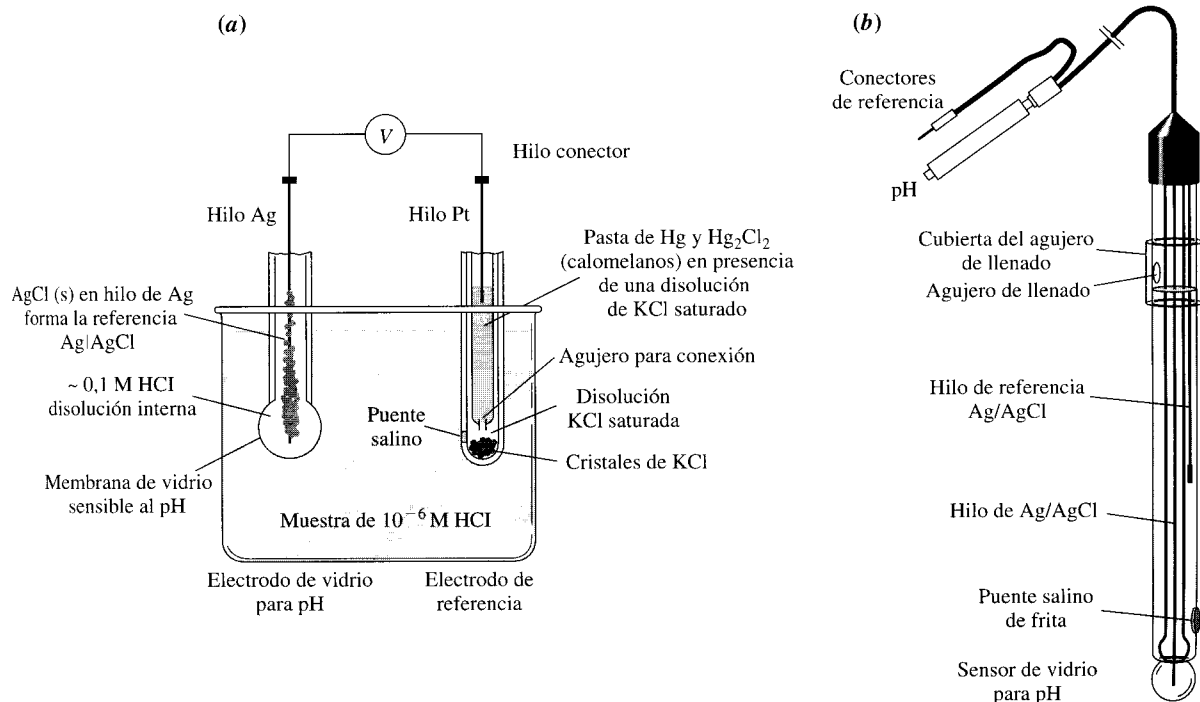


FIGURA 7.7 ▲
Medida del pH.

(a) El dibujo ilustra las partes más importantes de un electrodo de pH y de un electrodo de referencia calomelanos, tal como se emplea para determinar $[\text{H}^+]$. El puente salino de KCl minimiza las diferencias en el potencial de interfase entre el electrodo de referencia y las diferentes disoluciones del análisis. El diseño proporciona dos potenciales de referencia en serie con la membrana de vidrio sensible al pH. (b) Electrodo combinado de pH. El electrodo de referencia está situado dentro del cuerpo único del electrodo.

Ya que las dos superficies de la membrana actúan juntas como si fueran una pila de concentración, podíamos lógicamente preguntarnos: ¿por qué necesitamos un electrodo de referencia? La respuesta es que cuando realizamos medidas en disoluciones de distinta composición, el electrodo de referencia elimina los problemas causados por los cambios de potencial en la unión líquida. La respuesta del electrodo de vidrio a los protones es sencilla, siempre que los potenciales de la unión líquida por todo el sistema sean estables, y es simplemente:

$$E_{\text{electrodo}} = \text{constante} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln a_{\text{H}^+} (\text{muestra})$$

donde la constante es la suma de los potenciales de la unión líquida más los potenciales de referencia. El valor de la constante no es importante en la práctica ya que el potencial correspondiente a un pH determinado se obtiene calibrándolo con disoluciones tampón de pH conocido. Entonces, los cambios del pH siguen la fórmula Nernstiana regular del segundo término del lado derecho; observemos que la respuesta del electrodo depende de la temperatura.

Intervalo de respuesta de los electrodos selectivos de iones (ESI)

Los electrodos selectivos de iones, como cualquier transductor, tienen un intervalo de respuesta limitada. Los intervalos de respuesta de los electrodos más representativos aparecen en la Tabla 7.3. Observemos que aunque los electrodos responden en función de la actividad de los iones, los límites están expresados en concentraciones molares. Para la mayoría de los ESI, el intervalo de concentraciones inferior es de 10^{-6} M. Sin embargo, en la práctica, el intervalo de utilización también depende de otros compuestos presentes en las disoluciones; por ejemplo, vemos en la Figura 7.8 la variación de respuesta del

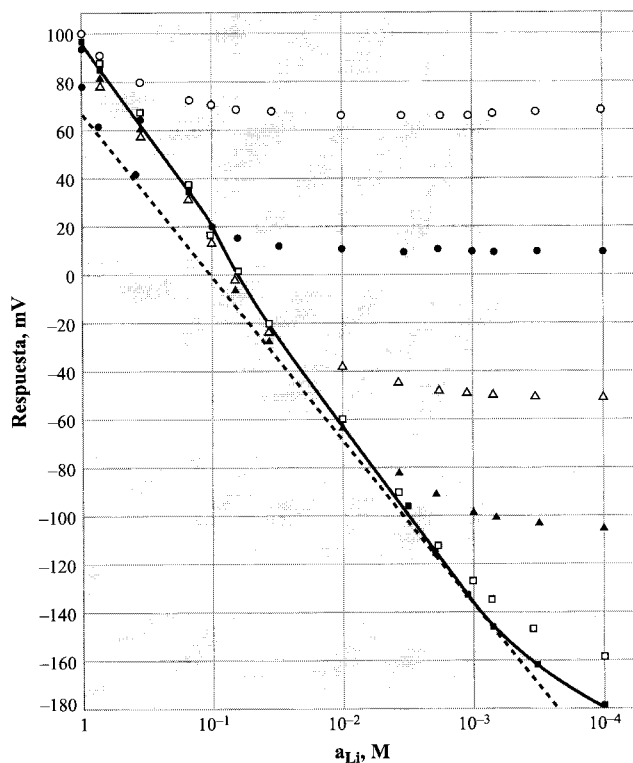


FIGURA 7.8 Variación de la respuesta (mV) de un ESI de litio en función de la concentración de sodio.

La gráfica muestra el potencial medido en mV versus la actividad del litio. La línea a rayas es la respuesta Nernstiana: 59 mV por d, a 25 °C. El electrodo selectivo de iones de sodio Beckman (serie n.º 39278). A una temperatura de 25 °C y a pH tamponado con una disolución saturada de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Respuesta para las concentraciones de sodio de ○, 1 M; ●, 0,1 M; △, 0,01 M; ▲, 0,001 M; □, 0,0001 M; ■, LiCl puro. Nótese que el electrodo puede usarse tanto para la detección selectiva de iones de sodio como de litio. [Ref.: Impreso con permiso de Buck, R. P. 1974. *Anal. Chem.* 46:261. Copyright 1974 American Chemical Society.]

ESI de litio en función de distintos valores de actividad del sodio. Estudiando la figura vemos que el intervalo lineal para el litio disminuye con el aumento de la concentración del sodio. En el caso más extremo, el potencial medido no responde a los cambios en la concentración de litio, y el electrodo en ese punto ya no es útil para los fines analíticos. Este límite inferior del intervalo de trabajo del litio tiene lugar en las concentraciones más altas y a medida que las concentraciones de sodio se elevan. A continuación describimos un método cuantitativo para disminuir los efectos de las interferencias, tales como las del sodio en un ESI de litio.

Transistores selectivos de iones con efecto de campo

Recientemente se encuentra disponible un electrodo para medir el pH de la disolución basado en un sistema de detección distinto a los de vidrio. El electrodo pertenece a la categoría de **transistores selectivos de iones con efecto de campo** (ISFETs). En la Figura 7.9 se muestran los principios químicos del electrodo de pH y el funcionamiento general del ISFET. La selectividad de la superficie hacia los iones en el ISFET depende del tipo de reacción química de la superficie, como ocurre en la superficie del electrodo de vidrio. El potencial de interfase también varía con el pH según la ecuación de Nernst. Sin embargo, los cambios en el campo eléctrico producidos por la separación de cargas en la interfase se transmite al circuito de detección de forma totalmente distinta.

Para el ISFET la corriente que fluye entre el **generador** y el **drenaje** se regula por medio del campo eléctrico en la zona de la puerta. Este fenómeno es el *efecto de campo* que viene indicado en el nombre de ISFET. El cambio del pH modifica el campo eléc-

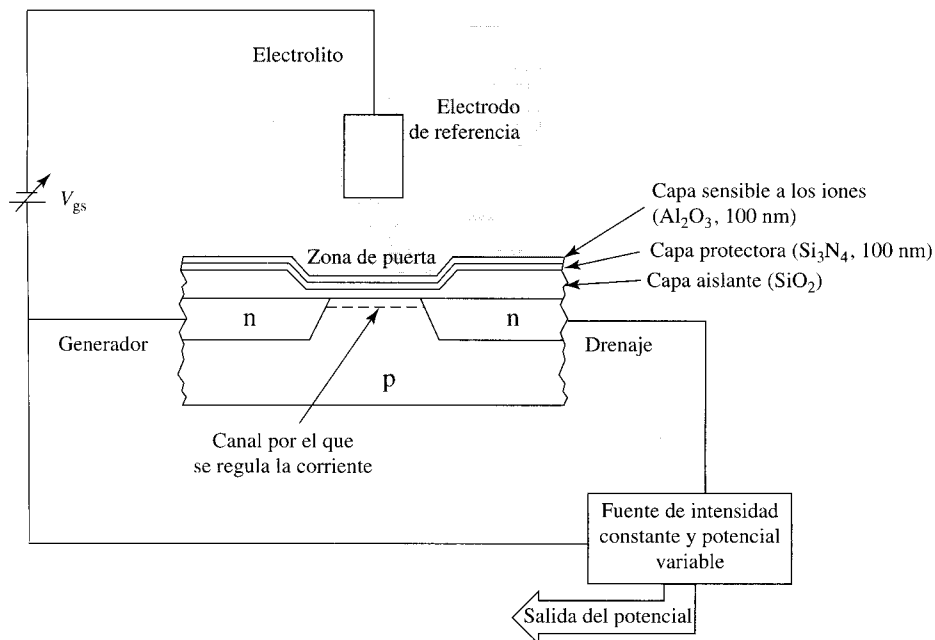


FIGURA 7.9 ▲
Ilustración de la estructura de un ISFETs.

Las partes esenciales de un transistor con efecto de campo (TEC) son generador, puerta y drenaje. La zona de puerta, como denota su nombre, es la zona donde se produce la regulación de la corriente. V_{gs} representa un potencial situado entre la puerta y el generador. Las partes del dibujo no están a escala: el electrodo de referencia mide unos pocos mm, la zona de la puerta es $< 500 \mu\text{m}$ de ancho y 100 nm de espesor. Las reacciones químicas que tienen lugar en la interfase del electrolito de la zona de la puerta, modifican el campo de conducción, lo cual se detecta a la salida del transductor.

trico de la puerta; para detectar estos cambios, se mantiene fija la intensidad variando el potencial de la corriente que fluye entre el generador y el drenaje y pasada la puerta. Por ejemplo, cuando el campo eléctrico de la puerta cambia en una dirección que restringe el flujo de corriente, el potencial automáticamente aumenta para mantener la intensidad de la corriente constante. Después de su estandarización los valores del potencial pueden relacionarse con un pH específico.

El ISFET difiere del electrodo de vidrio para medidas de pH por tener una baja impedancia —alrededor de $10\text{ k}\Omega$ — con una intensidad de corriente de $100\ \mu\text{A}$ y aproximadamente medio voltio entre el generador y el drenaje. El tamaño de la sonda ISFET es aproximadamente de medio milímetro y el espacio entre la interfase de la solución y la zona de control es de varios cientos de nm. Debido a su pequeño tamaño y a las finas capas de la zona activa, el transistor con efecto de campo, FET, mide rápidamente (en unos pocos segundos) la respuesta (mV).

Estas propiedades contrastan con las de los electrodos de vidrio, donde los cambios detectados en el pH tienen que hacerse en condiciones de intensidad de corriente prácticamente nula; por lo que pH-metro es un sistema de alta impedancia. Esta elevada impedancia, unida a la presencia de la membrana de vidrio, que es mucho más gruesa que los pocos cientos de nanómetros de las capas sensoras del ISFET, hace que el tiempo de respuesta de los electrodos de vidrio esté cerca del minuto.

La baja impedancia del ISFET produce un efecto secundario no deseado, ya que incluso un agitador magnético puede producir corrientes en el sensor que interfieren con las medidas tomadas. Esto no afecta para nada a los electrodos de vidrio.

Sin embargo, en la medida en que la reacción en la interfase del ESI es igual a la del ISFET, su sensibilidad y las interferencias siguen siendo las mismas. Estos dos tipos de sensores sólo difieren en la forma de convertir ese cambio en la interfase en una señal.

Interferencias y los electrodos selectivos de iones

Volvamos atrás a la Figura 7.5, donde se ilustra cómo se produce la separación de cargas del cloruro (y otros aniones, a través de la interfase del electrodo de vidrio. El electrodo es selectivo a los iones hidrógeno por la reacción especial de los protones en la superficie del vidrio y al menos parte de esta interacción se debe a las cargas negativas de la superficie, que atraen a los protones adyacentes y repelen a los cloruro.

Ahora consideremos qué ocurre en la superficie de la membrana de vidrio en una disolución de hidróxido sódico con un $\text{pH} = 13$. Las actividades de los iones en la disolución son:

$$a_{\text{H}^+} = 10^{-13} \quad \text{y} \quad a_{\text{Na}^+} \approx 0,1$$

El sodio está unas 10^{12} veces más concentrado que los protones. Así, es de esperar que este exceso desorbitado de iones de sodio interfiera en cierto grado con los protones, ya que ambos son cationes. Algunos de los iones de sodio que atraviesan la interfase contribuyen al potencial medido en el electrodo de pH.

La interferencia en la medida del pH por iones como los de Na^+ se expresa cuantitativamente utilizando el **coeficiente de selectividad**. Este coeficiente suele escribirse como k_{ij} o K_{ij} y aparece en las Ecuaciones 7.9 y 7.10, que utilizaremos sin probar su validez.

Para el caso de la interferencia del sodio sobre los protones, el potencial determinado experimentalmente se puede expresar como:

$$E_{\text{ESI}} = \text{constante} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln (a_{\text{H}^+} + k_{\text{H,Na}} a_{\text{Na}^+}) \quad (7.9)$$



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 7-1

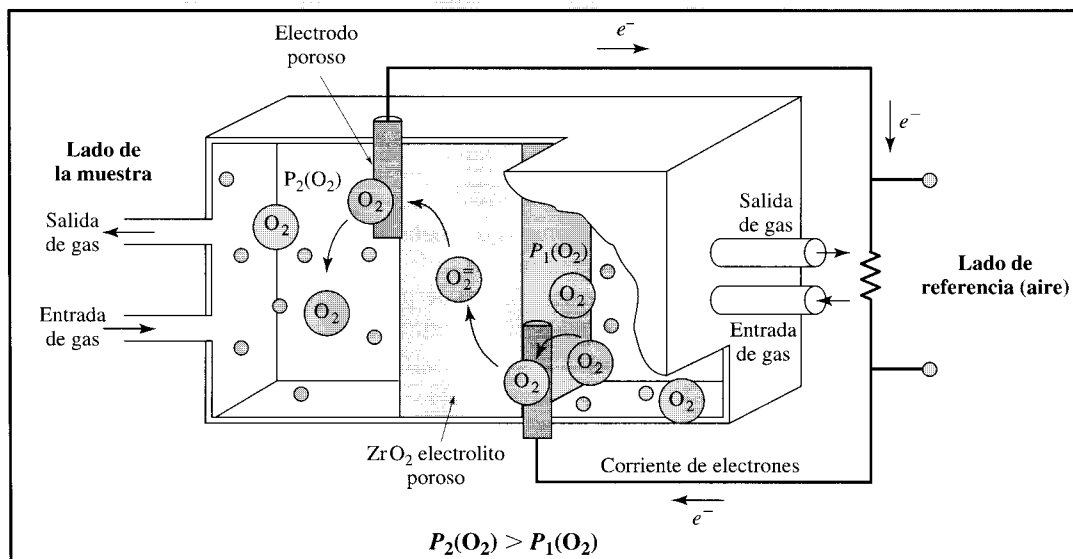
¡A algunos les gusta el calor!

Las células electroquímicas no tienen por qué estar hechas de electrolitos líquidos. Un sensor electroquímico para la determinación de oxígeno en gases a elevada temperatura puede hacerse con un electrolito sólido y es equivalente a una célula electroquímica. La célula ilustrada en la figura puede usarse para medir las diferencias de presión parcial del oxígeno en las dos semicélulas. La selectividad hacia el oxígeno depende de la membrana sólida selectiva de iones y los electrodos porosos al gas (o permeables al gas). La temperatura de la célula se mantiene alrededor de los 850 °C —prácticamente incandescente o al rojo.

La corriente de gas a analizar se muestrea continuamente pasando parte de los gases de combustión a través de una cámara que aparece en la parte izquierda de la figura. La presión parcial de oxígeno de la muestra es menor que la presión parcial del oxígeno del lado de la referencia, donde hay aire que la

atraviesa. Las moléculas de oxígeno del lado de la referencia recogen electrones en la interfase electrodo-electrolito. Entonces los iones que se forman electroquímicamente migran por la cerámica porosa de óxido de circonio, ZrO_2 , que tiene una alta velocidad de difusión para los iones de oxígeno, a la temperatura de funcionamiento. En efecto, el ZrO_2 es permeo-selectivo para los iones de oxígeno que entonces migran al lado de la semicélula de muestra, son oxidados, y emergen como moléculas de oxígeno. Este proceso genera una FEM resultante y puede traducirse en una diferencia de presión parcial de oxígeno. La cantidad de oxígeno en el aire tiene que ser conocida (como estándar) para obtener una medida absoluta del nivel de oxígeno, por ejemplo en la salida de gases de combustión.

[Ref.: U.S. EPA Continuous air Pollution Monitoring Systems, EPA 625/679-005, 1979, pp. S27, S28.] ■



La Ecuación 7-9 indica que la actividad del sodio contribuye al potencial medido y esta contribución es proporcional al coeficiente de selectividad: un coeficiente bajo indica menor interferencia. Por ejemplo, los valores de $k_{H,Na}$ pueden ser tan bajos como 10^{-15} pero varían en función del tipo de vidrio que compone el electrodo. Si $k_{H,Na} = 10^{-15}$, entonces la Ecuación 7-9 indica que la contribución del Na^+ es igual a la de H^+ cuando $a_{Na^+} = 10^{15} a_{H^+}$.

La forma de determinar experimentalmente los coeficientes de selectividad se trata con mayor profundidad en la Sección 7B.

La forma general de la Ecuación 7-9 es algo más complicada. Si las cargas iónicas de el analito (problema) z_i y el interferente z_j no son las mismas, entonces la ecuación se transforma en:

$$E_{\text{ESI}} = \text{constante} + \frac{RT}{\mathcal{F}z_i} \ln (a_i + k_{ij} a_j^{z_i/z_j}) \quad (7-10)$$

Esta ecuación se reduce a la forma más sencilla de Ecuación 7-9 cuando $z_i = z_j$.

Precisión potenciométrica

Es difícil medir el potencial de una célula electroquímica con mayor precisión que $\pm 1 \text{ mV} = \pm 0,001 \text{ V}$ (mayor precisión es posible; pero mayor exactitud es difícil de obtener debido a los potenciales en las uniones líquidas.) Este error de $\pm 1 \text{ mV}$ en potencial nos lleva a un error en la determinación del analito y el error de concentración equivalente a 1 mV aumenta con el número de electrones transferidos. La imprecisión de 1 mV produce una imprecisión (coeficiente de variación) del 4%, 8% u 11% en una medida con carga de transferencia mono, di- o trivalente, respectivamente. Estos porcentajes representan aproximadamente los límites de exactitud de las medidas potenciométricas de concentración.

7.5. Métodos electroquímicos basados en el flujo de corriente

La respuesta (mV) de los electrodos selectivos de iones depende solamente de los movimientos de las especies cargadas, y no de que ocurran reacciones de oxidación-reducción. El resto de los métodos electroquímicos desarrollados en este capítulo dependen de la reacción de oxidación y/o reducción de los analitos.

Los análisis cuantitativos utilizando reacciones de oxidación-reducción pueden realizarse de varias formas diferentes. Posiblemente, la más simple y directa de todas sea la de reducir todas las especies iónicas de metal a su forma metálica, eliminando los iones de la disolución. A este procedimiento se lo denomina de **electro-deposición**. Después es sencillo secar el electrodo recubierto de metal y por diferencia de pesada obtenemos la cantidad de metal depositado. El conjunto de los análisis realizados de esta forma se denominan **electrogravimetría**. La electrogravimetría puede ser muy precisa (superior a $\pm 0,02\%$) y exacta si se realiza en óptimas condiciones.

Alternativamente, con los **métodos galvanométricos** podemos medir durante un período relativamente corto, unos pocos segundos, la corriente eléctrica que reduce u oxida las especies de interés. La tercera alternativa es la de realizar una oxidación o reducción durante un tiempo suficientemente largo para oxidar o reducir todo el analito y medir la carga total: los **métodos culombimétricos**. Cualquiera de estos tres métodos requiere una intensidad moderada (μA o mayor) durante al menos alguna parte del análisis. En cambio, las intensidades de corriente permitidas cuando medimos potenciales en **potenciometría** son una millonésima parte de éstas, alrededor de unos picoamperios.

Vamos a observar ahora estos métodos que requieren la presencia de una corriente eléctrica. La pregunta inicial que nos hacemos es la siguiente: ¿qué ocurre si a una célula electroquímica le aplicamos un potencial lo suficientemente alto como para que se produzca una corriente eléctrica continua?

Comportamiento de una célula electroquímica a la que se le aplica un potencial

Consideremos el sistema recogido en la Figura 7.10. Tiene dos electrodos que inicialmente tienen el mismo potencial; si conectamos el voltímetro cerrando el interruptor, el potencial medido será cero. Después de realizar esta lectura, desconectamos el voltímetro.

Podemos aplicar cualquier potencial a los electrodos, desde cero hasta el máximo que dé el generador. En un experimento cerramos el interruptor para aplicar durante unos segundos el potencial externo a la célula. Leemos el amperímetro del circuito antes de desconectar el generador de energía, para averiguar la corriente que fluye por la totalidad del circuito, incluyendo la célula. Después de desconectado el generador y tras una pausa de 15-20 segundos, se vuelve a conectar y medimos esta vez aplicando otro potencial. Después de repetir esta operación varias veces, con los resultados de una serie de potenciales conocidos puede hacerse una gráfica de intensidad de corriente *versus* potencial, como vemos en la Figura 7.11.

Vamos a observar en la gráfica que hemos trazado el comportamiento de la intensidad de la corriente. No hay intensidad de corriente cuando el potencial aplicado es cero. Después, la intensidad muestra una zona donde su incremento es una función lineal del potencial aplicado. Al final de este tramo, hay una desviación de la linealidad; fluye menos intensidad de la esperada si hubiera continuado el comportamiento lineal. Esta desviación conduce a una meseta donde no hay ningún incremento en la intensidad de corriente, aunque sigue aumentando el potencial. El valor de la intensidad en el punto más alto se llama **corriente límite** y se representa en las ecuaciones como i_L .

No hemos concretado valores numéricos, tanto de la intensidad de la corriente como del potencial en la Figura 7.11, porque los valores dependen de las áreas de los electrodos y de las características de sus superficies, y ambas pueden ser muy variables. El área de la superficie se determina por su estructura de interfase y su composición a nivel atómico, tanto de la superficie de los electrodos como de la disolución adyacente. Vamos a pasar por alto los efectos de la estructura de la superficie y las otras funciones para buscar sólo la explicación del comportamiento que ilustramos en la figura.

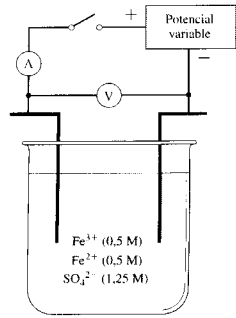
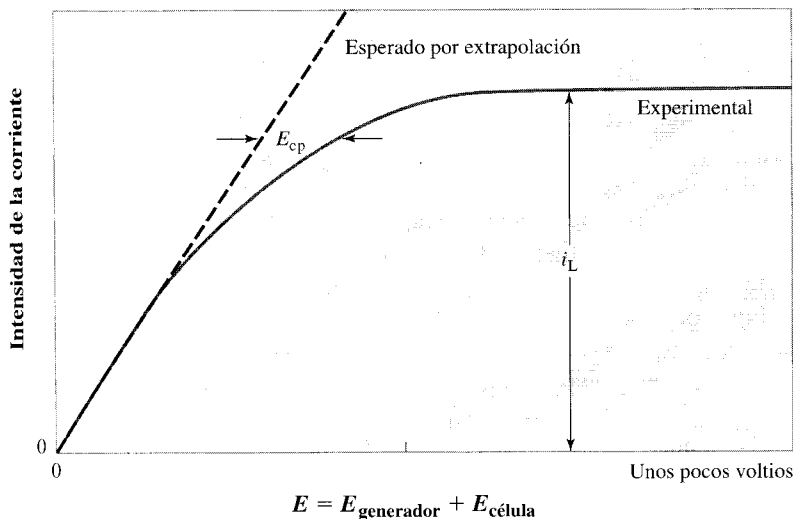


FIGURA 7.10 ▲ Diagrama de una célula electroquímica en el que $E_{\text{célula}} = 0$.

Este sistema puede usarse para medir la intensidad de la corriente cuando a la célula se le aplica un potencial desde una fuente externa, normalmente sobre electrodos inertes.



◀ FIGURA 7.11 Intensidad de la corriente *versus* potencial aplicado.

Gráfica de la intensidad de corriente (eje vertical) cuando se aplica un potencial externo (eje horizontal) a la célula, tal como se muestra en la Figura 7.10. Inicialmente la intensidad aumenta linealmente con el potencial, la célula se comporta siguiendo la ley de Ohm. Después, la intensidad (línea continua) disminuye en relación al comportamiento óhmico (línea de puntos). Finalmente el valor de la intensidad se estabiliza en el valor de la corriente límite. La corriente límite depende de la identidad de las especies electroquímicas y de su concentración. La estabilización se debe a polarización por concentración, que se caracteriza por el potencial E_{cp} .

La región lineal

Cuando la diferencia entre el potencial aplicado $E_{\text{apli.}}$ y el potencial electroquímico $E_{\text{célula}}$ es cero, no fluye corriente alguna. Este hecho lo escribimos algebraicamente como:

$$E_{\text{apli.}} - E_{\text{célula}} = 0 \quad ; \quad \text{sin flujo de corriente}$$

Dado que una célula está compuesta por dos semicélulas con potenciales E_1 y E_2 , podemos decir:

$$E_{\text{célula}} = E_1 - E_2$$

Por tanto, cuando no hay flujo de corriente podemos decir:

$$E_{\text{apli.}} = E_1 - E_2 \quad ; \quad \text{sin flujo de corriente} \quad (7-11)$$

Sin embargo, en cuanto empieza a fluir la corriente, esta sencilla ecuación no describe ya la relación correctamente. La razón es que parte del circuito por el que fluye la corriente es la disolución electrolítica, y, como todas las disoluciones electrolíticas, tiene una resistencia finita. (Como forma numérica fácil de recordar, una disolución 1 M KCl tiene una resistencia de aproximadamente 1 ohmio si las áreas de los electrodos suman 1 cm² y los electrodos están separados por 1 cm. Todos los números son uno y los electrodos están en el lado opuesto de un cubo de 1 cm en cada arista.)

Cuando $E_{\text{apli.}}$ difiere de $E_{\text{célula}}$, la corriente fluye por el circuito y hay una caída de potencial a través de la disolución del electrolito en la célula. La intensidad de corriente la describimos por la ley de Ohm como: $I = V/R$. Para una célula con electrolito,

$$I = \frac{E_{\text{apli.}} - E_{\text{célula}}}{R_{\text{electrolito}}} \quad (7-12)$$

Si sustituimos la Ecuación 7-11 en la Ecuación 7-12 tenemos:

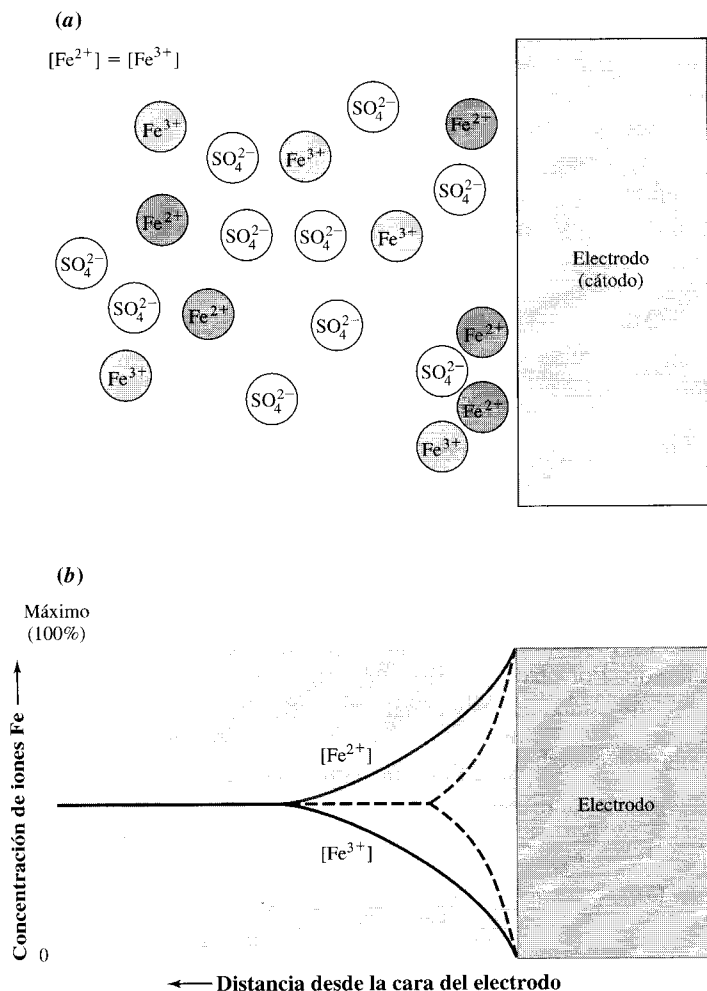
$$E_{\text{apli.}} = E_1 - E_2 + IR_{\text{electrolito}} \quad (7-13)$$

La Ecuación 7-13 describe la porción lineal de la curva. Es una zona de comportamiento óhmico; esto es: $E_{\text{apli.}} - E_{\text{célula}} = IR$.

La región no lineal

Cuando aumentamos el potencial aplicado a la célula, la intensidad de la corriente no aumenta en la forma que nos indica la ley de Ohm, por la razón ilustrada en la Figura 7.12. En la superficie del electrodo las concentraciones relativas de Fe^{2+} y de Fe^{3+} pueden describirse por la ecuación de Nernst, donde E es el potencial en la superficie del electrodo, mientras que el potencial fuera del electrodo (en la disolución) corresponde a un valor diferente de $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$. Esta relación de concentraciones en la disolución global tiende a cambiar por difusión, del valor global al valor de la relación definida en la superficie del electrodo por el potencial del mismo. Esto es, si en la superficie hay más $[\text{Fe}^{2+}]$ que en la concentración global, esa forma se difunde hacia el seno de la disolución y tiende a aumentar ahí $[\text{Fe}^{2+}]$.

A medida que el potencial del cátodo se hace más negativo llegamos al punto donde la mayoría de los iones de hierro cerca de la superficie van a ser Fe^{2+} . Entonces, la única forma de tener más electrones en la disolución es esperar a que más iones de Fe^{3+} estén



◀ FIGURA 7.12
Polarización por concentración.

(a) Procesos en la interfase cátodo/solución. La disolución es una mezcla de sulfatos de Fe^{3+} y Fe^{2+} de igual concentración. A medida que se aproximan los iones de Fe^{3+} a la superficie del electrodo se transfiere un electrón para formar un ion de Fe^{2+} . La relación $[Fe^{3+}]/[Fe^{2+}]$ en la superficie del electrodo la describe la ecuación del Nernst, siendo E el potencial del electrodo.

(b) Si lo comparamos con la disolución, hay un exceso de iones de Fe^{2+} en la interfase. Tenemos, por tanto, una difusión neta de Fe^{2+} desde la interfase. Sin embargo, como los iones de Fe^{2+} se formaron a partir de Fe^{3+} hay una escasez de Fe^{3+} en la superficie del electrodo, produciéndose una difusión de Fe^{3+} hacia el electrodo. La distribución de Fe^{3+} y Fe^{2+} queda, después de un tiempo, tal como se indica en la gráfica: los límites de la disolución empiezan donde la concentración de Fe^{3+} y Fe^{2+} son iguales y, por tanto, la distancia al electrodo varía con el tiempo.

--- = Tiempo inicial.
— = Tiempo final.

lo suficientemente cerca de la superficie del electrodo para que recojan electrones. En este punto la intensidad de flujo no depende del potencial en el electrodo, sino sólo de la velocidad en que los iones de Fe^{3+} se difunden y se ponen en contacto con la superficie del cátodo. Entonces, la intensidad alcanza su valor límite: valor de la corriente límite i_L . (Véase la Figura 7.11.)

Centrémonos ahora en el cambio de concentración que ocurre entre la superficie del electrodo y el seno de la disolución. Tal como mostramos en la Figura 7.12b, en la superficie del electrodo todos los iones son Fe^{2+} , ya que hay suficiente potencial negativo, y si al mismo tiempo la corriente pasa durante un período corto de tiempo, por la disolución la relación $[Fe^{3+}]/[Fe^{2+}]$ está aún cerca de la unidad y $E_{soln} = E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}$. La diferencia en concentraciones iónicas entre la superficie del electrodo y la de la disolución equivale a una célula de concentración y, por tanto, hay un potencial que es equivalente a un cambio de concentración. A este potencial se lo conoce como **potencial de polarización por concentración**, ya que la diferencia de concentración entre la superficie y la disolución la denominamos **polarización por concentración**. La polarización por concentración se da en ambos electrodos y tiende a limitar el paso de la corriente. Sin embargo, la polarización por concentración no es el único fenómeno que nos lleva a intensidades de corriente menores de las esperadas.

Sobrepotencial cinético

Si utilizamos un instrumento similar al de la Figura 7.10 podemos realizar la electrólisis (del griego *lisis*: cortar) del agua, produciéndose hidrógeno en el cátodo y oxígeno en el ánodo. Probablemente el lector haya visto ya la demostración de este experimento en cursos de química anteriores. La energía libre de reacción necesaria para convertir agua en H_2 y O_2 tiene un potencial electroquímico equivalente a 1,23 V; por tanto, sólo después de aplicar un potencial de 1,23 V podemos esperar el comienzo de la descomposición del agua. Sin embargo, cuando realizamos un experimento de **electrólisis** del agua, ésta no empieza a tener lugar hasta que al menos hayamos aplicado un potencial de 1,7 V. Este experimento queda reflejado en la Figura 7.13. La diferencia entre estos dos potenciales se conoce con el nombre de **sobrepotencial**. Tal como demostramos a continuación, la causa del sobrepotencial no es la polarización por concentración, porque:

- El sobrepotencial no varía con la velocidad de difusión hacia la superficie del electrodo.
- El sobrepotencial aparece incluso en el límite de corriente cero. Comparemos la Figura 7.11 con la 7.13 para observar la diferencia gráficamente.

Este sobrepotencial se atribuye al proceso de transferencia de electrones del electrodo a los iones adyacentes en la disolución, aunque el detalle de lo que ocurre realmente no está del todo aclarado. Por otro lado, influye la naturaleza de los electrodos: composición del material del que están hechos y la naturaleza de la superficie de los mismos. Por eso se utiliza el electrodo de mercurio líquido puro en muchos análisis de electroquímica galvanométrica, ya que, comparado con otros materiales para electrodos, su superficie se puede reproducir más fácilmente.

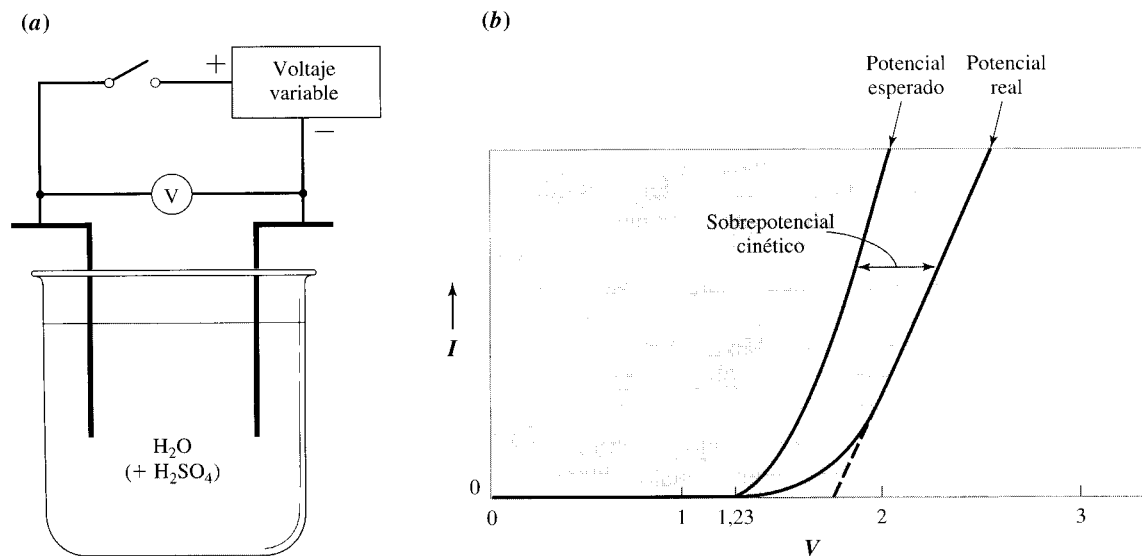


FIGURA 7.13 ▲
Sobrepotencial cinético.

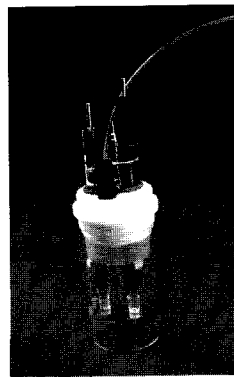
(a) Diagrama de un dispositivo experimental empleado para medir los efectos del sobrepotencial cinético en la electrólisis del agua en hidrógeno y oxígeno. (b) La gráfica muestra la corriente prevista si no ocurriera ningún efecto de sobrepotencial (línea de color). El potencial de equilibrio es 1,23 V. La corriente medida, mientras varía el potencial aplicado, puede verse por la línea negra. La electrólisis no comienza hasta que un potencial mayor de 1,23 V se aplica a la célula. La diferencia entre las líneas es el sobrepotencial cinético y está algo influida por la corriente. Tal como se muestra en la gráfica de la intensidad total I , la velocidad de la electrólisis aumenta a medida que aumenta el potencial.

En resumen: cuando aplicamos corriente a una celda electroquímica, no se producen las reacciones electroquímicas esperadas a los potenciales deducidos por la ecuación de Nernst. Las causas de este comportamiento se deben a que tienen que vencer: en primer lugar, la resistencia eléctrica de la disolución electrolítica; en segundo lugar, la polarización por concentración que se desarrolla en los electrodos y, en algunos casos, está la tercera razón, consistente en el sobrepotencial cinético. Estos efectos fundamentales se deben tener en cuenta cuando utilizemos cualquiera de los métodos electroquímicos que describimos a continuación.

7.6. Potenciostato de tres electrodos

Nos desviaremos brevemente para describir una herramienta clave en las medidas electroquímicas: el **potenciostato de tres electrodos**. Como su nombre indica, es un potenciómetro de tres electrodos que mantiene un potencial específico **constante**. Los electrodos incluyen un **electrodo de trabajo** al que se le aplica un potencial dado, que a su vez se compara con el **electrodo de referencia** y con el **electrodo auxiliar**. Tal como aparece en la Figura 7.14, el funcionamiento del circuito y de los electrodos consiste en definir un potencial en el electrodo de trabajo a un valor prefijado sin tener en cuenta los cambios en la resistencia ni en la polarización por concentración en la disolución electrolítica. La figura muestra las tres formas de representación esquemática utilizadas normalmente en los tres tipos de electrodos.

Una medida precisa del potencial de una celda electroquímica debe hacerse con un flujo de corriente mínimo. Esta medida de baja intensidad se realiza entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. La alta impedancia de entrada queda garantizada uti-



Célula electroquímica de tres electrodos.

La célula que se muestra tiene unos 3 cm de diámetro. El tubo de polietileno permite mantener una atmósfera de gas inerte.

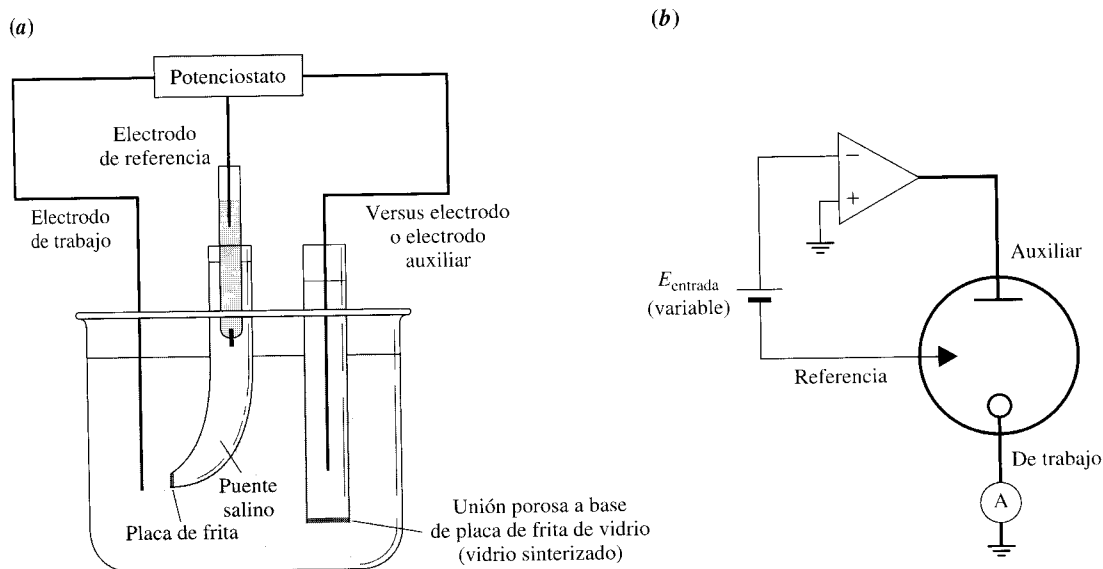


FIGURA 7.14 ▲
Célula electroquímica de tres electrodos.

(a) Dibujo de los componentes de un potenciostato de tres electrodos y (b) diagrama esquemático del sistema: muestra los símbolos comúnmente usados para la célula y los distintos tipos de electrodos. La corriente del electrodo de trabajo se mide y los potenciales se mantienen automáticamente con el potenciostato. Para que el sistema funcione correctamente, el electrodo de referencia debe situarse más cerca del electrodo de trabajo de lo que está el electrodo auxiliar. Los circuitos electrónicos de un potenciostato de tres electrodos moderno son considerablemente más sofisticados que los que se muestran en el esquema, donde un triángulo representa al amplificador. En (b), las líneas rectas más gruesas representan el camino de mayor intensidad.

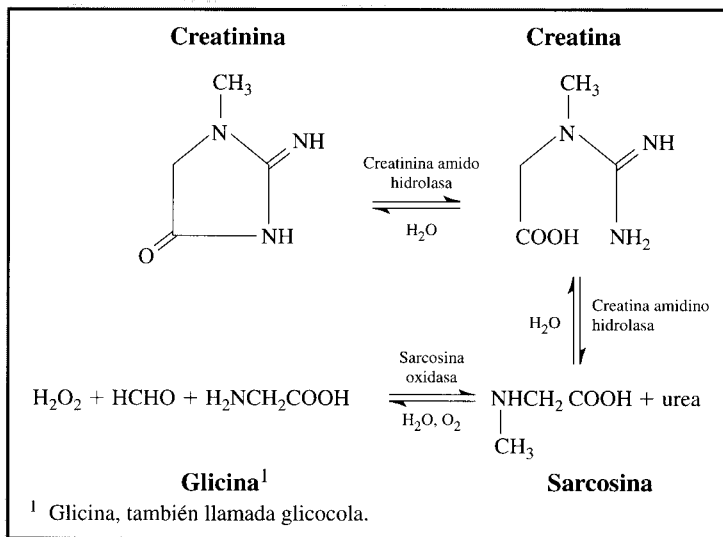
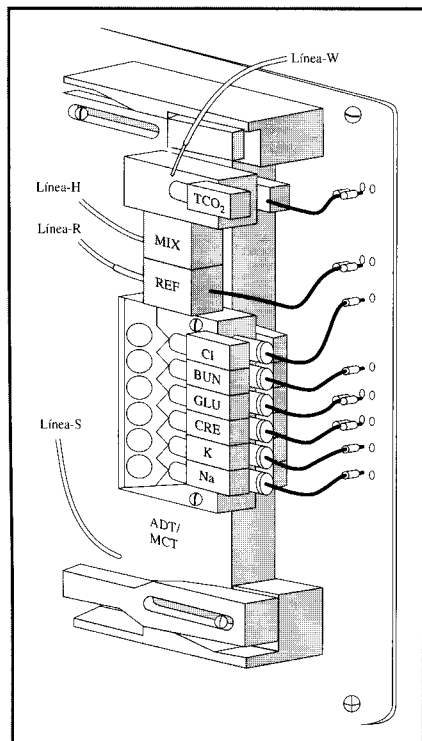


CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 7-2

¡Tremendamente interesante! (por siete)

La cámara de televisión va rodando mientras se introduce al paciente en camilla de ruedas a la sala de traumatismos. En mitad de la acción alguien grita: «Necesitamos una analítica 7». En la vida real, como en un programa de TV, esto significa que van a tomar una muestra de sangre de unos 400 μL , los cuales son aspirados automáticamente hasta un analizador de sangre. En menos de dos minutos se realizan siete medidas electroquímicas y se registran sus resultados: $[\text{Na}^+]$, $[\text{K}^+]$, $[\text{Cl}^-]$, TCO_2 (CO_2 total), Glucosa, SUN (sangre urea nitrógeno = urea) y creatinina. Se bombea la muestra de sangre, suero o plasma hasta que los electrodos se equilibren, y a continuación se anotan las medidas. Puede verse en el dibujo el módulo con los electrodos. Los electrodos de Na^+ , K^+ , Cl^- y SUN utilizan la referencia externa Ag/AgCl (REF), mientras que los otros tres tienen referencias internas. Los electrodos empleados son:

- Para Na^+ : Un ESI de sodio.
 Para K^+ : Un ESI de potasio (valinomicina inmovilizada en cloruro de polivinilo).
 Para Cl^- : Un ESI de cloruro (una membrana de intercambio de iones que separa la disolución a analizar con el sistema que contiene una concentración fija de cloruros).
 Para la glucosa: Un electrodo galvanométrico que utiliza los mismos principios electroquímicos que en el Caso Práctico de Estudio 7-3.
 Para la urea: Un sensor de urea consistente en una membrana que contiene *ureasa* que: descompone a la urea enzimáticamente en NH_4^+ y CO_2 . La cantidad resultante de NH_4^+ la detecta un ESI.



¡Tremendamente interesante! (por siete) (continuación)

Para la creatinina: Una medida galvanométrica de la reducción del peróxido. El peróxido se forma por catálisis enzimática de acuerdo con la siguiente reacción:

Para TCO₂: El electrodo de CO₂ consta de una membrana permeable al gas que separa la muestra de la disolución de bicarbonato-cloruro del recipiente, disolución que rodea a un electrodo combinado de pH. El pH interno cambia con la presión parcial del CO₂ y da la medida del pCO₂. La muestra se acidifica con

ácido láctico, que transforma el carbonato en ácido carbónico. Se determina el pH en función del ácido añadido y con esta medida el instrumento calcula el CO₂ total.

El instrumento anterior limpia el sistema entre muestra y muestra y está programado para realizar calibraciones automáticas cada dos horas o, si se inician manualmente, en cualquier momento.

[Ref.: Información y dibujos cortesía de Nova Biomedical.] ■

lizando un *amplificador*. El electrodo de referencia proporciona un potencial fijo de referencia. Como el electrodo de trabajo es potencial a tierra, el potencial de seguimiento de entrada es E_{ref} . A este potencial se le añade $E_{entrada}$, o sea que el potencial aplicado al inversor de entrada es $(E_{ref} + E_{entrada})$. El amplificador genera un potencial de signo *opuesto* en su entrada. (Ésta es una característica fundamental del amplificador de inversión de entrada.) El amplificador aumenta su corriente de salida por el auxiliar y a través de la disolución hasta que el potencial de entrada *no-invertida* sea igual a $-(E_{ref} + E_{entrada})$. Se llega al voltaje $-(E_{ref} + E_{entrada})$, sin que importen las condiciones en la disolución entre las superficies del electrodo auxiliar y del electrodo de trabajo. Si la resistencia de la solución es alta, el potencial entre el electrodo auxiliar y el de trabajo puede oscilar hasta unos pocos cientos de voltios para mantener al electrodo de trabajo en un intervalo inferior a un voltio. El potencial baja rápidamente en una disolución de alta resistencia.

La historia no está completa. Observemos que como el electrodo de trabajo y la entrada no invertida del amplificador están conectados directamente a tierra, cuando el potencial del electrodo de trabajo llega a $-(E_{ref} + E_{entrada})$, los potenciales tanto en la entrada invertida como en la entrada no invertida quedan igualados y los amperios de funcionamiento se estabilizan con el potencial cero entre ambas entradas.

La corriente a través de la célula puede ser alta y la corriente máxima del sistema depende de la capacidad del amplificador para conducirla a través de la resistencia producida por la disolución y a la distancia entre el electrodo auxiliar y el de trabajo. El circuito de alta intensidad se muestra en la figura con trazo grueso y se denomina ruta de baja impedancia. Por el contrario, la sección de alta impedancia del circuito se muestra con líneas finas. Así, el potencial se mide y se fija en la zona de alta impedancia, mientras que las corrientes para la electroquímica se generan a través de la ruta de baja impedancia.

En la práctica decidimos el potencial que queremos en relación al potencial de referencia, y lo fijamos en la entrada con el valor *negativo* de ese potencial. Por tanto, el potencial en la superficie del electrodo de trabajo se *fuera* a $-E_{entrada}$, relativo al potencial del electrodo de referencia. Para un funcionamiento estable es necesario que el electrodo de referencia esté más cerca del electrodo de trabajo que del auxiliar.

7.7. Conductimetría

La conducción de una corriente eléctrica a través de una disolución iónica se realiza por medio del movimiento de los iones en la disolución. Una forma de conocer la capacidad conductora de la disolución es poner dos electrodos en una disolución y medir su resistencia, que depende de los siguientes factores:

- el área de la superficie de los electrodos,
- la forma de los electrodos,
- la posición de los electrodos entre sí en la disolución,
- el tipo de especies en la disolución,
- la concentración de las especies y
- la temperatura.

Como puede verse en esta lista, la medida de la resistencia no depende solamente de las propiedades de la disolución, sino también de la geometría de los instrumentos, esto es, de los puntos a, b y c de la lista. En un solo laboratorio y con los mismos electrodos, esta medida puede ser útil para el análisis. Pero la información no sería directamente comparable entre distintos laboratorios. Como consecuencia, la resistencia *aparente*, o su inversa, la conductancia, no se utiliza para describir las propiedades de las disoluciones iónicas.

Las unidades usadas para las medidas analíticas tienen en cuenta las diferencias de la geometría y del área de los electrodos. La resistencia se convierte en unidades *como si* la medida se hubiera llevado a cabo en una célula de 1 cm³ de volumen, entre dos placas de electrodos, cada una de 1 cm², que estén en paralelo y a 1 cm de separación. La medida de la resistencia en una geometría específica se llama **resistividad**. Sus unidades correspondientes son, por ejemplo: ohm-cm [(1 ohm-cm) · (1 cm de longitud)⁻¹ · 1 cm² de área] = 1 ohm-cm]. La inversa de la resistividad se llama **conductividad** o **conductancia específica**. Las unidades para cada tipo de medida vienen indicadas en la Tabla 7.4. Los valores típicos de conductancia específica iónica se aproximan a los recogidos para el KCl en la Tabla 7.5.

Tabla 7.4. Unidades utilizadas en conductometría

Denominación	Nombre de las unidades	Símbolo de las unidades
Resistencia (R)	ohmio	Ω
Conductancia	ohmio ⁻¹ = mho = siemens*	$\Omega^{-1} = \Omega^{-1} = S$
Resistividad (ρ)	ohmio cm	$\Omega \text{ cm}$
	ohm meter	$\Omega \text{ m}$
Conductividad (κ)	mho cm ⁻¹ = siemens cm ⁻¹	$\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1} = S \text{ cm}^{-1}$
	siemens m ⁻¹	$S \text{ m}^{-1}$

* Siemens es una unidad del Sistema Internacional.

Tabla 7.5. Conductancias específicas de disoluciones de KCl

Concentración (M)	Conductividad (S cm ⁻¹)		
	19 °C	20 °C	21 °C
1	0,1001	0,1020	0,1040
0,1	0,01143	0,01167	0,01191
0,01	0,00125	0,00128	0,00130

Conductividad y concentración iónica

Como puede verse por la lista precedente, la conductividad de las disoluciones depende de los tipos de iones presentes y de sus concentraciones. Todos los iones presentes en la disolución participan en el proceso de conducción. Para clasificar estas contribuciones, sirve de ayuda tener en cuenta la conductividad por cada ion equivalente (por cada carga iónica). La denominamos **conductividad equivalente** y se designa por la letra griega Λ . La conductividad equivalente atribuible a un ion específico se escribe λ_i . Siempre se puede afirmar que:

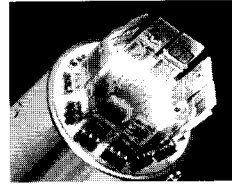
$$\Lambda = \sum_{\text{para todas las especies iónicas}} \lambda_i \quad (7-14)$$

La Ecuación 7-14 define cuantitativamente que la conductividad total se compone de las contribuciones de todos los iones presentes. En la Tabla 7-6 se muestran valores representativos de las conductividades equivalentes con disoluciones *monosalinas*. Al mirar la tabla vemos que las conductividades equivalentes dependen de la concentración. Esto se debe a las interacciones entre los iones.

Las mayores conductividades de las disoluciones de KOH, NaOH y HCl pueden explicarse al observar que el H^+ es unas cinco veces mejor conductor de carga en el agua que los otros cationes, y, por otro lado, que el OH^- es unas tres veces más efectivo que otros aniones. Lo que en definitiva significa que haciendo un experimento de conductometría con agua, la sensibilidad a los cambios en la concentración de protones es unas cinco veces mayor que con otros cationes. Análogamente, con los hidróxidos la sensibilidad sería tres veces mayor.

Conductimetría en la práctica

En la práctica, los valores experimentales de las conductividades se obtienen casi siempre utilizando celdas con electrodos en posición estrictamente fija. Cuatro tipos de celdas de conductividad de tales características vienen reflejados en la Figura 7.15. La cuantificación de las medidas de conductividad de las celdas puede hacerse de una manera sencilla: se calibran los instrumentos con disoluciones iónicas de concentración conocida y, después, se mide la conductividad de la muestra. Las curvas de calibración son ligeramente no lineales, como puede verse por los valores de concentración de KCl de la Tabla 7.5. Por otro



Terminal de una nariz electrónica.

El terminal sensor consta de 12 polímeros conductores cuya conductancia varía al absorberse distintas moléculas en su superficie. Cada polímero es selectivo a distintas clases de componentes. Las variaciones en la conductividad de los 12 polímeros proporciona una huella digital de la composición de la muestra gaseosa.

Tabla 7.6. Conductividad equivalente en agua a 25 °C ($S\text{ cm}^2\text{ equiv}^{-1}$)^{*}

Electrolito	Límite $\tilde{c} \rightarrow 0$ Λ°	Concentración (equiv L^{-1})		
		0,001	0,01	0,1
KCl	149,86	146,95	141,27	128,96
NaCl	126,45	123,74	118,51	106,74
HCl	426,16	421,36	412,00	391,32
AgNO ₃	133,36	130,51	124,76	109,14
KNO ₃	144,96	141,84	132,82	120,40
NH ₄ Cl	149,7	—	141,28	128,75
LiCl	115,03	112,40	107,32	95,86
KOH	271,5	234	228	213
NaOH	247,7	244,6	239,9	—

^{*} Las unidades son ($S\text{ cm}^2\text{ equiv}^{-1}$) dado que $\Lambda = \kappa/\tilde{c}$ siendo \tilde{c} la concentración equiv en cm^{-3} .

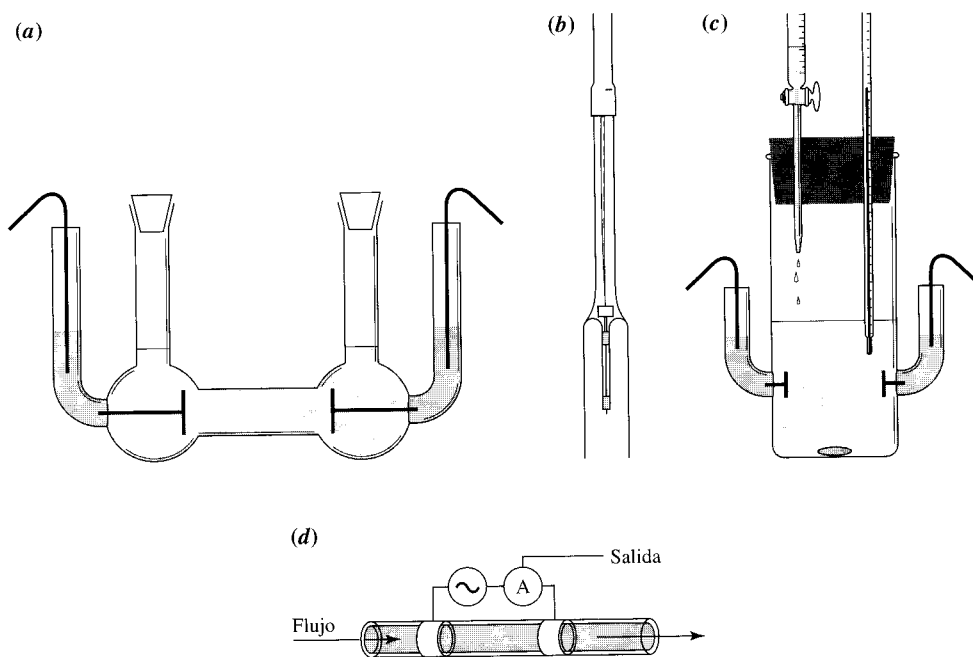


FIGURA 7.15 ▲
Cuatro tipos de células de conductividad.

Los cuatro electrodos están contruidos de una lámina de platino recubierta con platino negro. Las muestras llenan las células de forma que su geometría es igual en todos los ensayos. La temperatura ha de mantenerse constante con alta precisión. El control de temperatura hasta $0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ permite una precisión de medida en un intervalo de ± 1 al 2% . (a) La célula de muestra se llena con la disolución. (b) Una célula de inmersión con la base abierta que se introduce en la muestra. (c) La célula utilizada para valoraciones con detección conductimétrico. (d) Uno de los muchos diseños de células, empleados como detector conductimétrico en cromatografía iónica. Los dos electrodos conductores son huecos y están separados entre sí por un tubo aislante.

lado, la célula puede calibrarse utilizando una sustancia de conductancia conocida. Así, por ejemplo, son calibrantes usuales un conjunto de disoluciones de concentraciones conocidas como el caso de KCl en agua ultrapura, para determinar a continuación la conductancia específica de sustancias desconocidas. No sólo se utilizan estos métodos para determinaciones de conductancia, sino también para la determinación de propiedades fundamentales de sustancias iónicas, como las constantes de ionización de los ácidos.

Podemos realizar medidas de conductancia adecuadas para numerosas aplicaciones empleando una batería, un galvanómetro para medir la corriente, y dos electrodos inmersos en la disolución a analizar. Sin embargo, utilizando este sistema tan simple, nos encontramos con algunos problemas importantes, especialmente si necesitamos medidas precisas. La dificultad estriba en la influencia del sobrepotencial y de la polarización por concentración en las corrientes que pasan por la celda cuando aplicamos un potencial externo a los electrodos. El potencial real de la disolución será impreciso debido a que las caídas de potencial en las interfaces son poco conocidas y, consecuentemente, producen errores en la conductancia de la disolución electrolítica porque

$$V = IR = \frac{I}{\text{conductancia}}$$

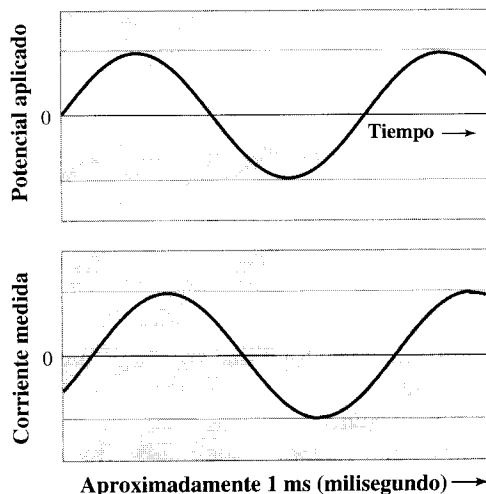
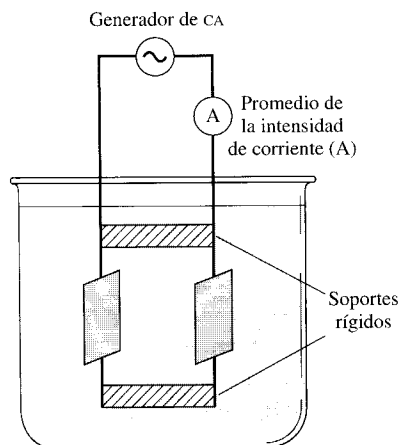
y si desconocemos el potencial real, también vamos a desconocer la conductancia verdadera y, consecuentemente, tanto el sobrepotencial como la polarización por concentración tienen que *minimizarse* para poder percibir los cambios exactos y precisos de la conductividad.

Los problemas debidos al sobrepotencial cinético pueden resolverse mediante una adecuada selección de los electrodos. Éstos, normalmente, están hechos de láminas de platino con más recubrimiento de platino en la superficie, pero el metal de recubrimiento no es brillante y la superficie aparece negra, por lo que se dice que los electrodos están recubiertos de *platino negro*. Los posibles problemas, debidos a la polarización por concentración, desaparecen tomando las medidas tan rápidamente que no dé tiempo a que se produzca ninguna polarización por concentración apreciable cerca de las superficies de los electrodos. En la práctica, dos electrodos idénticos con polaridades opuestas (una positiva y la otra negativa) se intercambian rápidamente de polaridad a una velocidad que oscila en un intervalo entre 100 y 1000 veces por segundo. Véase la Figura 7.16.

Las medidas de conductividad tienen muchas aplicaciones, ya que permiten controlar las variaciones de concentración en cualquier disolución. Algunos de los usos en las técnicas conductimétricas son los de controlar:

- la contaminación en arroyos y ríos,
- los contenidos salinos en calderas,
- la concentración de iones a la salida de una columna de cromatografía líquida,
- las concentraciones de disoluciones ácidas utilizadas en procesos industriales,
- las concentraciones de fertilizante líquido a medida que el fertilizante se aplica,
- el punto final de valoraciones donde la concentración del reactivo o del valorante cambia (por ejemplo, en valoraciones de ácido-base utilizando valorante $[H^+]$ o $[OH^-]$).

Con los estándares apropiados y un buen control de la temperatura podemos obtener una alta precisión y exactitud del orden del 0,1%. Sin embargo, estos análisis no suelen realizarse debido a la gran influencia de la temperatura sobre la conductividad. Como podemos ver por la Tabla 7.5, la conductancia iónica normalmente cambia un 2% por cada $^{\circ}C$. Si la resistencia entre los electrodos es del orden de 1000 ohmios y la temperatura de ambiente se regula termostáticamente a $\pm 0,1^{\circ}C$, entonces podemos esperar unos valores cuantitativos entre un $\pm 1-2\%$.



◀ FIGURA 7.16
Medida de la conductividad con corriente alterna (CA).

En estas medidas se utiliza corriente alterna para minimizar los efectos de la polarización por concentración. El potencial aplicado se representa gráficamente en el recuadro de la derecha como una función del tiempo; es una onda sinusoidal. La corriente que fluye por la célula está representada debajo. La corriente sigue al potencial, e invierte su dirección dos veces en cada ciclo. La corriente de salida del instrumento es la intensidad media en relación al potencial medio aplicado.

7.8. Culombimetría

La electrogravimetría puede utilizarse para analizar metales depositándolos en cátodos previamente pesados. Sin embargo, muchas sustancias pueden reducirse u oxidarse y no depositarse en un electrodo. Por otro lado, hay un límite inferior en electrogravimetría: cuando la cantidad de sustancia es demasiado pequeña para pesarla. La culombimetría puede usarse para vencer estas dos limitaciones.

Para llevar a cabo un ensayo culombimétrico medimos la carga total necesaria para completar una oxidación o reducción electroquímica. Esta carga es directamente proporcional a la cantidad total de sustancias electrolizadas. Recordemos la siguiente relación:

$$96485 \text{ coulombios} = \text{la carga de } 1 \text{ mol} = 1 \text{ Faraday}$$

y que

$$1 \text{ Cs}^{-1} \equiv 1 \text{ A}$$

Por tanto, la corriente en amperios que pasa durante un tiempo determinado está relacionada con el número de moles. La ecuación fundamental para el análisis culombimétrico es:

$$\text{número de moles} = \frac{\text{culombios para la electrólisis total}}{96485 \cdot n} \quad (7-15)$$

o bien

$$\text{número de moles} = \frac{\text{corriente (A)} \cdot \text{tiempo (s)}}{96485 \cdot n} \quad (7-16)$$

Donde n , igual que en la ecuación de Nernst, es el número de electrones transferidos por mol. Nótese que, de las técnicas electroquímicas, la culombimetría es la única en la que el control de la temperatura no es fundamental para la obtención de resultados correctos.

EJEMPLO 7.4

Es relativamente fácil medir la carga total en milicoulombios (mC) durante un período de unos minutos. Calcúlese el número de moles de electrones a que corresponde y la masa de Cu(II) que quedaría reducida a cobre metálico con 1,00 mC de electrones.

Solución:

$$1,00 \text{ coulombios} = (1/96500) \text{ mol de } e^{-} = 1,036 \times 10^{-5} \text{ mol de } e^{-}$$

Así, 1,00 mC equivale a $1,036 \times 10^{-5}$ mol de electrones. Para la reducción de Cu^{2+} a cobre metálico, se necesitan 2 moles de electrones por cada mol de Cu^{2+} , por lo que se puede producir $5,18 \times 10^{-9}$ moles de cobre metal. El cobre tiene un peso atómico de 63,4 g, o sea:

$$(5,18 \times 10^{-9} \text{ moles}) \times (63,4 \text{ g/mol}) = 3,28 \times 10^{-7} \text{ g de cobre}$$

que pueden producirse; una masa tan pequeña que sería muy difícil de pesar con precisión y exactitud razonables.

Para realizar una determinación culombimétrica el analito se oxida o reduce normalmente en su totalidad en una disolución que se encuentra bajo agitación. La reacción redox se produce por la aplicación de un potencial externo. El electrodo de trabajo, que es donde ocurre la reacción del analito, puede estar construido de una variedad de materiales conductores de electricidad. La electrólisis del analito disminuye la concentración del mismo, de la disolución, como muestra la Figura 7.17. A potencial constante, la

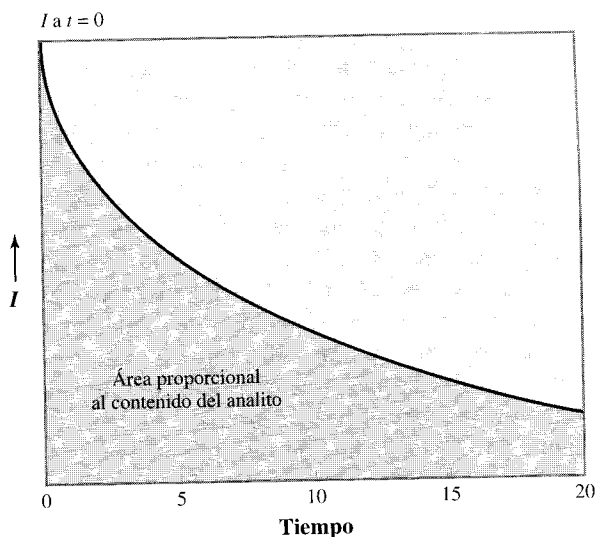


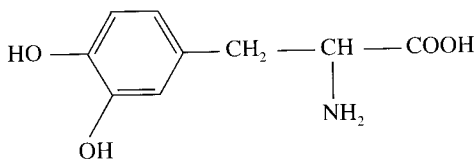
FIGURA 7.17 ▲
Electrólisis de una disolución sometida a agitación, con potencial constante.

Si un electrodo de potencial fijo estuviera electrólizando algunas especies en una disolución vigorosamente agitada, la corriente electrolítica variaría como se muestra en la gráfica. La intensidad de la corriente es proporcional a la especie a determinar que queda en la disolución. Después de que se ha realizado la electrólisis de todo el analito, parará el flujo de corriente, suponiendo que no haya otras sustancias a electrólizar. La curva tiene forma exponencial ya que la velocidad de electrólisis es proporcional a la cantidad de material que queda en la disolución, similar a una reacción cinética de primer orden. La velocidad de la electrólisis es proporcional al grado de agitación en el área del electrodo, del material del electrodo, del potencial del electrodo, de la concentración inicial de las especies a ser electrólizadas, a la temperatura y puede que a la concentración de otras especies de la disolución.

intensidad de la corriente disminuye con el tiempo y a medida que las **especies electroactivas** van descargándose, ya que gradualmente hay una disponibilidad de concentración menor en la superficie del electrodo para reaccionar.

EJEMPLO 7.5

Se realiza la electrólisis de una muestra de L-Dopa, una droga que se utiliza para combatir los síntomas del Parkinson, con $42,0 \mu\text{C}$. El proceso requiere dos electrones por molécula. El peso fórmula de L-Dopa es 197,2. ¿Cuál es la masa de L-Dopa en la muestra?



L-Dopa

Solución:

La conversión de coulombios a moles es:

$$\frac{42,0 \times 10^{-6}}{96485 \cdot 2} = 2,17_6 \times 10^{-10} \text{ moles}$$

La masa total de L-Dopa es, por tanto,

$$2,17_6 \times 10^{-10} \text{ moles} \cdot 197,2 \text{ g mol}^{-1} = 4,29 \times 10^{-8} = 42,9 \text{ ng}$$

Corrientes residuales: electrólisis competitiva

En el ejemplo que acabamos de ver se ha supuesto que toda la corriente se utiliza en la realización de la reacción que interesa. En un análisis ideal sólo el analito es electroactivo. Sin embargo, sustancias distintas a las de interés pueden *siempre* oxidarse o reducirse. Estos materiales incluyen los propios electrodos, los iones del **electrolito residual**, cualquier gas que esté disuelto en la disolución, así como impurezas en los reactivos, y componentes de la muestra. A algunos potenciales, hasta el disolvente puede electrolizarse.

Algunos ejemplos de electrólisis interferente son: descomposición del agua en hidrógeno y oxígeno gaseosos en los electrodos positivos y negativos respectivamente; el ion cloruro oxidado a cloro o a estados mayores de oxidación como hipoclorito y clorito; oxígeno reducido a peróxido y hidróxido/agua; o platino y oro oxidados (pérdida de electrones) a sus respectivos iones. Las corrientes ocasionadas por estas reacciones interferentes se denominan **corrientes residuales**. Ejemplos de estas corrientes se muestran en la Figura 7.18. Las disoluciones se purgan con gas inerte para eliminar la mayor parte del oxígeno. Obsérvese la zona donde las corrientes residuales cambian rápidamente: para el mercurio el cambio empieza en una franja estrecha de potencial y define claramente la **ventana del potencial** que es el lugar donde pueden llevarse a cabo los análisis. Fuera de la ventana, las corrientes residuales solapan e interfieren en la determinación del analito. Estas corrientes residuales son de la misma electrólisis del electrolito residual o de los propios electrodos. En el caso del mercurio, el cambio drástico de corriente en el potencial negativo extremo viene dado por la descomposición del electrolito. En el extremo contrario del intervalo, a la izquierda de la figura, la superficie del electrodo de mercurio se está oxidando. Este hecho significa que cuando los potenciales son más positivos, rondando los cero voltios, en esta escala, de los dos metales, el platino sería el mejor material de electrodo para las condiciones aquí descritas.

La selectividad para la electrólisis de los reactivos se expresa comúnmente como una relación llamada **eficacia electroquímica**, o simplemente **eficacia**. Por definición, para un ensayo coulombimétrico:

$$\text{eficacia} = \frac{\text{culombios usados en la reacción de interés}}{\text{culombios totales utilizados}}$$

La eficacia también puede expresarse en porcentaje. Una expresión similar se usa para la eficacia electroquímica utilizando los términos de la corriente que pasa por una célula durante el experimento galvanométrico:

$$\text{eficacia} = \frac{\text{corriente que electroliza la especie a determinar}}{\text{corriente total}}$$

Las condiciones óptimas para estos ensayos se dan cuando la eficacia es la mayor. Fuera de ese intervalo, una pequeña variación en corriente residual tomará la corriente de la sustancia a analizar y, entonces, no es posible realizar ninguna determinación.

La eficacia depende de la **densidad de corriente**, del material del electrodo y de las componentes de la disolución. La densidad de la corriente es la densidad por unidad de área de electrodo. Por ejemplo: A cm⁻². Las bajas densidades de corriente tienden a aumentar las eficacias electroquímicas.

En la práctica, la coulombimetría requiere que cuando se ha terminado el experimento, la especie a determinar se electrolice totalmente; de otra manera, la relación entre la carga transferida y la cantidad de reactivo sería incierta o, incluso, carente de sentido.

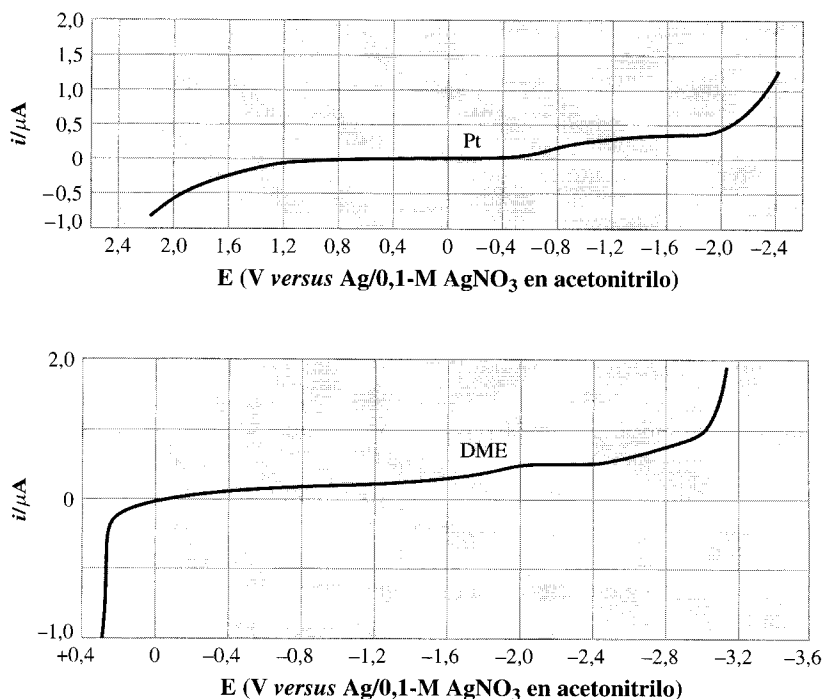


FIGURA 7.18 ▲
Ventanas de potencial.

Se muestran las corrientes residuales para dos materiales diferentes de electrodo para ver su comportamiento frente a un intervalo de potencial. El disolvente para ambos es acetonitrilo (cianuro de metilo) purificado que contiene un electrolito residual de 0,1-M de perclorato de tetrametilamonio $\text{Et}_4\text{N}^+\text{ClO}_4^-$. La gráfica de arriba se realizó con un electrodo de platino, y la de abajo con un electrodo de gota colgante de mercurio (DME). El eje horizontal está en voltios relativo al electrodo de referencia de alambre de plata recubierto de AgCl. El electrodo de referencia se hizo con alambre de plata recubierto de AgCl sumergido en una solución de 0,1-M AgNO_3 , un electrodo no acuoso. Como resultado, el potencial de la escala del potencial no puede compararse directamente con un experimento que haya empleado una referencia de Ag/AgCl acuosa. Obsérvese la línea base relativamente plana hasta llegar a los extremos, donde se produce la descomposición del disolvente o del propio electrodo. Estas dos pendientes muy pronunciadas de la curva limitan el intervalo de potencial utilizable. El intervalo de potencial también se llama intervalo de **ventana** o **intervalo útil**. Este intervalo varía dependiendo de las condiciones específicas. [Ref.: Reimpreso con permiso de Sherman, E. O., Olson, D. C. 1968. *Anal. Chem.* 40:1174-1175. Copyright 1968 American Chemical Society.]

Para considerar una medida precisa, *definimos* que al menos el 99,99% del material ha sido reducido. Suponiendo que ni la sobretensión ni la polarización por concentración necesitan ser tenidas en cuenta, ¿qué potencial debe usarse para obtener resultados precisos? (Este mismo razonamiento puede emplearse para la electrodeposición total en electrogravimetría.) Para condiciones donde se reduce el 99,99% del material, solamente el 0,01% queda en su forma oxidada. Para un proceso de reducción con intercambio de un electrón la ecuación de Nernst es:

$$E = E^{\circ} + 0,059 \log \frac{(0,0001)}{(0,9999)}$$

o bien

$$E = E^{\circ} - 0,059 \times 3 = E^{\circ} - 0,177 \text{ V}$$

Por tanto el potencial debe ser casi 0,2V más negativo que el potencial formal para obtener una reducción cuantitativa (del 99,99%).

El potencial formal E° se explicó en la Sección 7.2 de la página 210.

Valoraciones coulombimétricas

Si podemos controlar las condiciones experimentales de tal forma que prácticamente todos los electrones se transfieran al analito, entonces podemos emplear un segundo método coulombimétrico más simple para los análisis. Este segundo método más sencillo conlleva la utilización de una fuente de corriente constante y un cronómetro eléctrico preciso. La corriente constante, como su nombre indica, transmite una intensidad de corriente constante independientemente del potencial o las resistencias de la célula electrolítica. Para medir la cantidad total de coulombios, tan sólo hay que medir el tiempo desde el principio del experimento hasta que ha terminado la electrólisis. Este método se diferencia de la coulombimetría en que esta se medía a potencial constante y la corriente inherente bajaba al nivel de corriente residual (véase de nuevo la Figura 7.17).

Como consecuencia nos vemos obligados a encontrar otro método para descubrir el punto en el que la reacción redox del analito (problema) termina y comienza alguna otra reacción redox (por ejemplo una electrólisis residual). Esta descripción es semejante a una valoración por neutralización. En efecto, el método coulombimétrico de corriente constante se llama **valoración coulombimétrica** por su similitud con la valoración por neutralización normal. El profesor G. W. Ewing la ha llamado «valoración con electrones»⁴, una frase muy concisa y descriptiva. Por lo general, el analito no se electroliza directamente; en su lugar, el valorante se produce cuantitativamente por electrólisis en un electrodo, más que por adición de reactivos a la disolución.

El reactivo que se utiliza se genera electrolíticamente de un precursor presente en exceso comparado con el analito. En la Tabla 7.7 hay una serie de reactivos que pueden generarse coulombimétricamente. Obsérvese que no todos estos procesos son valoraciones redox. También se incluyen H^+ y OH^- generados para valoraciones ácido-base. Por otro lado, pueden generarse quelatos reduciendo un ion metálico fuertemente quelado, generalmente mercurio, que suelta el quelato, y se une con las otras especies. Pueden producirse reacciones de precipitación generando iones metálicos por electrodeposición tales como los de la plata.

Una de las ventajas de las valoraciones coulombimétricas sobre la volumétricas es que no hay que preparar las disoluciones estandarizadas, por lo que no existen problemas ni con los estándares primarios ni por tener que almacenar disoluciones de reactivos inestables.

Tabla 7.7. Ejemplos de valoraciones coulombimétricas

Sustancia ensayada	Reactivo generado	Precursor	Tipo de valoración
Br ⁻	Ag ⁺	Ag ⁰ anodo	Precipitación
Fe ²⁺	Cl ₂	HCl	Redox
H ₂ O	I ₂ , I ₃ ⁻	KI (pH < 9)	Reactivo Karl Fisher
Ácidos orgánicos	OH ⁻	H ₂ O	Neutralización
Bases	H ⁺	H ₂ O	Neutralización
Ca ²⁺ , Zn ²⁺	HΔEDY ³⁻ *	HgNH ₃ ΔEDY ²⁻	Complejometría
Olefinas	Br ₂	KBr (pH < 5)	Adición olefínica (redox)

Otras referencias: Stock, J. T. *Anual fundamental reviews in Anal. Chem.*; Farrington, P. S. 1963. In *Handbook of Analytical Chemistry*. L. Meites, ed. New York: McGraw-Hill. Tabla 5.55.

⁴ Ewing, G. W. 1981. *American Laboratory* 13:16–22.

Otro de los beneficios de una valoración coulombimétrica es el manejo de menores cantidades de valorante y muestra. Como vimos en el primer ejemplo de esta sección, $0,3 \mu\text{g}$ de cobre corresponde a 1 mC de electrones que pueden medirse fácilmente con mucha precisión. De hecho, la generación de suficiente reactivo para muestras grandes o concentradas puede tardar tanto tiempo que la valoración coulombimétrica resulte inviable.

Como en cualquier valoración, hace falta algún método para determinar su punto final. Con este fin podemos utilizar varios métodos, como los indicadores redox o detección instrumental potenciométrica. Para este último hace falta un voltímetro, para percibir el salto de potencial del electrodo indicador, al igual que el electrodo pH se usa para detectar el salto de pH en el punto final de las valoraciones ácido-base.

Las valoraciones coulombimétricas tienen la ventaja de ser fáciles de automatizar, ya que el punto final no solamente puede determinarse directamente por una señal del transductor, sino que también la cantidad de valorante generado puede controlarse con precisión, y la adición electroquímica del reactivo puede pararse justo en el punto final, todo con el mismo circuito electrónico. En la próxima lección de amperometría describiremos unos cuantos ejemplos específicos de valoraciones coulombimétricas.

7.9. Amperometría

La amperometría, como su nombre indica, utiliza las medidas de la corriente eléctrica que pasa a través de una disolución para producir una oxidación o una reducción del analito (o problema). Los ensayos amperométricos dependen de las medidas cuantitativas de la corriente límite. La razón por la que los análisis cuantitativos pueden realizarse por amperometría es que la corriente límite es directamente proporcional a la concentración de las especies que se están oxidando o reduciendo en el electrodo de trabajo. La relación para i_L es, simplemente:

$$i_L = \text{constante} \times \text{concentración de la especie electroactiva a determinar} \quad (7-17)$$

La constante se determina mediante la utilización de estándares.

Se utilizan dos tipos generales de métodos amperométricos: los de *potencial variable* y los de *potencial fijo*. Las medidas galvanométricas, con potencial variable, hay que medirlas con la corriente como una función del potencial del electrodo de trabajo de una célula de tres electrodos. Estos métodos **voltamperométricos**, que incluyen **polarografía** y **voltamperometría por redisolución** («*stripping*»), se utilizan para medir las concentraciones de especies electroactivas en las disoluciones. Los tipos de analitos en solución que se pueden cuantificar mediante estas técnicas incluyen metales y especies orgánicas. Normalmente en las orgánicas la determinación se hace reduciendo el enlace o enlaces de la molécula. Algunos de los tipos de enlace orgánico que se pueden reducir de esta manera se indican en la Tabla 7.8.

En el segundo grupo de los métodos amperométricos se miden los cambios de la intensidad de corriente manteniendo fijo el potencial en el electrodo de trabajo. Pueden usarse cambios bruscos de corriente para controlar el punto final durante la valoración. Estas valoraciones a menudo se llaman **valoraciones galvanométricas**, un nombre un tanto engañoso: el reactivo se añade tanto coulombimétricamente como volumétricamente. La amperometría se puede usar también como detector en métodos de separación cromatográficos. Veamos con algo más de detalle algunos métodos amperométricos con potencial fijo.

El fenómeno de la corriente límite se muestra en la Figura 7.11, página 233.

Table 7.8. Tipos de enlace que pueden reducirse para una determinación galvanométrica

C—C	C—N	C—O	C—S	C—X ^a
C=C	C=N	C=O	C=S	
C≡C	C≡N			
	N—N	N—O	N—S	
	N=N	N=O		
		O—O	O—S	O—X
			S—S	S—X
Anillos de benceno condensados				
Algunos anillos heterocíclicos				

^aX = Halógeno.
Fuente: *Chemical and Engineering News*, March 18, 1968, p. 96.

Amperometría de potencial fijo: valoración amperométrica

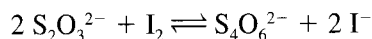
Hay dos técnicas galvanométricas habituales que tienen como fin determinar el punto final de las valoraciones. En una, la corriente se controla a medida que fluye entre dos electrodos idénticos inmersos en la disolución a valorar y en la otra, de hecho solamente un electrodo está en la disolución a valorar.

Sistema de dos electrodos

La técnica de **detección bigalvanométrica** de punto final se realiza con *dos* electrodos inertes idénticos, como pueden ser dos alambres de platino, sumergidos en la disolución a valorar. Los diagramas con el montaje experimental para medir la adición del valorante volumétricamente o coulombimétricamente se muestran en las Figuras 7.19 y 7.19b, respectivamente.

Se aplica un potencial entre electrodos, con un valor entre unos pocos milivoltios y un voltio, y se controla la corriente durante la valoración. De los datos biamperométricos que se muestran en la Figura 7.20, podemos observar que la corriente está en un nivel de microamperios sin necesidad de potenciostatos, electrodos de referencia o puentes salinos, por lo que la técnica es sencilla y económica, además de ser muy efectiva.

Veamos, con más detalle, un ejemplo específico de detección bigalvanométrica: la valoración acuosa de una disolución de tiosulfato 0,1 N con yoduro potásico 0,1 N. La reacción que tiene lugar es:



La especie del lado derecho se denomina tetrationato y se forma específicamente cuando el yodo es el agente oxidante. Los resultados de esta valoración controlada por instrumentos biamperométricos se muestran en la Figura 7.20a. Al final vemos que hay un corte abrupto en la curva de la intensidad de corriente medida, que nos permite determinar el punto final de la valoración.

¿Cuales son los conceptos químicos en que se basa este método simple y útil? El flujo electrónico de corriente en los alambres se convierte, en las superficies del electrodo, en un flujo iónico de corriente a través del electrolito. La corriente iónica fluye *únicamente* cuando algunas especies son oxidadas en el electrodo más positivo mientras que *simultáneamente* algunas especies quedan reducidas en el electrodo más negativo. Es

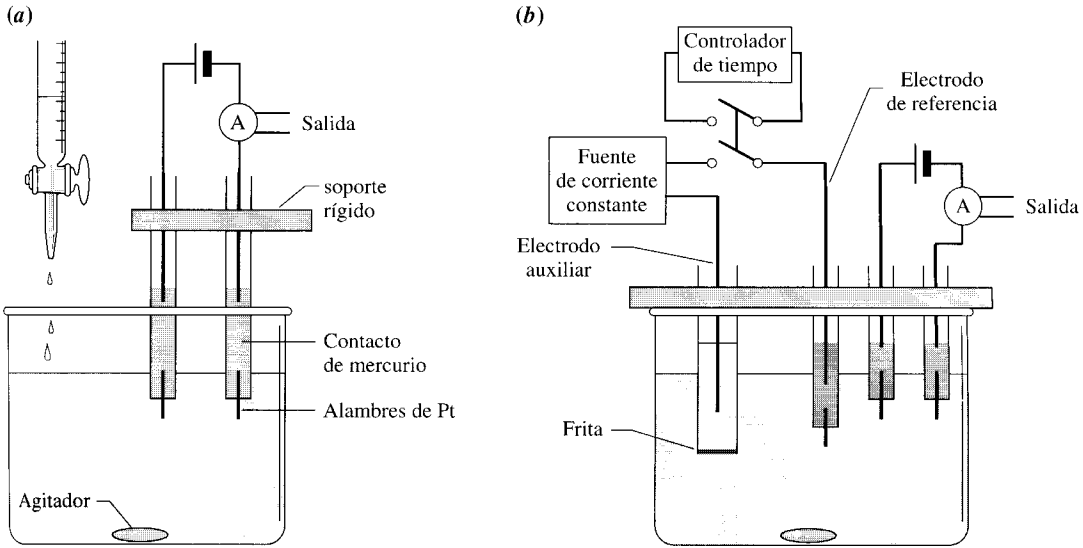
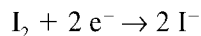


FIGURA 7.19 ▲
Valoración con detección biamperométrica.

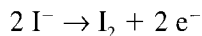
a) Instrumento empleado cuando el valorante es añadido volumétricamente;
b) Instrumento empleado cuando el valorante es generado coulombimétricamente. Los electrodos para la detección y la electrónica son los mismos para ambas configuraciones. En el caso de la generación coulombimétrica se registra el tiempo exacto para la generación del reactivo. Mediante un generador de corriente, el número de coulombios requerido para valorar la muestra se calcula como el producto: corriente \times tiempo. Si la eficiencia de electrolisis es 100% no se necesita la calibración del valorante.

sumamente importante que se entienda esta idea, pues los electrones tienen que transferirse entre los electrodos y la disolución para que el circuito se complete. Por eso, con el uso de electrodos inertes, el potencial aplicado a los electrodos tiene que ser lo suficientemente grande como para producir un proceso redox para algunas especies en solución en *cada* electrodo. Si no hay reacción en *ninguno* de los electrodos no fluiría la corriente. Esta idea tan sencilla es la base de la amperometría bigalvanométrica.

En nuestro ejemplo, los dos electrodos de platino se introdujeron en la disolución de tiosulfato con un potencial fijo a través de los mismos de 50 mV. Antes del punto final, cualquier cantidad de yodo añadido se convierte en yoduro; por tanto, las especies presentes en la disolución son yoduro, tiosulfato y tetratiónato. El tetratiónato no puede reducirse en el electrodo de platino en estas condiciones; ni tampoco puede oxidarse el tiosulfato; por lo que, antes del punto final, no fluye ninguna corriente. Una vez que se llega al punto final, tanto el yoduro como el yodo están presentes en la disolución y la corriente fluye. En el cátodo, donde se produce la reducción, la reacción es:



mientras que en el ánodo, donde tiene lugar la oxidación, la reacción es al revés:



La corriente medida por los electrodos crece a medida que se añade más yodo después del punto final.

Consideremos lo que puede pasar si se llevara a cabo la valoración «contraria» —valoración de yodo/yoduro con tiosulfato—. En ese caso, la corriente bajará a medida

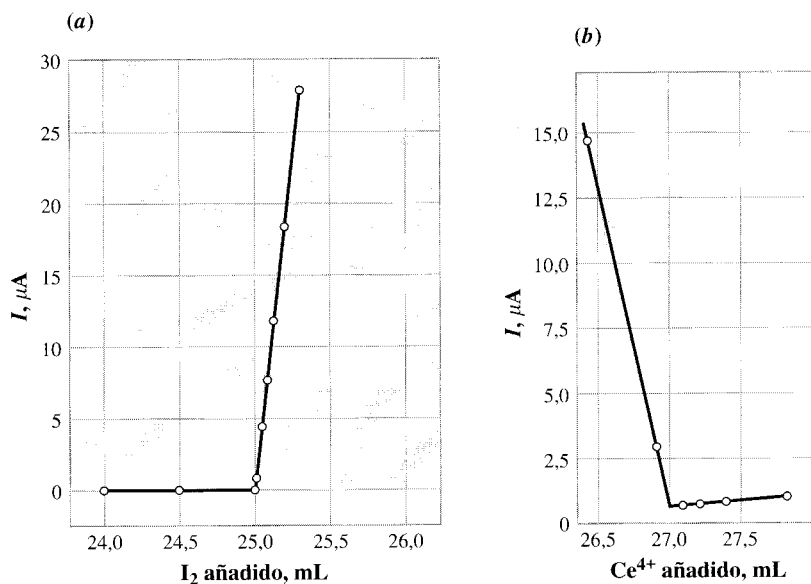
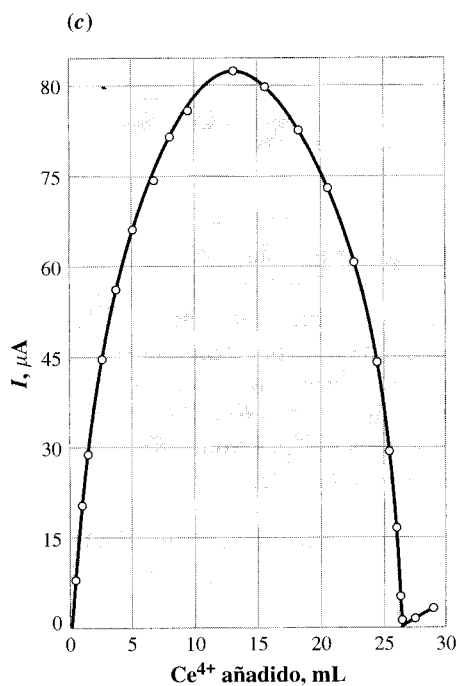


FIGURA 7.20 ►
Gráficos de valoraciones volumétricas con detección bigalvanométrica.

En las gráficas se representa μA versus volumen de reactivo añadido. **(a)** Proximidades del punto final para una valoración de 0,1-N de tiosulfato con una disolución de 0,1 N I_2 en KI acuoso. Los electrodos son dos alambres de platino con un potencial entre ellos de 50 mV. Este es un punto final de parada en seco. **(b)** Proximidades del punto final para la valoración de $K_4Fe(CN)_6$ con Ce^{4+} . Los productos son $Fe(CN)_6^{3-}$ y Ce^{3+} . El potencial aplicado es de 50 mV. La corriente fluye después del punto final debido a electrólisis del valorante. **(c)** Al igual que en la figura (b), excepto que se ve el total de la curva de valoración, no sólo la zona del punto final. Obsérvese que inicialmente no fluye ninguna corriente. [Reimpreso con permiso de Stone, K. G., Scholten, H. G. 1952. *Anal. Chem.* 24:671-674. Reimpreso con permiso de *Analytical Chemistry*. Copyright 1952 American Chemical Society.]



que la concentración de yodo disminuye, y finalmente cesa en el punto final. Este comportamiento —en el que la corriente «para en seco» en el punto final— lleva al nombre de este tipo de comportamiento; se denomina **punto final de parada en seco**.

Cuando la reacción anódica y la catódica ocurren tanto con el reactivo como con el neutralizador, tienen lugar diferentes comportamientos que quedan reflejados en la Figura 7.20b para la valoración de $Fe(CN)_6^{4-}$, la corriente tiene un valor finito en ambos extremos del punto final. Sin embargo, el punto final aún es fácil de determinar ya que corresponde a la intersección de dos líneas rectas.

Sistema de un electrodo

La segunda técnica galvanométrica de control de valoración utiliza un potenciostato de tres electrodos como se muestra en la Figura 7.21a. Solamente el electrodo de trabajo está en contacto directo con la disolución a valorar. El electrodo auxiliar y el de referencia están separados de la disolución del problema por puentes salinos. El potencial del electrodo se determina en el tramo de la corriente límite (debido al valorante o a la especie a determinar). La corriente medida es directamente proporcional a la

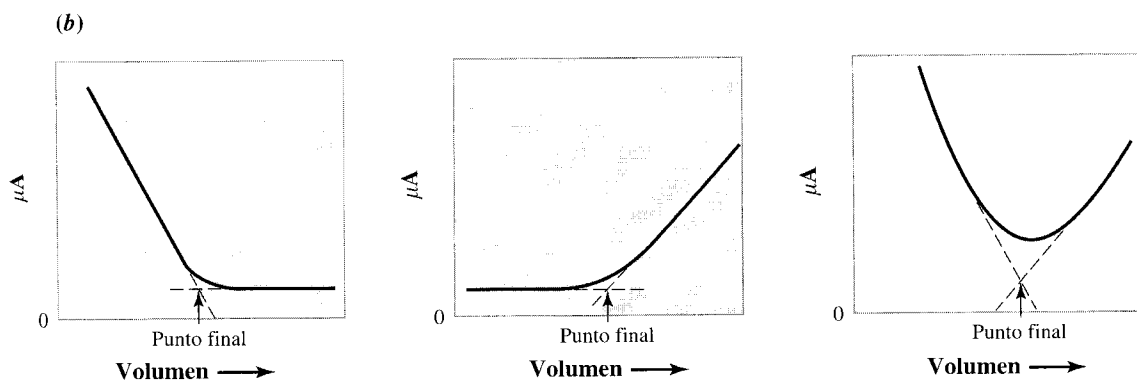
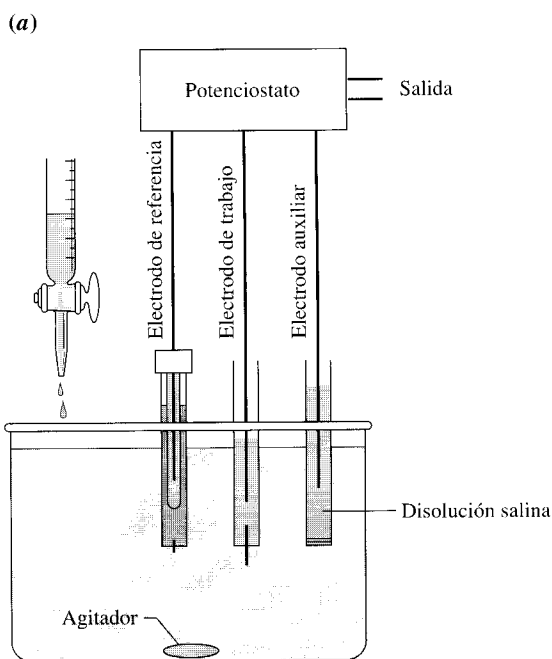


FIGURA 7.21 ▲
Valoraciones amperométricas.

a) Dispositivo experimental empleado en valoraciones amperométricas con un único electrodo. La reacción se monitoriza midiendo la corriente generada en el electrodo de trabajo mientras que el resto de los electrodos permanecen aislados. b) Tipos de curvas de valoración obtenidas al representar la corriente *versus* el volumen de valorante añadido. El punto final es el punto de intersección de las líneas discontinuas. La única diferencia entre las curvas es la diferencia de pendiente entre los tramos obtenidos. En la izquierda la especie que se electroaliza es el analito. En la figura central la especie electroalizada es el valorante. En la derecha tanto el valorante como el analito se electroalizan en el electrodo de trabajo. Experimentalmente el punto de inflexión de las curvas no es tan preciso para detectar el punto final. La intersección de los segmentos lineales permite su localización de forma más precisa.

concentración de las especies electrolizadas. Estas ideas vienen expresadas por la Ecuación 7.17:

$$i_L = \text{constante} \times \text{la concentración de las especies electroactivas} \quad (7.17)$$

Como se muestra en la Figura 7.21b, la concentración de las especies puede controlarse y representarse gráficamente como una función del volumen de valorante añadido. El punto final de la valoración se determina por la intersección de dos líneas rectas.

Lo que se ha aprendido sobre valoraciones volumétricas también sirve para las valoraciones galvanométricas. Las técnicas de detección galvanométrica son simplemente métodos alternativos para determinar el progreso de una valoración y su punto final.

Cromatografía/amperometría

La cromatografía líquida se tratará en el Capítulo 14.

La amperometría a potencial fijo tiende a ser una técnica de análisis no específica. Mientras el potencial en el electrodo sea el adecuado, todas las especies que entran en contacto con el electrodo sufrirán electrólisis. Sin embargo, antes del proceso es necesaria una etapa previa de separación. Se han desarrollado detectores amperométricos de alto grado de especialización para cromatografía, utilizando separaciones adecuadas antes de la electrólisis. Se coloca un electrodo de trabajo para que pasen sobre él las especies electroactivas a determinar después de ser separadas. Las corrientes de la electrólisis pueden usarse para cuantificar secuencialmente varios analitos presentes en la disolución. La amperometría permite determinar cantidades de subnanogramos de especies electroactivas.

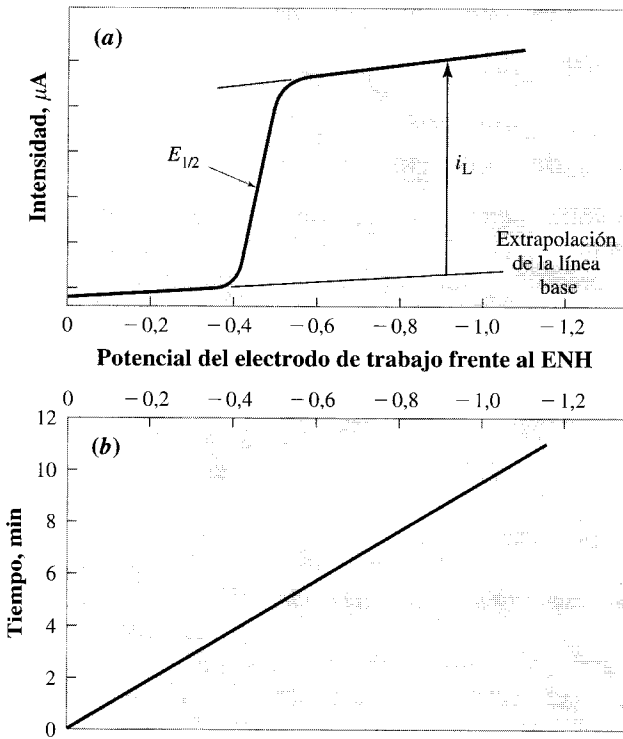
7.10. Voltamperometría

Un problema con las medidas galvanométricas es que la corriente medida es la suma de las corrientes residuales de interfases y de los analitos electroactivos. Las corrientes residuales pueden determinarse realizando una prueba en blanco, siempre y cuando se conozcan todas las especies electroactivas que puedan contribuir a las corrientes residuales. Entonces la reacción en blanco está compuesta de todas las especies interferentes a sus respectivas proporciones, lo que puede volverse extremadamente complicado. Sin embargo, hay un sistema más sencillo.

En una disolución simple, tanto la corriente residual como la corriente límite de los analitos pueden medirse y separarse barriendo el potencial de distintas formas. Observemos la Figura 7.22 donde se muestra una gráfica de la corriente de reducción en un electrodo de trabajo *versus* el potencial barrido lentamente. Como vemos en la gráfica de abajo, el potencial cambia con una frecuencia constante desde cero voltios a potenciales más negativos en unos minutos. Este potencial constantemente cambiante se llama **barrido lineal de potencial**.

Inicialmente, el potencial del electrodo se establece de forma que no se produzca electrólisis en los analitos, aunque pueden existir corrientes residuales. Comienza, entonces, el barrido del potencial, a medida que el valor del potencial cambia hacia el potencial formal de las especies a determinar E° , con algo de electrólisis adicional. Continúa aumentando la corriente a medida que se sigue barriendo el potencial y, finalmente, se llega a la zona útil de la corriente límite.

Como se muestra en la Figura 7.22, la corriente debida a electrólisis residual es extrapolación de la línea base en la zona donde la corriente límite del analito está presente. La diferencia entre la extrapolación y la corriente límite se toma como la corriente debida únicamente al analito.



◀ FIGURA 7.22
Voltamperometría de barrido lineal.

Ilustración de los resultados del experimento voltamétrico con la utilización de un electrodo formado por un disco plano de unos pocos milímetros donde uno de los lados está en contacto con la disolución. Se rota alrededor de su eje a una velocidad moderada para que la disolución global se mantenga atravesando su superficie. (Conocido como **electrodo de disco giratorio**.) (a) El flujo de corriente se representa *versus* potencial. A la izquierda está representada la corriente residual. A medida que se barre el potencial, comienza la electrólisis del analito, y la corriente aumenta rápidamente hasta alcanzar el valor de la corriente límite. La corriente límite se define como la diferencia entre la línea de extrapolación de la corriente de fondo y la zona plana de la curva. El punto medio de la subida (el punto de máxima pendiente) es $E_{1/2}$. El potencial, para estos experimentos, se barre a una velocidad constante de 100 mV min^{-1} . (b) Gráfica del barrido de potencial *versus* tiempo. Obsérvese que (a) y (b) comparten el mismo eje de potencial.

Con el fin de obtener una corriente límite repetitiva, inevitablemente hay que realizar los análisis voltamperométricos en la presencia de una alta concentración de electrodo residual. En estas condiciones, los efectos electrostáticos que pudieran perturbar a la corriente quedarían minimizados. La magnitud de la corriente límite permanece, por tanto, proporcional a la concentración global de las especies electroactivas.

Mientras la corriente límite puede utilizarse para la cuantificación de las especies electroactivas, $E_{1/2}$, que es el punto medio en la subida de la corriente, puede ayudar en la identificación de especies. $E_{1/2}$ es igual a E° si el proceso redox de las especies que se miden es **reversible**.

Reversible, en el sentido electroquímico, es ligeramente distinto del sentido de una *reacción reversible*. En la mayoría de los procesos químicos, reversible significa que una reacción redox puede suceder en ambas direcciones hacia delante y hacia atrás. En electroquímica significa que la reacción redox se produce fácilmente en un sentido o en otro. Consecuentemente, podemos deducir que la reversibilidad electroquímica requiere que tanto las especies oxidadas como las reducidas sean químicamente estables. (Si cualquiera de ellas siguiera reaccionando, no estaría presente para ser reducida u oxidada de una forma repetitiva.) Otro requisito para la reversibilidad electroquímica es que la velocidad de transferencia de electrones, tanto para la oxidación como para la reducción, sea extremadamente rápida.

En este sentido, relativamente pocas reacciones electroquímicas son realmente reversibles. En disoluciones acuosas, en casi todas las reacciones electroquímicas reversibles están presentes iones metálicos. Las reacciones electroquímicas con moléculas orgánicas aromáticas tales como aquellas que contienen anillos de benceno o de naftaleno sólo son reversibles con algunos electrodos o con ciertos disolventes orgánicos, tales como el acetonitrilo (cianuro de metilo) (CH_3CN) y el cloruro de metilo

(CH_2Cl_2). Aquí solamente vamos a ocuparnos de los procesos con reacciones reversibles.

Polarografía de corriente continua (CC) y electrodo de gota colgante de mercurio

Los potenciales (barridos) en voltamperometría se obtienen generalmente utilizando el potenciostato de tres electrodos, de tal forma que el potencial del electrodo de trabajo pueda conocerse con precisión. Sin embargo, los experimentos requieren cierto cuidado ya que las corrientes pueden resultar irreproducibles debido a los residuos depositados en la superficie del electrodo durante la electrólisis. Ejemplo de estos depósitos son las sales de los precipitados y los «alquitranes» orgánicos o polímeros que recubren la superficie del electrodo al electrolizar algunas especies orgánicas. Si la voltamperometría se realiza con disolventes orgánicos, es muy posible que se produzca una polimerización al tiempo que se produce la electrólisis del disolvente.

Una forma de resolver este problema es utilizar un electrodo que renueve su superficie. Este requerimiento, aparentemente extraño, queda resuelto utilizando el **electrodo de gota colgante de mercurio** (*dropping mercury electrode, DME*). En el dibujo de la Figura 7.23 se muestra una visión general. En esta ilustración, los electrodos auxiliar y de referencia y los puentes salinos son los mismos de siempre —sin que importe el tipo de electrodo de trabajo—. Cuando el electrodo de trabajo es un DME, al instrumento se lo conoce, por razones históricas, como un **polarógrafo**.

En la Figura 7.23b se muestran los datos más representativos de un barrido voltamperométrico con electrodo de gota colgante de mercurio. Las oscilaciones del barrido de la CC se debe al cambio de tamaño y del área de la superficie de la gota de mercurio. La corriente es menor cuando la gota es más pequeña y aumenta a medida que la gota se hace mayor. La gota de mayor tamaño tiene un área de contacto mayor con la disolución; por tanto, hay una mayor electrólisis con la superficie mayor. Obsérvese que el intervalo de las corrientes está en el orden de μA .

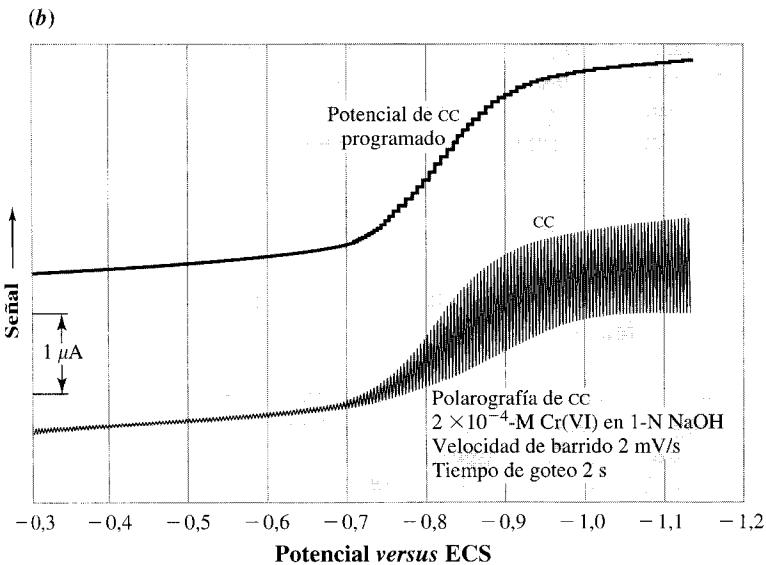
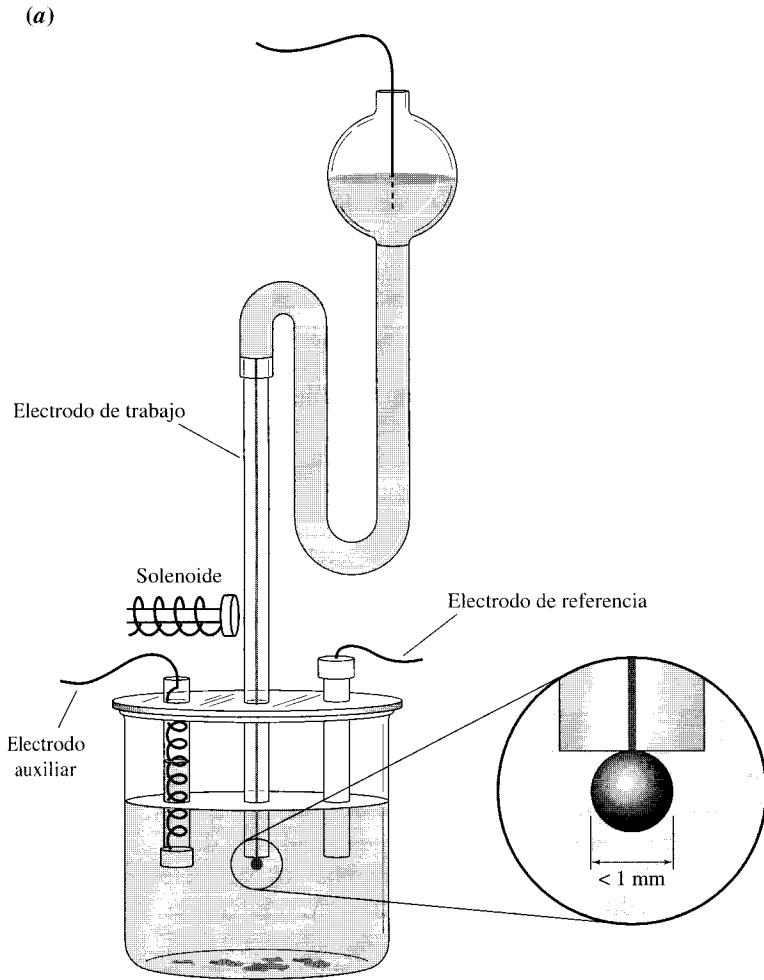
En un análisis, es más útil emplear los picos de la corriente oscilante. (Los picos de la curva de la corriente aparecen justo antes de que caiga la gota de mercurio derribada por el solenoide.) Podemos, si queremos, guardar simplemente la información útil de la magnitud de los picos y eliminar la corriente de relleno que no sirve. Se registra la corriente pico electrónicamente, e inmediatamente después, el siguiente valor pico, y así sucesivamente. Esta técnica se denomina **polarografía con programación de CC**. Para la programación de la CC, el potencial puede ir cambiando en pasos, coordinado con la frecuencia de caída de las gotas y la corriente muestreada antes del próximo paso. (A esta variación también se la conoce como **voltamperometría en escalera**.) Podemos ver un ejemplo de programación de potenciales CC para un polarograma en la Figura 7.23b.



El profesor Jaroslav Heyrovský (1890-1967) y su polarógrafo, que describió por primera vez en 1922. El resultado lo registró en una película fotográfica.

Voltamperometría de impulsos

Los electroquímicos designan a las corrientes originadas por la electrólisis como **corrientes faradaicas**. Sin embargo, siempre que un electrodo tiene un potencial aplicado que cambia, hay otra contribución de corriente, aparte de la debida a la electrólisis, que se llama corriente no faradaica; es el resultado de tener que cargar el electrodo a medida que cambia el potencial a un nuevo valor. La corriente total medida es la suma de los dos tipos de corriente.



◀ FIGURA 7.23
 Un polarógrafo y sus resultados.

En la parte superior de la imagen se muestra el dispositivo instrumental para las medidas con un electrodo de gota colgante de mercurio. El electrodo auxiliar y el de referencia están aislados químicamente y conectados, o por una frita (generalmente para el electrodo auxiliar) o por un puente salino de KCl (generalmente para el electrodo de referencia). El electrodo de trabajo es simplemente una pequeña gota de mercurio en la punta del agujero de salida de una bureta capilar. La gota cae cuando es mayor de un milímetro de diámetro aproximadamente, o puede dejarse caer con un tamaño constante activando el solenoide a intervalos regulares. Este instrumento puede usarse para todo tipo de voltamperometría. En la parte inferior de la figura hay un polarograma de cc con las condiciones expresadas en la gráfica. La cuantificación de la cc se realiza utilizando la corriente límite de la parte superior de la oscilación. La programación de potenciales se muestra encima del polarograma de cc.

En la Figura 7.24 se observa cómo surgen estas corrientes. El sistema dibujado es un **electrodo de gota colgante de mercurio** en contacto con una disolución iónica acuosa. Justamente adyacente a la superficie de mercurio hay una capa de moléculas de agua adsorbidas. Los iones de la primera capa tienden a ser aniones, como I^- , más que cationes, como Na^+ . En cualquiera de los casos sus cantidades son relativamente pequeñas, si lo comparamos con el agua. Cuando el electrodo del metal está sin cargar, los iones y cationes fuera de la primera capa de agua están mezclados al azar. Sin embargo, cuando se carga el electrodo, los iones de carga opuesta son atraídos hacia él, y los iones con la misma carga que la superficie son repelidos. Supongamos que el electrodo se carga negativamente; como consecuencia, el exceso de cargas positivas quedará localizado más cerca de la superficie, fuera de la superficie de la capa de agua. Las cargas negativas repelidas de esta zona producen un exceso de cargas negativas que se localizan en una zona más lejana. Esta zona de separación de cargas se llama **doble capa** eléctrica.

¿Cómo influye la formación de la doble capa eléctrica en la distribución de los iones? El movimiento de aniones y cationes a medida que se reagrupan origina una corriente eléctrica en la interfase. Esta corriente debida a la formación de la doble capa se denomina **intensidad de condensador**. Como no se transfieren electrones en el proceso, la intensidad de condensador es una corriente no faradaica, y de migración. En una disolución salina de 1 M, la doble capa se forma en menos de 100 milésimas de segundo después de cargar el electrodo. Cuando se descarga la superficie del electrodo, la doble capa desaparece con la misma rapidez. Una corriente de condensador migratoria y en dirección contraria acompaña a esta desaparición. Después de un cambio rápido (un escalón) en potencial, las corrientes no faradaicas aumentan y disminuyen en el tiempo con una simple dependencia exponencial.

Para la determinación cuantitativa de muchos analitos por voltamperometría y dentro de un intervalo comprendido entre 10^{-4} y 10^{-5} M, no tenemos que preocuparnos de la corriente de condensador no faradaica; las corrientes faradaicas de la electrólisis del analito son mucho mayores y duran más tiempo. Sin embargo, para determinar concentraciones de disoluciones más diluidas, del orden de 10^{-6} M o inferiores, hay que poner especial cuidado para separar las corrientes faradaicas de las no faradaicas y de las corrientes residuales, que están presentes simultáneamente. Para realizar esto se utilizan dos métodos distintos de **voltamperometría de impulsos**. (Con un electrodo de gota de mercurio colgante se utiliza el término de **polarografía de impulsos**.) Debemos indicar, antes de continuar, que la célula experimental es similar para todos los experimentos voltamperométricos; sin embargo, el potencióstato se usa de forma diferente.

El objetivo de la utilización de métodos voltamperométricos de impulsos es disminuir la influencia de las corrientes no faradaicas en las medidas. Basándonos en los comentarios anteriores, podemos establecer dos propiedades de las corrientes no faradaicas:

- a) Cuanto más rápido es el cambio de potencial, mayores serán las corrientes no faradaicas.
- b) Después de un cambio de potencial, las corrientes no faradaicas disminuyen muy rápidamente en relación con las corrientes faradaicas.

Para minimizar la interferencia de las corrientes de condensador, la corriente total se mide justo antes del impulso y de nuevo hacia el final del mismo (después de cientos de microsegundos). La primera medida proporciona la línea de base, y las siguientes ocurren cuando las corrientes no faradaicas disminuyen significativamente. Esta manipulación del potencial en el electrodo de trabajo y la toma de datos se realiza electrónicamente.

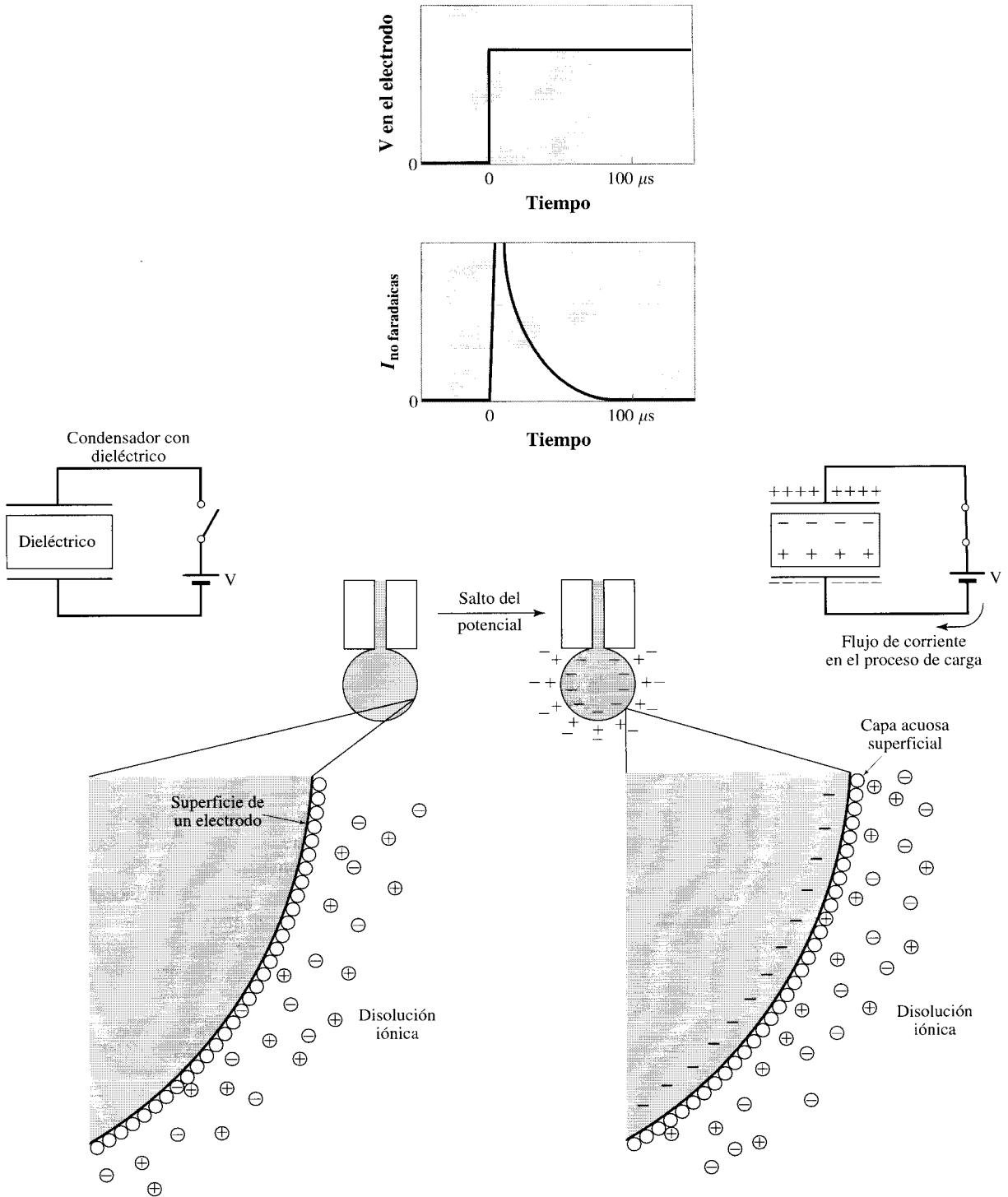


FIGURA 7.24 ▲ Ilustración del paralelismo entre el comportamiento en la superficie de un electrodo metálico en una disolución iónica con un condensador con dieléctrico entre sus platos.

Consideremos un electrodo de mercurio de gota colgante. El mercurio se carga rápidamente con un salto de potencial (escalón). El salto y las corrientes no faradaicas se muestran arriba. La corriente de condensador sube y rápidamente disminuye (en unos $100 \mu s$ en una disolución de 1 M). La analogía con un condensador se muestra en medio y abajo. La tabla, en la página siguiente, compara electrodos en disoluciones iónicas con condensadores.

FIGURA 7.24 (continuación)

Condensador	Electrodo
El condensador está descargado, y las cargas dentro del dieléctrico están distribuidas al azar.	El electrodo está descargado, y los iones están distribuidos al azar en la zona de la interfase. Si los iones son adsorbidos, tienden a ser aniones.
El potencial que se aplica a las placas del condensador produce un campo eléctrico que aparece entre las placas. Así surgen cargas en la superficie del dieléctrico. Por tanto, para que aparezcan estas cargas, tiene que atravesar corriente eléctrica por el dieléctrico.	Se aplica un potencial negativo al electrodo, originando un movimiento de los iones positivos cercanos, que tienden a moverse hacia la superficie, y los iones negativos acompañantes que tienden a alejarse. Este reagrupamiento de cargas produce una corriente, a la vez que se redistribuyen las cargas de forma menos al azar en la interfase: la doble capa.
Cuando las placas del condensador se descargan, las cargas en el dieléctrico revierten a la distribución original al azar.	Cuando se descarga el electrodo, los iones vuelven a la distribución más al azar, y la doble capa se vuelve a «colapsar», produciéndose una corriente.

Voltamperometría diferencial de impulsos

Hemos visto que la mejora en la sensibilidad puede obtenerse midiendo con cuidado las corrientes, para separar las corrientes de condensador interferentes de las corrientes faradaicas analíticamente útiles. Sin embargo, las corrientes faradaicas residuales de la disolución, aún permanecen. Se ha diseñado un sistema experimental para minimizar los efectos de las corrientes faradaicas residuales: la **voltamperometría diferencial de impulsos**. Con esta técnica, las corrientes residuales se miden y se restan del total de las corrientes faradaicas (la suma de las corrientes faradaicas del analito más la residual). El dispositivo experimental es el mismo que el de antes. Sin embargo, los potenciales de impulso aplicados en el electrodo de trabajo son los indicados en la Figura 7.25 y el resultado es la medida de la pendiente de la programación del voltamperograma de CC, como podemos ver en la Figura 7.26. En un voltamperograma estándar la pendiente mayor es $E_{1/2}$ de la sustancia que se electroliza. En un experimento diferencial, el pico aparece en $E_{1/2}$. La voltamperometría diferencial de impulsos permite análisis más pre-

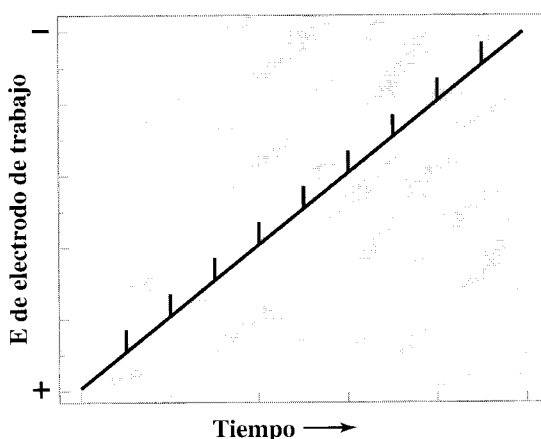


FIGURA 7.25 ▲

Gráfica del potencial del electrodo de trabajo durante la polarografía diferencial de impulsos.

Los pulsos se aplican después de que la gota ha adquirido el tamaño adecuado. Después del pulso, las gotas son descargadas mecánicamente del capilar con el fin de que su tamaño sea reproducible. Los impulsos son del mismo tamaño (amplitud del modulación 12-100 mV) y el potencial base varía a intervalos fijos como en polarografía dc. La respuesta instrumental es análoga a la de un polarograma de cc programada. Figura 7.26

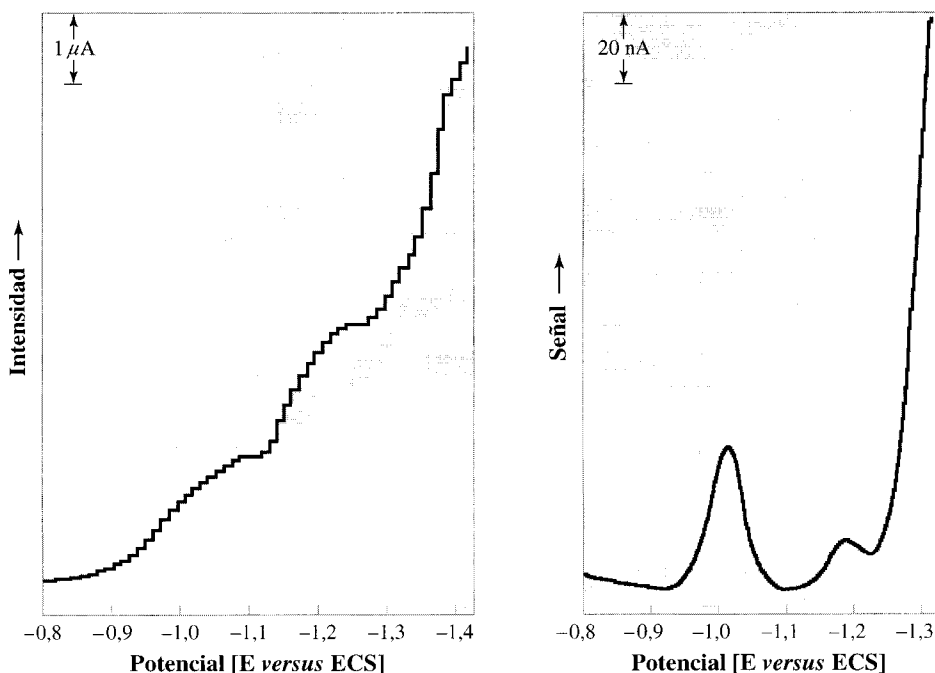


FIGURA 7.26 ▲
Polarografía de cc programada, comparada con la polarografía diferencial de impulsos.

Los polarogramas son del clorhidrato de tetraciclina (un antibiótico). Ambos polarogramas se obtuvieron con muestras preparadas en tampón de Acetato 0,1 M y pH 4, con un electrodo de gota colgante como electrodo de trabajo. Se genera una gota por segundo. Obsérvese que la escala de la corriente en el polarograma es diferente. Por otro lado, la concentración del analito del polarograma de cc (izquierda) es de 180 ppm, mientras que la concentración en la determinación por diferencial de impulso (derecha) es de 0,36 ppm —500 veces más diluida.

cisos a concentraciones menores. Los datos que se muestran en la Figura 7.26 provienen de una disolución de tetraciclina al 0,36 ppm —equivalente a una disolución de 8×10^{-7} M—. El área del pico, por encima de la línea de base, es directamente proporcional a la concentración de las especies electroactivas que se están analizando. Por otro lado, la altura del pico puede usarse para medir la concentración, si los voltamperogramas del estándar y del analito tienen la misma forma. Extrapolando desde la línea de base con efectividad desde los picos del analito, las concentraciones que bajen de 10^{-6} hasta 10^{-7} M pueden analizarse con una precisión de alrededor del $\pm 3\%$.

Voltamperometría cíclica

Todos los métodos voltamperométricos descritos hasta ahora emplean una velocidad de barrido de alrededor de 100 mV por minuto. Esto permite que la intensidad límite se establezca en valores reproducibles, y por tanto optimizar la precisión y la exactitud.

Sin embargo, un barrido de potencial más rápido puede ser útil en la búsqueda de especies electroactivas de la disolución. El método utilizado se denomina **voltamperometría cíclica** (VC), y la velocidad del barrido puede subir hasta 100 Vs^{-1} . Sin embargo, para uso normal, la velocidad de barrido de potencial se acerca más a los valores $0,01 - 1 \text{ Vs}^{-1}$. En experimentos de VC, los electrodos y otras componentes de la célula de analito pueden ser los mismos que hemos visto en este capítulo. El electrodo de trabajo puede ser oro, platino, carbono, mercurio o cualquier otro material conductor que

sea electroquímicamente inerte en el tramo del potencial barrido. Como en todas las técnicas voltamperométricas, el barrido del potencial da por resultado una medida simultánea de la intensidad. Sin embargo, no se utilizan impulsos de potencial o programas especiales de medida de la corriente. Por otro lado, el barrido de potencial no es unidireccional como en voltamperometría.

Un ejemplo de voltamperograma cíclico y de una representación gráfica de los valores de tiempo y de potencial asociados con el barrido de potencial se muestra en la Figura 7.27.

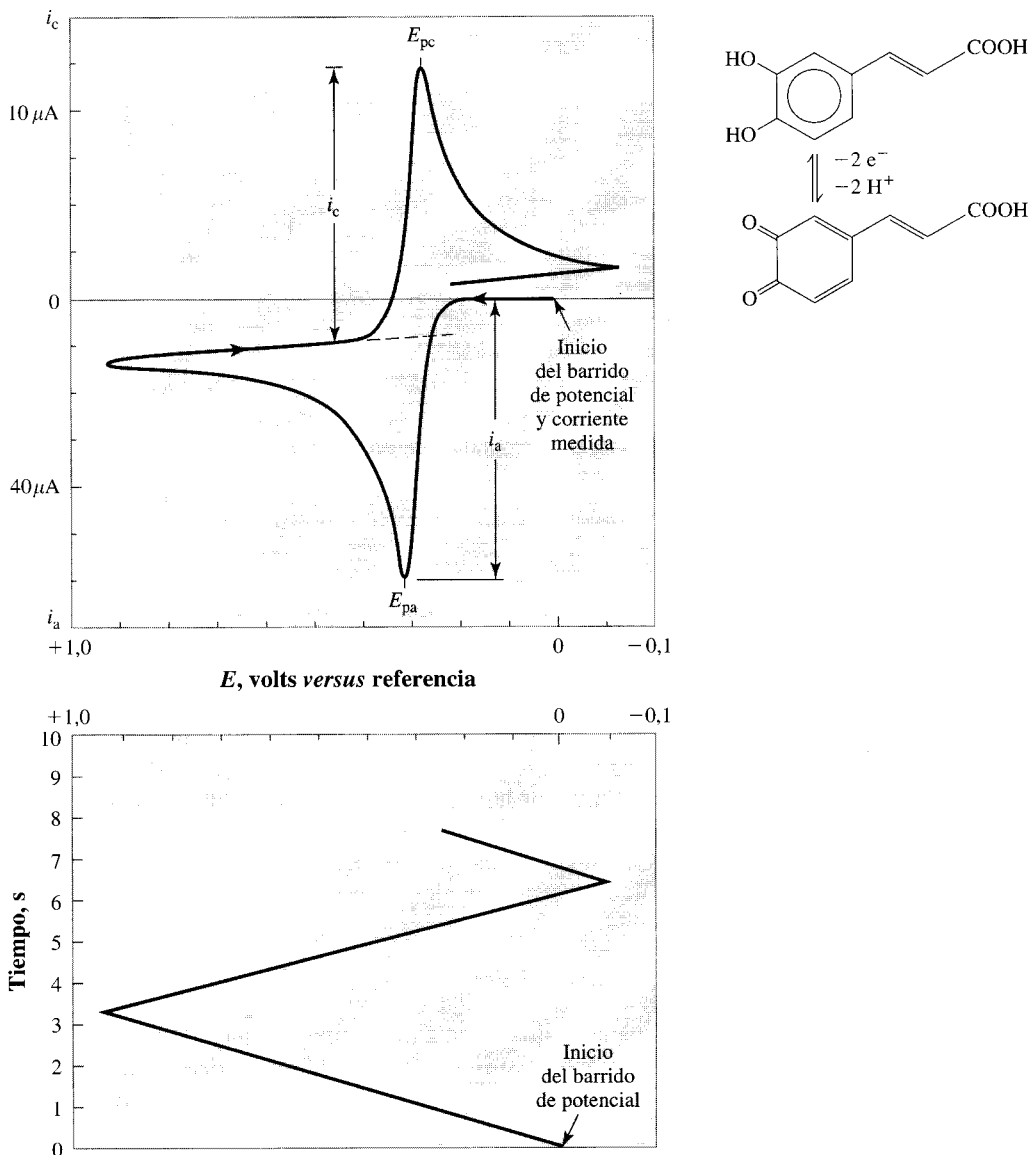


FIGURA 7.27 ▲
Voltamperograma cíclico del compuesto indicado.

Aparecen definidos los potenciales de pico anódico y catódico y las corrientes de pico. Las corrientes de pico se miden por prolongación de la línea base desde la región de inicio de la electrolysis. El barrido de potencial se muestra en la gráfica inferior. El eje de potencial es el mismo en ambas gráficas. El barrido cíclico comienza a potencial de cero voltios. El barrido se dirige a potenciales positivos provocando la oxidación del compuesto. Entonces se invierte el barrido. El proceso de oxidación produce el pico anódico. El pico catódico se origina por la reducción de la especie oxidada.

En este voltamperograma el barrido lineal del potencial comienza en 0,0 V, se eleva hasta un poco más de 0,9 V, para luego volver atrás hasta -0,1 V, y finalmente regresa a unos 0,2 V. Esto es algo más de un **ciclo**, el cual quedó completo al volver a los 0,00 V.

Antes de explicar el hábito de la curva, de forma extraña, necesitamos realizar algunas definiciones y explicar unos convenios de la representación gráfica.

- a) En el eje de abscisas, el potencial más negativo se representa hacia la derecha y el más positivo hacia la izquierda. Este acuerdo surgió en polarografía, aunque la convención opuesta es tan frecuente como ésta. Por tanto, conviene leer cuidadosamente lo que viene indicado en los ejes de las gráficas.
- b) Con potenciales más negativos hacia la derecha, las intensidades para la reducción se representan aumentando hacia arriba, como están en los voltamperogramas de las Figuras 7.23 y 7.26. Estas intensidades comúnmente se denominan **intensidades catódicas**, i_c . Así las intensidades oxidantes (**anódicas**) i_a se representan gráficamente hacia abajo.
- c) El barrido de potencial empieza en cero y va hacia valores más positivos. Un barrido de potencial que vaya hacia potenciales más positivos se denomina **barrido positivo**. Un barrido de potencial hacia potenciales más negativos es un **barrido negativo**⁵.
- d) Como puede verse en la Figura 7.27, las corrientes presentan picos. El potencial al que se llega en la corriente catódica se denomina **potencial de pico catódico** E_{pc} o $(E_p)_c$. La notación primera es la que utilizamos en este texto. El **potencial de pico anódico**, en forma abreviada, es E_{pa} .
- e) Las abreviaturas para las intensidades de pico son i_c e i_a para las corrientes catódicas y anódicas, respectivamente.
- f) Las intensidades de pico se miden de forma análoga a las intensidades por encima de las residuales en un voltamperograma (Figura 7.22). Esto no debe sorprendernos, ya que es muy parecido excepto por la velocidad del cambio de potencial en el electrodo de trabajo. La magnitud (por encima de la residual) de cada intensidad pico (con las demás condiciones iguales) es proporcional a la concentración de las especies electroactivas presentes.
- g) La diferencia de potencial entre picos es inversamente proporcional al número de electrones transferidos. Algebraicamente tenemos:

$$E_{pa} - E_{pc} = \frac{0,059}{n} \quad \text{a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \quad (7-18)$$

La Ecuación 7-18 es para pares electroquímicamente reversibles. Si la reacción no es reversible en el electrodo, entonces los picos se separarán más. Por tanto, la Ecuación 7-18 describe un límite inferior de separación del pico. Con este aviso, el valor de n , número de electrones transferidos en la reacción, puede determinarse a partir de los voltamperogramas cíclicos.

⁵ En lugar de un barrido positivo y un barrido negativo, pueden encontrarse los términos *barrido anódico* y *barrido catódico*. Su uso no es recomendable.

- h) Para una par electroquímicamente reversible, el potencial formal de las especies electroquímicas electrolizadas es la media de los potenciales pico⁶. Algebraicamente,

$$E^{o'} = \frac{E_{pc} + E_{pa}}{2} \quad (7-19)$$

Esta simple relación hace sencilla la determinación del potencial formal.

Como podemos ver, la posición de los picos observados es muy útil para determinar los potenciales redox en pocos minutos. Cada par reversible redox produce un conjunto de picos —uno anódico y otro catódico— centrados en $E^{o'}$. Así, un voltamperograma cíclico puede mostrar rápidamente la presencia de especies que producen reacciones de oxidación-reducción en el electrodo, con los límites establecidos por la electrólisis del disolvente y la descomposición del electrodo. Sin embargo, los potenciales formales tienen que ser lo suficientemente diferentes como para resolver los picos debidos a cada par redox.

Pero, ¿por qué tiene que haber picos de corriente? Una respuesta simplificada es que el barrido de potencial se hace tan rápido, que el experimento aísla la zona alrededor del electrodo de la disolución global. No hay tiempo suficiente, por difusión, para transportar material de la disolución global a la zona adyacente a la superficie del electrodo. Para cada pico, la subida de la intensidad desde la línea de base atravesando la zona del potencial formal, se produce de la misma manera que en voltamperometría: por la velocidad de la electrólisis, que depende de la diferencia entre el potencial del electrodo y el potencial formal del par redox. Este aumento puede compararse a los incrementos en intensidad de los voltamperogramas de CC programada de las Figuras 7.23 y 7.26. La disminución en la corriente es similar a las disminuciones observadas en coulombimetría (como muestra la Figura 7.17). Sin embargo, la disminución en la concentración tiene lugar en el pequeño volumen «aislado» cerca del electrodo, y no en la disolución global.

7.11. Voltamperometría de redisolución

La técnica electroquímica que proporciona los límites de detección más bajos para metales es la **voltamperometría anódica de redisolución**. Sus límites de detección están por debajo de 10^{-6} M a 10^{-9} M. La voltamperometría de redisolución combina técnicas coulombimétricas y voltamétricas, y las etapas de un análisis por redisolución se muestran en la Figura 7.28 junto con el resultado del barrido.

En las especies electroactivas, el límite inferior de concentración donde la voltamperometría diferencial de impulsos da buenos resultados es en disoluciones de aproximadamente 10^{-6} a 10^{-7} M. Sin embargo, si la sustancia a analizar puede concentrarse, el límite de detección puede bajarse significativamente. En otras palabras, si en principio concentramos el analito por un factor de 100, entonces el límite de detección del ensayo mejora por un factor de 100. Éste es el principio básico de la voltamperometría por redisolución. Normalmente, se utiliza como electrodo de trabajo uno de gota colgante de mercurio, aunque también pueden utilizarse el electrodo de platino o uno de carbono (grafito) con una capa fina de mercurio en su superficie. Únicamente vamos a describir el electrodo de gota de mercurio.

⁶ Un desarrollo riguroso de esta ecuación puede encontrarse en la referencia de Bard & Faulker descrita al final de este capítulo.

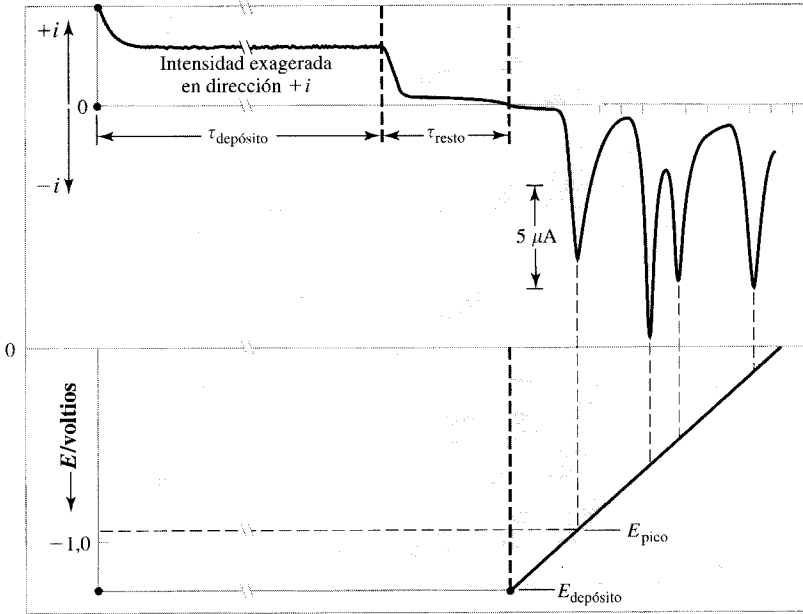


FIGURA 7.28 ▲
Voltamperometría anódica de redisolución.

Se agita la disolución, mientras los metales se reducen y se amalgaman en la gota de mercurio del electrodo de trabajo. Después hay un período de reposo, durante el cual se permite que la disolución quede en reposo y que la amalgama se haga homogénea. Seguidamente, se hace un barrido de potencial en dirección positiva. Los metales se reoxidan a sus potenciales característicos, y producen intensidades pico que se incrementan cuando cada metal empieza a oxidarse y caen por depleción del metal en la gota de mercurio. El área por debajo de cada pico y por encima de su línea de base es proporcional a la concentración del metal. Los picos de redisolución están cerca de $E_{1/2}$ de cada metal: 2,5 ppm para Cu y Zn y 5 ppm para Pb y Cd. La disolución es 0,1 M de acetato sódico y con 0,01 M de HNO_3 , y con un pH de 5,5.

Inicialmente, se electroliza una disolución que contiene el analito durante 0,5 a 5 minutos con agitador. Se muestra un ejemplo en la Figura 7.28, donde la electrólisis se realiza en una disolución agitada durante 90 s a $-1,3$ V *versus* ECS (Electrodo de Calomelanos Saturado). Con este potencial negativo, los iones metálicos que forman amalgamas con el mercurio se reducen y se disuelven en la gota de mercurio. (Estos metales aparecen en la Tabla 7.9.) De esta forma se concentran los elementos desde volumen grande a uno pequeño de menos de 2 mm de diámetro de la gota de mercurio.

A continuación, la gota se aísla eléctricamente, y se le da tiempo para que alcance su equilibrio. Este aislamiento y tiempo de equilibrio son necesarios por tres razones. En primer lugar, si el el circuito conectado al electrodo de trabajo se mantuviera conectado, se reducirían más iones, o parte del metal amalgamado (disuelto) podría reoxidarse. En segundo lugar, los metales reducidos que han penetrado en la gota a través de su superficie externa, necesitan de cierto tiempo para que se difundan y se distribuyan por igual en su interior. En tercer lugar, la disolución externa, que fue agitada durante el paso de reducción-concentración, necesita también tiempo de reposo. En otras palabras, después del paso de la concentración, se necesita de algún tiempo para obtener una disolución equilibrada, sin agitación tanto dentro de la gota de mercurio como en la disolución acuosa que la rodea.

A continuación del período de descanso, el potencial se barre linealmente en dirección positiva comenzando con el potencial de deposición. Después los metales se reoxidan en secuencia. Se produce un pico para cada especie a un potencial característico. Además de que la altura del pico es proporcional a la concentración del analito en diso-

La electrodeposición como método de pre-concentración fue iniciada en la Sección 4.5.

Tabla 7.9. Determinación de elementos mediante redisolución anódica y catódica*Mediante redisolución anódica*

Ag*, As, Au*, Ba, Bi, Cd, Cu, Ga, Ge, Hg*, In, K, Mn, Ni, Pb, Pt, Sb, Sn, Tl, Zn

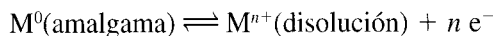
*Mediante redisolución catódica†*Br⁻, Cl⁻, I⁻, S⁻, tiocompuestos

* Determinados en electrolitos sólidos como carbono u oro.

† Estas formas precipitan con el mercurio en el electrodo y son posteriormente redisueltas en el barrido negativo.

lución, las alturas de pico son también proporcionales al tiempo de deposición (preconcentración); a mayor tiempo de deposición, mayor número de iones depositados. Por tanto, esta técnica requiere el uso de estándares.

¿Por qué aparecen picos en el voltamperograma en comparación a la serie de mesetas que encontramos en la polarografía? La respuesta a esta pregunta es similar a la respuesta dada en el caso de la voltamperometría cíclica. El incremento es resultado del potencial formal que alcanza la reacción:



El descenso es debido a la desaparición de los átomos de metal sobre, o dentro, de la gota de mercurio. El descenso de la curva continúa hasta que el metal se ha electrolizado completamente. La comparación entre las Figura 7.27 y 7.28 muestra con claridad este hecho para el caso de las curvas de corriente anódica. Ambas presentan una pendiente acusada al principio (respecto al tiempo), con una caída pequeña hacia el final de la gráfica.

La sensibilidad puede aumentarse aún más si el barrido hacia potenciales positivos se hace mediante voltamperometría diferencial de impulsos. Se puede llegar a determinar concentraciones de 10^{-9} M con una precisión de 3-5%. Sin embargo, la determinación de metal a ese nivel de concentración exige la resolución previa de todos los problemas relacionados con la preparación de la muestra para el análisis de ultratrazas. La redisolución anódica es uno de los métodos más efectivos para el análisis de trazas de metales que se pueden amalgamar. Además, el equipo necesario es relativamente barato en comparación con la instrumentación espectroscópica utilizada para el mismo nivel de concentración.

7A. Profundizando: notación de las células electroquímicas

Como se puede ver en el diseño experimental de la Figura 7.3, una célula electroquímica se compone de dos semicélulas. En este experimento, el par Tl(I)/Tl(0) representa la primera semicélula y el par Fe(III)/Fe(II) la segunda semicélula. La media célula Tl(I)/Tl(0) consiste en un alambre, o en una placa, de talio metálico parcialmente sumergida en una disolución de Tl⁺ 1 M. El talio metálico y el ion talio en disolución forman el par electroquímico. La media célula Fe(III)/Fe(II) consiste en un alambre, o en una placa, de platino sumergida en una disolución con Fe³⁺ 1 M y Fe²⁺ 1 M. A través del alambre de platino, podemos medir el potencial de este par electroquímico. Los electrodos de ambas semicélulas están conectados por un dispositivo de medida del potencial. Se necesita otra conexión para completar el circuito. Esto se consigue mediante el puente salino.

Este tipo de células electroquímicas son muy comunes y existe una notación para presentar la información de la Figura 7.3.

En la Sección 7C se describen varias formas de puentes salinos.

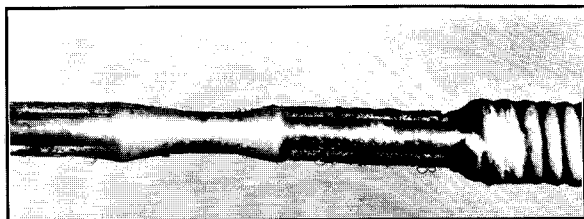


CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 7-3

Vigilar (electroquímicamente) a la glucosa

Los métodos amperométricos no son muy selectivos desde el punto de vista químico. A un determinado potencial la corriente puede aumentar, no sólo debido al compuesto estudiado sino, también, como consecuencia de la presencia de cualquier otro compuesto capaz de reaccionar fácilmente en el electrodo. Los límites de detección a nivel de ultratrazas y los bajos precios de los detectores electroquímicos son, sin embargo, determinantes. De esta forma, los métodos electroquímicos y, especialmente, los métodos amperométricos resultan excelentes cuando se combinan con algún método de separación química que permita solamente a las especies seleccionadas alcanzar el electrodo y reaccionar en él.

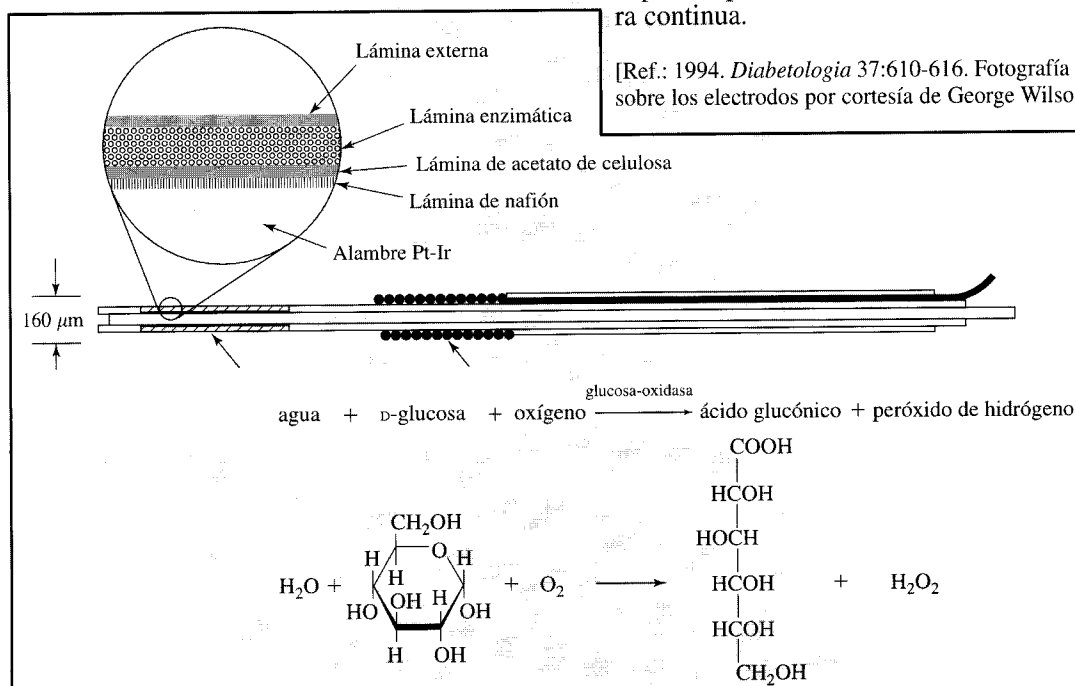
La glucosa se puede detectar amperométricamente, y los niveles en sangre de los diabéticos se pueden medir con un electrodo miniaturizado implantado bajo la piel. Su diámetro mide menos de un cuarto de milímetro y su longitud es alrededor de 1 cm. La figura a pie de página muestra un esquema del electrodo y la figura superior una fotografía de la parte activa. La zona sensible es la región más fina en la izquierda de la fotografía.



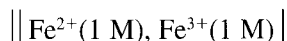
La selectividad química se consigue utilizando una enzima (glucosa-oxidasa) que reacciona con la glucosa y el oxígeno según se muestra en la reacción química. El peróxido de hidrógeno producido alcanza la superficie del electrodo a través de una membrana polimérica selectiva que mantiene a otros reactivos electroactivos alejados de la superficie del electrodo. Un conocido analgésico, el acetaminofen, es un ejemplo de posible interferencia. La oxidación del peróxido de hidrogeno a +600 mV *versus* Ag/AgCl proporciona la medida electroquímica.

Con este método, no es necesario extraer sangre cada pocas horas para medir los niveles de glucosa. Mediante un electrodo miniaturizado implantado en la piel, se puede hacer este tipo de medidas de manera continua.

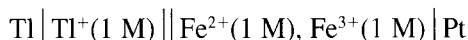
[Ref.: 1994. *Diabetologia* 37:610-616. Fotografía e información sobre los electrodos por cortesía de George Wilson.] ■



En esta notación, el puente salino se representa mediante dos líneas verticales paralelas \parallel . La interfase entre un electrodo sólido y una disolución (y cualquier frontera entre fases, sean sólidas, líquidas o gaseosas) es una simple línea vertical $|$. Cuando hay más de una especie soluble de interés, los símbolos de los componentes y sus concentraciones se separan mediante comas. Por ejemplo:



Por convenio, para una célula electroquímica determinada, la reacción correspondiente a la oxidación se escribe a la derecha. De esta forma, la célula de la Figura 7.3 se representa de manera abreviada como sigue:



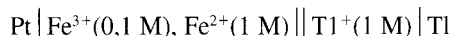
Ésta es la nomenclatura para las células electroquímicas completas y es la que se utiliza en la actualidad. Así, y de acuerdo con este convenio, el potencial de célula es:

$$E_{\text{célula}} = E_{\text{derecha}} - E_{\text{izquierda}} \quad (7A-1)$$

donde *ambos* potenciales, E_{derecha} y $E_{\text{izquierda}}$, son potenciales de reducción.

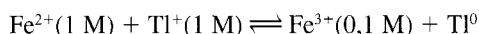
EJEMPLO 7A.1

Indíquese si es espontánea la reacción descrita en la siguiente célula:



Solución:

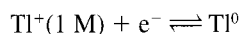
La reacción para la célula tal y como está descrita es:



A continuación, se calcula el E para cada semirreacción.

Para el talio:

La reacción, escrita como una reducción, sería:

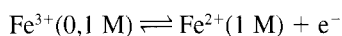


y

$$E_{\text{Tl}} = E_{\text{Tl}}^{\circ} = -0,34 \text{ V}$$

Para el hierro:

La reacción, escrita como una reducción, sería:



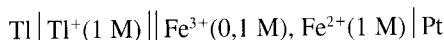
y el potencial de la semicélula esperado sería:

$$\begin{aligned} E_{\text{Fe}} &= E_{\text{Fe}}^{\circ} - (0,059/n) \log ([\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]) \\ &= 0,771 - 0,059 \log (1/0,1) \\ &= 0,712 \text{ V} \end{aligned}$$

Ahora, se calcula E para el conjunto de la reacción usando la Ecuación 7A-1.

$$E = E_{\text{Tl}} - E_{\text{Fe}} = -0,34 - 0,712 = -1,05 \text{ V}$$

Este potencial negativo indica que la reacción transcurre espontáneamente desde la derecha hasta la izquierda y que la célula se podría describir como:



de acuerdo con el convenio.

7B. Profundizando: determinación de coeficientes de selectividad

Las ecuaciones como la 7-10 y las tablas de los coeficientes de selectividad medidos representan una forma de almacenar la información obtenida a través de un experimento. Los coeficientes de selectividad dependen de la temperatura, del tipo de electrodo, del fabricante, e incluso del lote de fabricación si la producción de la superficie del material es difícil de controlar. A partir de los coeficientes de selectividad podemos reconstruir los cambios en el potencial debidos a los distintos interferentes. Sin embargo, los cálculos coinciden con el comportamiento medido si las condiciones son las mismas.

En las Ecuaciones 7-9 y 7-10, el valor de las constantes incluye varios potenciales de unión desconocidos. Para determinar los coeficientes de selectividad en un experimento, los potenciales de unión deben ser lo más constantes posible. Después, los coeficientes de selectividad se calculan midiendo el potencial de la célula con las diferentes concentraciones de cada uno de los interferentes presentes. En primer lugar, el potencial se mide *sin el interferente*. Ese potencial se expresa como:

$$E_{\text{ESI}}^{(1)} - \text{constante} = \frac{0,059}{z_i} \log a_i \quad \text{a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \quad (7\text{B-1})$$

Después, el potencial se mide en presencia *de algunos interferentes*. El potencial vendrá representado por la expresión siguiente:

$$E_{\text{ESI}}^{(2)} - \text{constante} = \frac{0,059}{z_i} \log (a_i + k_{ij} a_j^{z_i/z_j}) \quad \text{a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \quad (7\text{B-2})$$

EJEMPLO 7B.1

Calcúlese el $k_{\text{Ca,Mg}}$ para el electrodo selectivo de iones Ca^{2+} a partir de los datos de la Tabla 7B.1. El experimento se realiza midiendo el potencial del electrodo en una semicélula estándar y después añadiendo alícuotas de cloruro de magnesio concentrado a la disolución para cambiar la concentración de magnesio mientras que el volumen se mantiene aproximadamente constante. La disolución se agita y se mide el potencial del nuevo equilibrio. La disolución que contenía $\text{KCl } 0,25 \text{ M}$ como electrolito soporte se mantuvo a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Solución:

En primer lugar se calcula la diferencia entre la Ecuación 7B-1 para Ca^{2+} y la 7B-2 para Ca^{2+} en presencia de Mg^{2+} . Para simplificar, el subíndice «ESI» se ha eliminado en la siguiente ecuación.

$$E^{(2)} - E^{(1)} = 0,0295 \log \left[\frac{a_{\text{Ca}}^{(2)}}{a_{\text{Ca}}^{(1)}} + k_{\text{Ca,Mg}} \left(\frac{a_{\text{Mg}}}{a_{\text{Ca}}} \right) \right]$$

El valor del ESI medido depende de la actividad de los iones. Sin embargo, dado que las concentraciones se miden diariamente, hacemos los cálculos con las concentraciones de los

Concentraciones Ca^{2+} , Mg^{2+} (mM)	Potencial versus referencia (mV)
0,10, 0	-353,0
0,10, 10	-341,8
0,10, 50	-326,4
0,10, 100	-318,3

los iones. Para una fuerza iónica constante (0,25 M), la proporción entre las actividades iónicas medidas es muy similar a la proporción entre las respectivas concentraciones iónicas. En nuestro experimento, $a_{\text{Ca}}^{(1)} = a_{\text{Ca}}^{(2)}$, y

$$\Delta E - E^{(2)} - E^{(1)} = 0,0295 \log \left\{ 1 + k_{\text{Ca,Mg}} \cdot \frac{[\text{Mg}^{2+}]}{[\text{Ca}^{2+}]} \right\}$$

Reagrupando y tomando antilogaritmos en ambos lados obtenemos:

$$10^{\Delta E/0,0295} = 1 + k_{\text{Ca,Mg}} \cdot \frac{[\text{Mg}^{2+}]}{[\text{Ca}^{2+}]}$$

Usando los valores de la tabla, representamos en el eje de abscisas la proporción magnesio-calcio. Véase Figura 7B.1. La pendiente de la gráfica corresponde a $k_{\text{Ca,Mg}}$ y es igual a 0,014 para 0,25 M KCl a 25 °C.

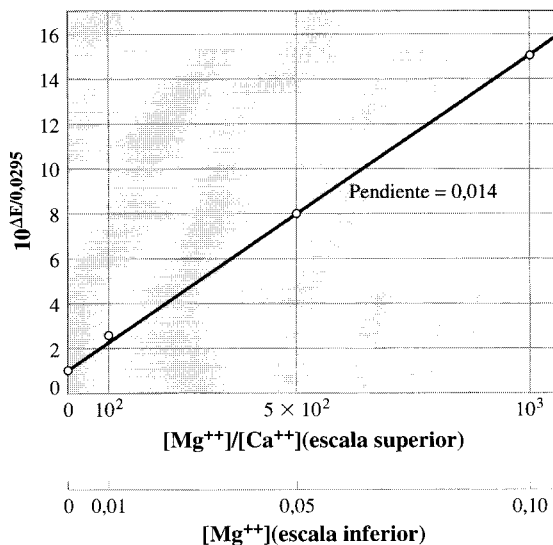


FIGURA 7B.1 ▶ Gráfica para calcular el coeficiente de selectividad $k_{\text{Ca,Mg}}$.

Ésta es la gráfica de

$$10^{\Delta E/0,0295} \text{ versus } [\text{Mg}^{2+}]/[\text{Ca}^{2+}]$$

Los datos corresponden a la Tabla 7B.1. La pendiente, para el valor 0,014, representa el coeficiente de selectividad.

Se pueden plantear ciertos interrogantes respecto a la validez de la determinación del coeficiente de selectividad en KCl 0,25 M. Después de todo, ¿no podrían también interferir los iones K^+ ? La respuesta es sí, pero la interferencia correspondiente al potasio es en realidad pequeña. Además, cualquier posible interferencia de K^+ sería constante puesto que la concentración de K^+ también lo es. En cualquier caso, es importante remarcar que la respuesta al problema fue que el coeficiente de selectividad es 0,14 en KCl 0,25 M. Cuando existe más de un interferente, es preciso sumar los términos de corrección que corresponden a cada uno de ellos.

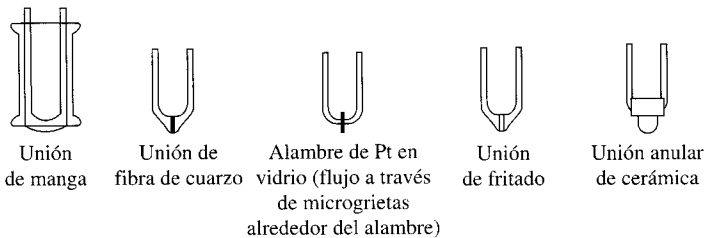
7C. Profundizando: puentes salinos y uniones líquidas

Los puentes salinos se construyen para hacer contacto eléctrico entre los depósitos de disoluciones iónicas de diferente composición sin generar potenciales de interfase excesivamente extraños. La región de contacto debe mantenerse limpia. El taponamiento de los puentes salinos se evita permitiendo a la disolución de electrolito verter hacia la disolución con analito. La velocidad de este flujo depende del tipo de puente utilizado. En la Figura 7C.1 se representan, en orden decreciente de velocidad de flujo, algunos de los puentes más empleados.

Los dos problemas más importantes a la hora de elegir el puente salino son los siguientes:

1. La facilidad con que la muestra puede taponar la unión. Por ejemplo, la unión se taponará con más facilidad con una muestra de ketchup que con un tampón de fosfato. Por tanto, en el caso del ketchup, se necesitará un flujo más rápido.
2. El tamaño de la muestra. Por ejemplo, una disolución de KCl de una unión de flujo rápido cambiará el volumen y la fuerza iónica de una muestra pequeña cuando se está realizando la medida.

Un problema diferente es el que se plantea cuando la muestra no permite el uso de K^+ , Cl^- o agua, como sucede al utilizar un electrodo selectivo de Cl^- . En este caso, la alternativa es el uso de una doble unión. En una unión doble, el electrodo que contiene el puente KCl (por ejemplo, el electrodo de calomelanos) se coloca dentro de otra disolución, como KNO_3 acuoso o bromuro de tetrametilamonio en disolvente orgánico polar. Este «electrodo dentro de un electrodo» se introduce en la disolución del analito. Aunque el KCl saturado produce los menores potenciales de interfase (las movilidades iónicas



Flujo más rápido ←

→ Flujo más lento

FIGURA 7C.1 ▲
Representación de cinco tipos diferentes de puentes salinos.

Se organizan en orden de velocidad de flujo de electrolito con el más rápido a la derecha. Si el contacto del electrodo con la disolución falla, deben utilizarse velocidades de flujo más rápidas. [Ref.: Beckman Handbook of Applied Electrochemistry. Bulletin 7386, © Beckman Instruments, 1980.]

de K^+ y Cl^- son aproximadamente iguales), su inclusión dentro de otra disolución en el doble puente hace que se pierdan parte de las ventajas de su uso. En la Figura 7-14A se representa un electrodo de referencia de unión.

7D. Profundizando: potenciales, medida de corrientes y voltamperometría diferencial de impulsos

En la Figura 7.24 se puede ver cómo la corriente no faradaica (de condensador) decae exponencialmente. Los electroquímicos han comprobado de forma experimental que la corriente no faradaica tiene una vida media más corta que la corriente faradaica. En una disolución de sales aproximadamente molar, la corriente no faradaica presenta un tiempo de vida medio inferior a $100 \mu s$. Las corrientes faradaicas disminuyen con mucha más lentitud. Este comportamiento se muestra de manera gráfica en la Figura 7D.1.

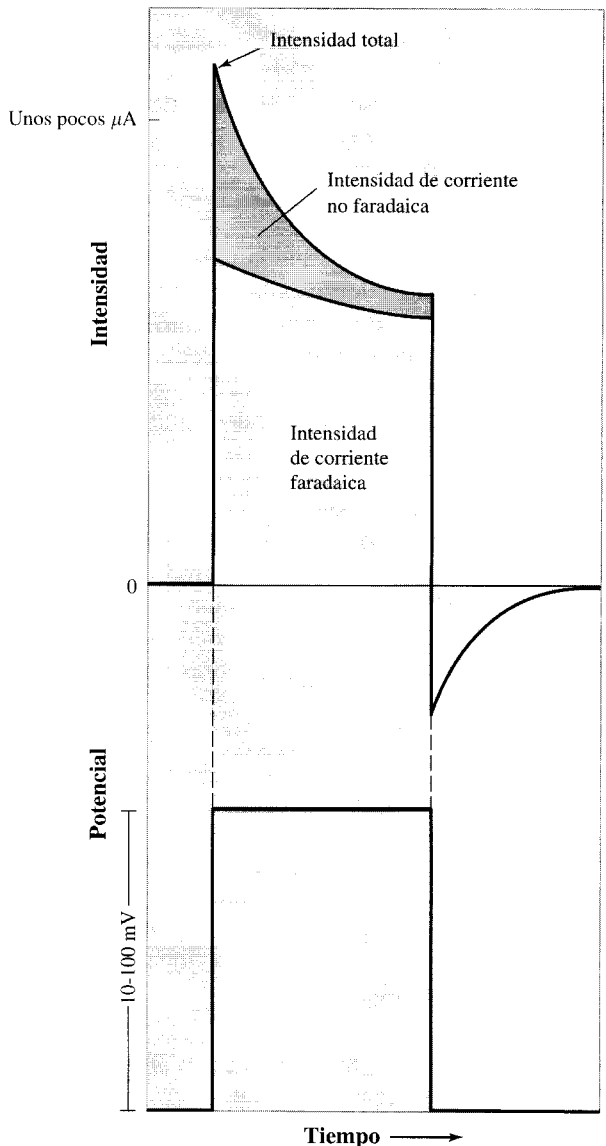
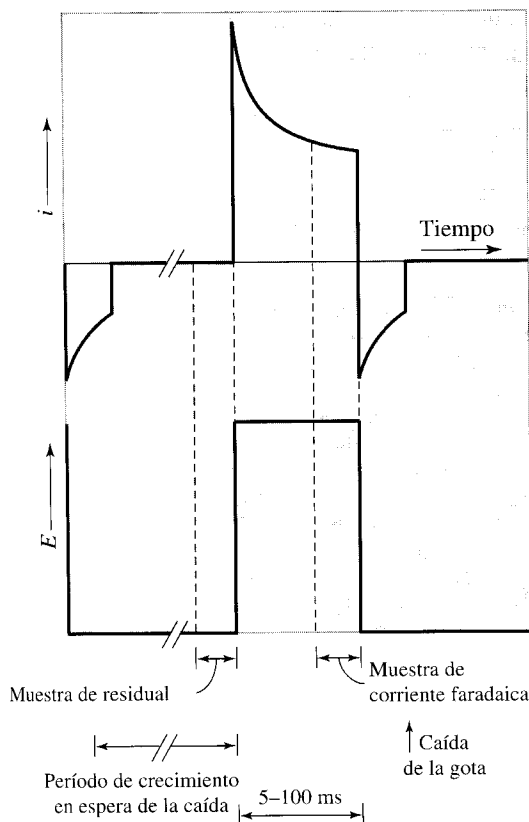


FIGURA 7D.1 ► **Fundamento de los tipos de amperometría de impulsos.**

En la parte inferior, se representa la dependencia en el tiempo que tiene el impulso del potencial aplicado al electrodo de trabajo en un potenciostato de tres electrodos. En la parte superior, se representa la corriente tal como aparece en respuesta al impulso del potencial. La intensidad total es la suma de los dos procesos: la transferencia de electrones faradaicos (transferencia e^-) y la intensidad no faradaica (la del condensador). La intensidad no faradaica disminuye más rápidamente, de forma que después de esperar el tiempo necesario (del orden de $0,1 \text{ ms}$) surge una fracción mayor de la intensidad total del proceso faradaico. Después de terminar el impulso, la corriente resultante en dirección opuesta es principalmente una corriente de condensador.

Los métodos voltamperométricos nos permiten medir las intensidades de corriente faradaicas (precisamente las que queremos medir) después de que las corrientes no faradaicas hayan disminuido significativamente. Podemos ver las curvas que aparecen durante el cambio de potencial de las ondas cuadradas en el electrodo de trabajo. En la Figura 7.25 se puede ver la programación de potencial de los impulsos de ondas cuadradas en función del tiempo: se aplican pulsos de 5-100 μs cuando el tamaño de la gota de mercurio alcanza su máximo y justo antes de su caída. Para la polarografía diferencial de impulsos, todos los impulsos por encima del potencial cambiante de base son de la misma magnitud. El impulso y el programa de medida de la voltamperometría de diferencial de impulsos nos permite minimizar la contribución, tanto de las corrientes de condensador como de las corrientes residuales faradaicas, de la siguiente forma. Como muestra la Figura 7D.2, se efectúan dos medidas de intensidad. La primera medida se realiza exactamente antes de aplicar el impulso de potencial —llamémosle E_1 — y su valor se almacena electrónicamente. La intensidad de la corriente medida en este espacio de tiempo se debe a las corrientes residuales y a las corrientes no faradaicas con el potencial justo antes del impulso. La segunda medida de intensidad tiene lugar mientras se está aplicando el impulso, después de que la mayor parte de la intensidad de condensador haya desaparecido. Esta segunda medida de la intensidad se compone en su mayor parte de corrientes faradaicas, tanto del electrolito residual como de las especies ensayadas pero a un potencial diferente, E_2 . Finalmente, la diferencia entre la segunda medida de intensidad y la primera medida produce electrónicamente el resultado, i , en función del aumento lineal del potencial. El resultado de esta diferencia es:

$$\Delta i = (\text{residual} + \text{muestra}) \text{ en } E_2 - (\text{residual} + \text{muestra}) \text{ en } E_1 \quad (7D-1a)$$



◀ FIGURA 7D.2

Impulsos y programa de medidas para la polarografía diferencial de impulsos.

El pulso de potencial y la consiguiente intensidad son los mismos que en la Figura 7D.1. Los pulsos (de 5-100 μs de longitud) se aplican en intervalos constantes (2-4 s) cuando la gota de mercurio es grande y lentamente cambia su superficie.

Exactamente después del pulso, la gota cae de la bureta capilar, lo que ocasiona, al final del pulso, un descenso rápido en la intensidad hasta la línea base. En relación a cada pulso se realizan dos medidas de intensidad. La corriente residual se mide exactamente antes del pulso y la segunda vez se mide del 10-20% del pulso y mide principalmente intensidades faradaicas. Como describimos en el texto, el resultado refleja una minimización de las corrientes no faradaicas así como una corrección para las corrientes residuales.

Como indica la ecuación, la medida tiene como resultado una diferencia de intensidad, y hemos supuesto que la contribución de la intensidad de condensador ha sido cero.

¿Cómo produce este método un signo que, en su mayor parte, se debe sólo a la(s) especie(s) electroactiva(s) que se han de determinar? Para contestar a esta pregunta vamos a reorganizar la Ecuación 7D-1a:

$$\Delta i = (\text{residual en } E_2 - \text{residual en } E_1) + (\text{muestra en } E_2 - \text{muestra en } E_1) \quad (7D-1b)$$

Otra alternativa sería:

$$\frac{di}{dE} = \frac{di_{\text{residual}}}{dE} + \frac{di_{\text{muestra}}}{dE} \quad (7D-1c)$$

Sin embargo, excepto en los extremos del tramo de trabajo del disolvente, donde la corriente residual cambia rápidamente con respecto al potencial, a través de la zona de la onda del analito, tenemos que:

$$\frac{di_{\text{residual}}}{dE} \ll \frac{di_{\text{muestra}}}{dE}$$

Por tanto:

$$\text{salida } \frac{di}{dE} \approx \frac{di_{\text{muestra}}}{dE} \quad (7D-2)$$

La corriente residual faradaica es irrelevante, en la medida en que cambia más lentamente con el potencial que la intensidad faradaica del analito.

Bibliografía recomendada

SAWYER, D. T., SOBKOWIAK, A., ROBERTS, J. L., Jr. 1955. *Experimental Electrochemistry for Chemists*. 2nd ed. New York: Wiley.

Si se van a realizar experimentos de electroquímica, es el mejor sitio donde acudir.

COVINGTON, A. K. 1979. *Ion-Selective Electrode Methodology*. Boca Raton, Florida: CRC Press. Vols. I y II.

Un enfoque práctico de los electrodos selectivos de iones, con datos de los fabricantes y numerosos ejemplos de aplicaciones.

KORYTA, J., STULIK, K. 1983. *Ion-Selective Electrodes*. 2nd ed. Cambridge and New York: Univ. Press.

Un enfoque fisicoquímico de los electrodos selectivos de iones. El texto incluye los factores que influyen en la respuesta de los ESI. No contiene lista de aplicaciones.

LATIMER, W. M. 1952. *The Oxidation States of the Elements and Their Potentials in Aqueous Solutions*. New York: Prentice Hall.

Sigue siendo un trabajo clásico sobre el tema de potenciales de oxidación. Nota: éstos son potenciales de oxidación.

KISSINGER, P. T., HEINEMAN, W. R., eds. 1996. *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*. 2nd ed. New York: Dekker.

Un libro de texto bien equilibrado entre teoría e información práctica; contiene fundamentalmente explicaciones con imágenes de los detalles de la química electroquímica. Es tipo enciclopedia, por lo que hay que saber primero lo que se va a buscar.

BARD, A. J., FAULKNER, L. R. 1980. *Electrochemical Methods*. New York: Wiley.

Un libro de texto avanzado en el tratamiento de las técnicas electroanalíticas. Se requieren unos conocimientos elevados de matemáticas y de termodinámica.

RIEGER, P. H. 1994. *Electrochemistry*. 2nd ed. New York: Chapman & Hall.

Cubre tanto las aplicaciones analíticas como las síntesis de la electroquímica. No es para los poco atrevidos en matemáticas.

BOCKRIS, J. O'M., REDDY, A. K. N. 1970. *Modern Electrochemistry*. New York: Plenum. Dos volúmenes.

Cobertura completa de los fundamentos fisicoquímico en los que se apoya la química electroanalítica. Una obra extraordinariamente bien escrita y muy recomendable.

KLUG, O., LOPATIN, B. A. 1988. *New Developments in Conductimetric and Oscillometric Analysis*. Amsterdam: Elsevier.

Una reposición relativamente nueva de un antiguo método de conductimetría.

RILEY T., WATSON, A. 1987. *Polarography and other voltammetric methods*. Chichester: Wiley.

Un libro elemental sobre técnicas voltamperométricas.

STULIK, K., PACAKOVA, V. 1987. *Electroanalytical Measurements in Flowing Liquids*. Chichester: Ellis Horwood.

Un libro singular, de extensa cobertura sobre la detección electroquímica en la cromatografía líquida de alta eficacia y de otros métodos de análisis en flujo. Bien hecho.

STOCK, J. T. 1965. *Amperometric Titrations*. New York: Interscience.

Un libro completo sobre valoraciones galvanométricas.

HEINZE, J. 1984. «Cyclic Voltametry.» *Angewandte Chemie*, International Edn. 23:831-847.

Una breve y clara descripción a un nivel intermedio de las prestaciones de la voltamperometría cíclica. Una buena introducción a textos fundamentales, con énfasis en la mecánica electroquímica en lugar de en las capacidades analíticas. (En inglés.)

BOND, A. M. 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. New York: Marcel Dekker.

Un texto leíble con una cobertura detallada de varias técnicas electroquímicas con electrodo de mercurio. El libro proporciona una muy buena cobertura práctica de la voltamperometría cíclica incluyendo los efectos de adsorción.

SERJEANT, E. P. 1984. *Potentiometry and Potentiometric Titrations*. New York: Wiley.

Un libro de texto avanzado sobre valoraciones potenciométricas; no tanto sobre cómo realizar la tarea sino las precauciones a tener en cuenta en su aplicación.

WANG, J. 1985. *Stripping Analysis, Principles, Instrumentation, and Applications*. Dearfield Beach, FL: VCH Publishers.

Un tratamiento no matemático y práctico sobre análisis de redisolución (*stripping*) dividido aproximadamente por igual entre principios, descripciones de la instrumentación y las aplicaciones. Es el próximo libro interesante para leer si se tiene pensado hacer análisis de redisolución.

MEITES, L., et al. 1977. *CRC Handbook Series in Organic Electrochemistry*. Boca Raton, Florida: CRC Press.

MEITES, L., et al. 1980. *CRC Handbook Series in Inorganic Electrochemistry*. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Es un compendio multivolumen sobre valores electroquímicos de diversos sistemas listados por elementos y/o compuestos.

BARD, A. J., 1973. *Encyclopedia of Electrochemistry of the Elements*. New York: Marcel Dekker.

Un compendio multivolumen de la información electroquímica tanto de FEM como de datos cinéticos de todos los elementos. Los volúmenes posteriores contienen información similar pero para compuestos orgánicos.

BUCK, R. P. 1978. *Anal. Chem.* 50: April 17R-29R.

Una introducción a referencias sobre electrodos selectivos de iones.

HARSÁNYI, G. 1995. *Polymer Films in Sensor Applications*. Lancaster, PA: Technomic.

Se trata principalmente del mecanismo de respuesta del sensor. Incluye algunas aplicaciones químicas, pero se concentran en sensores de propiedades físicas.

Revisión de conceptos

- ¿Qué parámetro proporciona información sobre las concentraciones de especies a determinar en cada uno de los métodos siguientes?
 - culombimetría
 - potenciometría
 - amperometría
 - conductimetría
- ¿Cuál es la reacción involucrada en las siguientes semicélulas de referencia?
 - calomelanos saturado
 - calomelanos estándar
 - cloruro de plata-plata
 - electrodo de hidrógeno estándar
- ¿Qué tipo de gráfica da una relación lineal entre la concentración del analito y el potencial del electrodo selectivo de iones?
- ¿Qué tres factores pueden hacer que la intensidad en una célula electrolítica sea menor de lo esperado para un potencial E_{aplicado} dado?
- En un sistema que utiliza un potenciostato de tres electrodos, ¿entre qué dos electrodos se mide el potencial? ¿Entre qué dos electrodos se mide la intensidad?
- En una disolución de dextrosa al 5%, ¿qué especies van a contribuir a la conductividad de la disolución?
- ¿Cuál es la diferencia (si la hay) entre la conductancia específica de una disolución y su conductividad?
- Dibújese la curva de intensidad *versus* tiempo que resultaría en un experimento culombimétrico exhaustivo, realizado en condiciones de potencial constante y con agitación de la disolución. De la gráfica, ¿qué cantidad sería proporcional a la cantidad de analito en la disolución?
- Si decimos que una reacción electroquímica es reversible, ¿qué implica esto?
- Dibújese cómo varía el potencial aplicado con el tiempo para:
 - voltamperometría diferencial de impulsos
 - voltamperometría cíclica
- En una reacción de reducción, el hidrógeno tiene un sobrepotencial cinético η (véase la Figura 7.13) de $-0,09$ V con platino y de $-1,04$ V con mercurio para intensidades bajas de corriente. Para su reducción, el cobalto no tiene sobrepotencial cinético en ninguna de estas sustancias. Si la disolución contiene $0,1$ M Co^{2+} con un pH de 1, el cobalto metálico o el hidrógeno gas sería el producto primario (el más fácilmente reducido) cuando el cátodo es:
 - mercurio
 - platino

Ejercicios

7.1. Un electrodo selectivo de iones para fluoruro se utiliza para analizar el contenido de fluoruro en agua potable. El nivel permitido de fluoruro en agua es de 1,00 ($\pm 0,1$) ppm. Diariamente se analizan tres estándares y seis muestras periódicas. El pH y la fuerza iónica se tamponaron para todas las disoluciones antes de su análisis. En un día de primavera, se obtuvieron los siguientes resultados:

Disolución	E (mV)
$1,00 \times 10^{-4} \text{ M F}^-$	40,5
$5,00 \times 10^{-5} \text{ M F}^-$	60,2
$1,00 \times 10^{-5} \text{ M F}^-$	100,0
Muestra 1	57,6
Muestra 2	61,0
Muestra 3	60,7
Muestra 4	59,3
Muestra 5	59,6
Muestra 6	59,4

- ¿Qué relación algebraica puede esperarse entre E y $[\text{F}^-]$?
- Trácese una gráfica para los estándares y obténgase la línea recta que mejor se ajuste a través de estos puntos. Basándose en los propios estándares de calibración, ¿cuál es el nivel de F^- en ppm para las muestras de agua?
- ¿Está el promedio del día dentro del tramo establecido en la planta de tratamiento de aguas?

7.2. Un electrodo selectivo de iones para fluoruro responde tanto a F^- como a OH^- pero no al HF. Se realiza la medida y se interpreta, suponiendo que todos los iones fluoruro están disociados y ninguna otra especie interfiere con el ESI. Datos: $K_a(\text{HF}) = 7,2 \times 10^{-4}$ a 25 °C; $k_{\text{FOH}} = 0,06$ en las condiciones del experimento. Respóndase a las siguientes preguntas:

- La formación de HF, ¿tiende a hacer el resultado de la medida bajo o alto?
- La presencia de OH^- , ¿tiende a hacer el resultado de la medida bajo o alto?
- Dado un valor de concentración verdadero de fluoruro de 1 ppm, ¿qué pH hará que la presencia de HF produzca un error del 3% en el fluoruro medido?
- Dada una concentración de fluoruro de 1 ppm, ¿qué pH hará que la presencia de OH^- produzca un error del 3% en el fluoruro medido?

7.3. Utilizando un microelectrodo doble se toma una medida de la diferencia de concentración de potasio entre el interior y el exterior de un tubo de riñón (estructuras microscópicas tubulares relacionadas con la excreción). Dos microelectrodos se fusionan juntos; uno es el electrodo de referencia y el otro es un electrodo selectivo de iones para el K^+ con membrana líquida. La respuesta del electrodo selectivo de

iones (ESI) es +50 mV por cada diez unidades de incremento en la actividad del a_{K^+} . El coeficiente de actividad para el potasio con la fuerza iónica de la solución es 0,77. Con dos electrodos, obtenemos una medida del potencial en el ESI de +68 mV dentro del tubo en relación con el potencial medido en la solución que está alrededor del tubo. A través de métodos espectrofotométricos obtenemos que la concentración del potasio en el exterior es 2,5 mM.

- ¿Cuál es la actividad del potasio en el exterior?
- ¿Cuál es la actividad del potasio en el interior?
- ¿Cuál es la concentración del potasio en el interior?

7.4. En una potenciometría, por el método de la adición estándar, se registra el potencial desarrollado en un volumen $V(\text{s})$ conocido de muestra. Se registra de nuevo el potencial al añadir una alícuota de estándar de volumen $V(\text{a})$. Demuéstrese que la concentración de la muestra $C(\text{s})$ está relacionada con la concentración de la alícuota $C(\text{a})$ a través de la siguiente fórmula:

$$C(\text{s}) = \frac{C(\text{a}) V(\text{a})}{\{V(\text{s}) + V(\text{a})\} 10^{\Delta E/S} - V(\text{s})}$$

ΔE es la diferencia de potencial entre la suma de la muestra y la alícuota, y la muestra sola. La letra S es la pendiente en la respuesta del electrodo en mV por cada disminución de diez unidades en la actividad. Para obtener los valores exactos con este método, se debe conocer la pendiente en la respuesta del electrodo en las condiciones en que se desarrolla el experimento.

7.5. Una forma de obtener determinaciones exactas de la concentración de un ion es mantener la fuerza iónica de la disolución en niveles altos y relativamente constantes. De esta manera, el coeficiente de actividad no cambia apreciablemente, y, entonces, la concentración de estándar y del analito pueden relacionarse entre sí. Con tal fin, es útil añadir un tampón que fije la fuerza iónica total (TISAB) a la disolución a analizar por el método ESI. Para el fluoruro, el tampón TISAB tiene la siguiente composición: NaCl 1,0 M, ácido acético 0,25 M, acetato de sodio 0,75 M, citrato de sodio 0,001, a pH 5,0. La fuerza iónica total es 1,75. Añadimos un volumen equivalente de TISAB a la disolución de fluoruro. El citrato cumple la función de coordinar los iones metálicos como el Fe^{3+} y el Al^{3+} que podrían unirse al F^- disminuyendo su concentración. También se pueden utilizar otros agentes quelatantes. En un vaso de precipitados de 250 mL de capacidad, que contiene 50 mL de TISAB, se introduce una muestra de pasta de dientes que pesa 188,0 mg. Se calienta la mezcla hasta ebullición durante 2 minutos y se deja enfriar. Se lleva a un matraz de 100 mL junto con las aguas de lavado, enrasando posteriormente con agua destilada hasta la marca. Con el electrodo selectivo de F^- , que tiene una sensibilidad de $-60,0 \text{ mV}$ (incremento de diez unidades) $^{-1}$, obtenemos una lectura de +175 mV. Entonces, se realizan dos adiciones estándar, por separado, de 0,010 mL de ion F^- 10

mg/mL. Después de mezclarlas bien, se mide el potencial, obteniéndose 73,6 y 55,3 mV, respectivamente. ¿Cuál es la concentración en ppm de F^- en la pasta de dientes original? (Es necesario utilizar la ecuación del Ejercicio 7.4.) [Ref.: Light, T. S., Capuccino, C. C. 1975. *J. Chem. Ed.* 52:247.]

- 7.6. ¿Cuál es la máxima concentración tolerable de magnesio en una disolución 10^{-4} M Ca^{2+} para que el error de la determinación de calcio mediante un electrodo selectivo sea menor del 10%? Las condiciones son $k_{Ca,Mg} = 0,014$. Supóngase que el coeficiente de actividad del Ca^{2+} y el Mg^{2+} es el mismo.
- 7.7. La Figura 7.7.1 muestra cuatro barridos voltamperométricos. Los barridos de A y de B empiezan en cero voltios frente al estándar de la semicélula y se dirigen hacia potenciales negativos. El barrido de C y de D empieza en un potencial negativo y se dirige hacia el potencial cero.

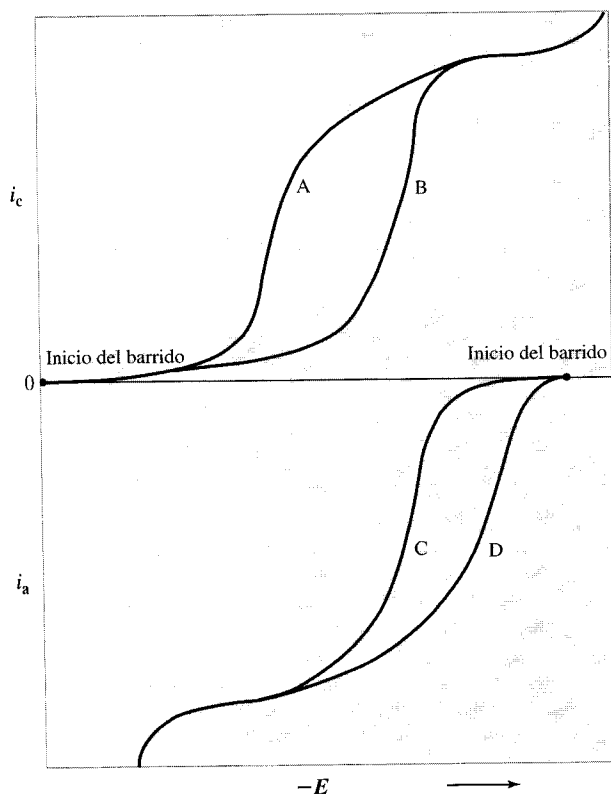


FIGURA 7.7.1 ▲

- (a) ¿Qué compuesto, A o B, es el que se reduce con mayor dificultad?
- (b) ¿Qué compuesto, C o D, es el que se oxida con mayor facilidad?
- 7.8. A partir de la Tabla 7.7 en la página 248, escríbanse las semirreacciones para generar el reactivo (2.ª columna) desde sus precursores (3.ª columna), para los ejemplos de valoraciones coulombimétricas que se dan en la tabla.

- 7.9. Para determinar la cantidad de agua que contiene una muestra, se lleva a cabo la reacción de Karl Fischer con generación coulombimétrica del reactivo. Se parte de una muestra de 1000 mL. El punto final de la reacción se alcanza a los 158 s. con una corriente de 0,1000 mA. ¿Qué cantidad de agua contenía la muestra en ppm (peso-volumen), si cada partícula de agua requiere $2e^-$? (Expresar el resultado con las cifras significativas correctas.)

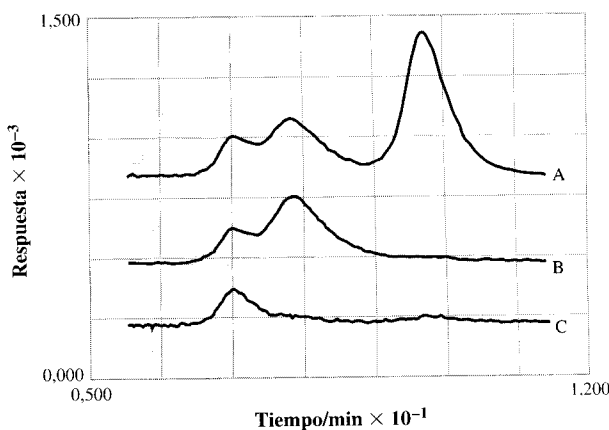


FIGURA 7.10.1 ▲

- 7.10. La Figura 7.10.1 muestra el cromatograma con detección electroquímica de una muestra formada por 90 ng de 6-hidroxidopa, 87 ng de L-dopa y 100 ng de tirosina. Las tres curvas se determinaron con el electrodo de trabajo a tres potenciales diferentes: 1,0 V (curva A), 0,6 V (curva B) y 0,3 V (curva C) versus Ag/AgCl. [Ref.: Last, T. A. 1983. *Anal. Chim. Acta.* 155:287.]
- (a) Ordénense las tres sustancias según sea su facilidad para oxidarse.
- (b) Si el experimento se hubiera realizado con un electrodo de referencia de Calomelanos Estándar, ¿el orden de oxidación habría cambiado?
- 7.11. En la Figura 7.11.1 se observa una serie de voltamperogramas cíclicos de compuestos en disolución acuosa a varios valores de pH.
- (a) ¿Cuáles son los valores de E° con los valores de pH indicados?
- (b) ¿Cuál es el potencial estándar E° del compuesto versus Electrodo de Calomelanos?

- 7.12. En coulombimetría se supone que el analito queda completamente electrolizado cuando el experimento ha finalizado. Sin embargo, la relación entre la carga transferida y la cantidad del analito es incierta o, incluso, irrelevante. Consideremos que una cantidad es cuantitativa cuando se reduce a 99,99% del material inicial. Supongamos que no se producen sobrepotenciales ni polarización por concentración. ¿Qué potencial relativo E° debe utilizarse para obtener resultados cuantitativos para reducir un ion M^{2+} a M° ?

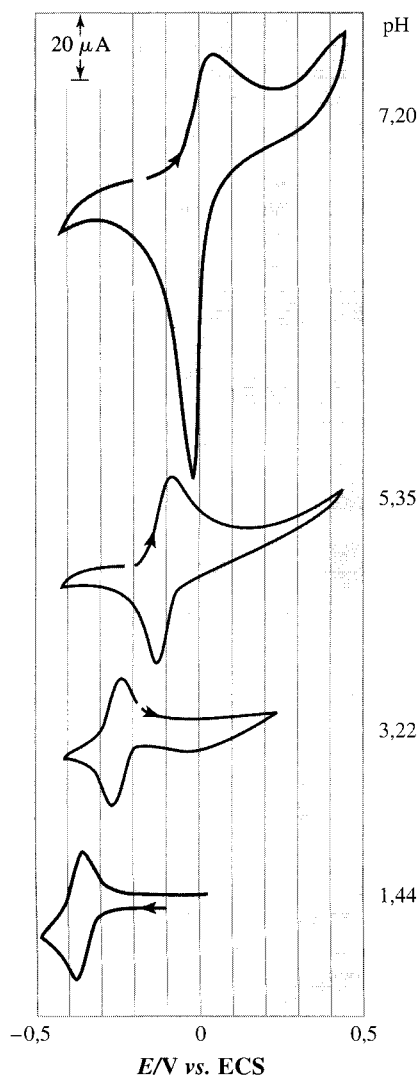


FIGURA 7.11.1 ▲

7.13. La Figura 7.13.1 muestra un voltamperograma diferencial de impulsos por redisolución (*stripping*) para la determinación simultánea de cobre, plomo y cadmio en una muestra de carne de tiburón. El tiempo de deposición es 90 s, con $-0,9$ V *versus* ECS (Electrodo de Calomelanos Saturado). El barrido sin identificar es la muestra. Los barridos identificados como A, B, y C tienen las siguientes concentraciones en $\mu\text{g/L}$, con las adiciones estándar: (A) $+0,05$ Cd, $0,5$ Pb, $0,5$ Cu; (B) $+0,10$, $1,0$, $1,0$ respectivamente; (C) $+0,20$, $1,5$, $1,5$, respectivamente. Se desplazan las líneas de base de los barridos para separarlos. En otras palabras, en el lado izquierdo de los barridos coincidirían todos si no se hubieran desplazado. Dibújense las líneas de base apropiadas, asígnense los picos del voltagrama y determinéense las concentraciones de cada uno de los tres metales. [Ref.: Adeloju, S. B., *et al. Anal. Chim. Acta.* 148:59.]

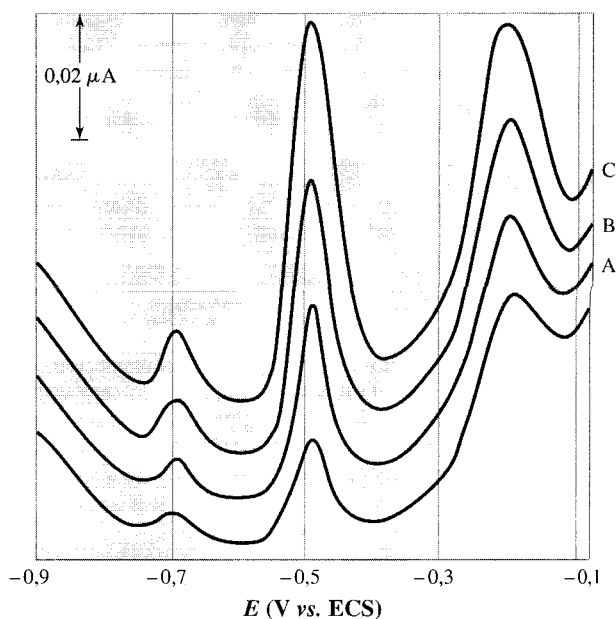


FIGURA 7.13.1 ▲

7.14. Utilizando los estándares de calibración del Ejercicio 7.1, determínese la concentración de fluoruro en agua potable procedente de diferentes plantas de tratamiento de aguas:

Disolución	E (mV)
Muestra 1	76,5
Muestra 2	76,8
Muestra 3	77,3

El operador piensa que puede haber utilizado para la preparación del patrón un número de gramos de fluoruro sódico que daría una disolución de 1 ppm de NaF, no de F^- . ¿Explicaría esto la desviación con respecto al valor esperado?

7.15. En la Figura 7.28 désígnense los picos del polarograma de la redisolución anódica para cada uno de los cuatro metales presentes en la disolución (de derecha a izquierda).

7.16. Una valoración coulombimétrica de Fe(II) por medio de Ce(IV) generado electroquímicamente se lleva a cabo de la siguiente forma. Se toman 30 mL de una disolución patrón de sulfato de Ce(III), compuesta por 100 g de $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, 100 mL de ácido sulfúrico concentrado y enrasada a un volumen de 1,000 L. Se coloca un electrodo de platino en la disolución como ánodo generador y un segundo alambre de platino aislado por una fritta como cátodo. Dos alambres adicionales de platino se utilizan para la detección del punto final. La fuente generadora de corriente continua suministra 0,1000 mA y se añade una alícuota de 5,00 μL de Fe^{2+} , y la valoración se completa en 132 s. ¿Cuántos microgramos de hierro hay en la alícuota?

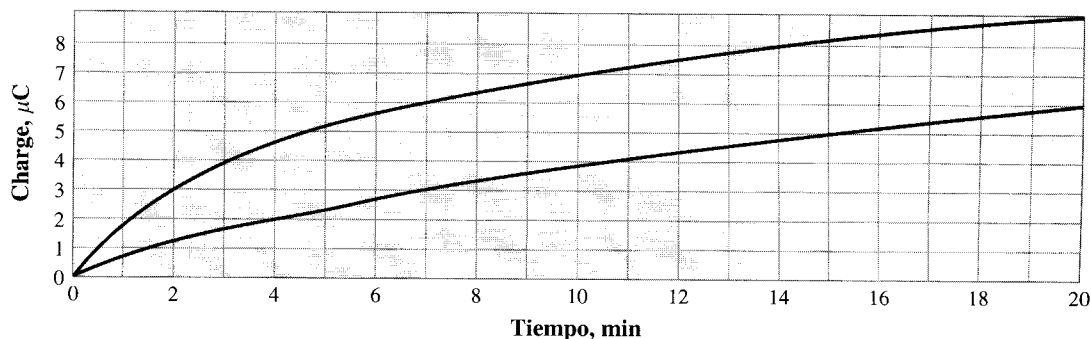


FIGURA 7.19.1 ▲

7.17. Se realiza una valoración coulombimétrica para determinar el contenido de Ca^{2+} en una muestra de 0,750 g. El punto final de la reacción se alcanza después de 48 s, con una intensidad de 0,1000 mA. ¿Cuál será el contenido de calcio, en ppm (peso/peso), si por la liberación de cada AEDT se requieren dos e^- ?

7.18. En el Ejercicio 7.11, se determinó el potencial estándar para un compuesto en una disolución acuosa de varios valores de pH en función del ECS. ¿Cuál es el potencial estándar E° del conjunto en función del ENH?

7.19. Los datos de la Figura 7.19.1 son de una determinación coulombimétrica de plomo en una mezcla bioquímica compleja. La curva inferior muestra la transferencia de carga debida a la intensidad residual desarrollada en una muestra en blanco. La curva superior es la debida a las especies que contienen plomo. La diferencia entre las dos curvas es lo que resulta de la muestra conteniendo plomo. Se utiliza un potencial de 0,700 V en función del ECS; es lo suficientemente bajo como para reducir los iones de plomo a plomo metálico, mientras se mantiene la corriente residual baja. Tomando como base la medida de la carga, calcúlese la cantidad de plomo presente.

7.20. En la Figura 7.20.1 hay diferentes polarogramas de impulsos mostrando un ensayo en blanco (la curva inferior) y con la presencia de un analito (la curva superior). La computadora de este instrumento, utilizando su programa habitual, automáticamente dibuja la línea base recta que se ve en la figura, para luego calcular la altura del pico relativa a su línea de base.

- ¿Qué porcentaje de error va a tener el resultado de la computadora, en comparación con la medida correcta de la altura por encima de la reacción en blanco?
- Dada la línea de base verdadera, ¿cuál va a ser el porcentaje de error producido por el resultado de la

computadora, comparado con la medida correcta, si se utiliza el área bajo la curva en lugar de su altura? (Extrapolar los barridos hasta que se encuentren.)

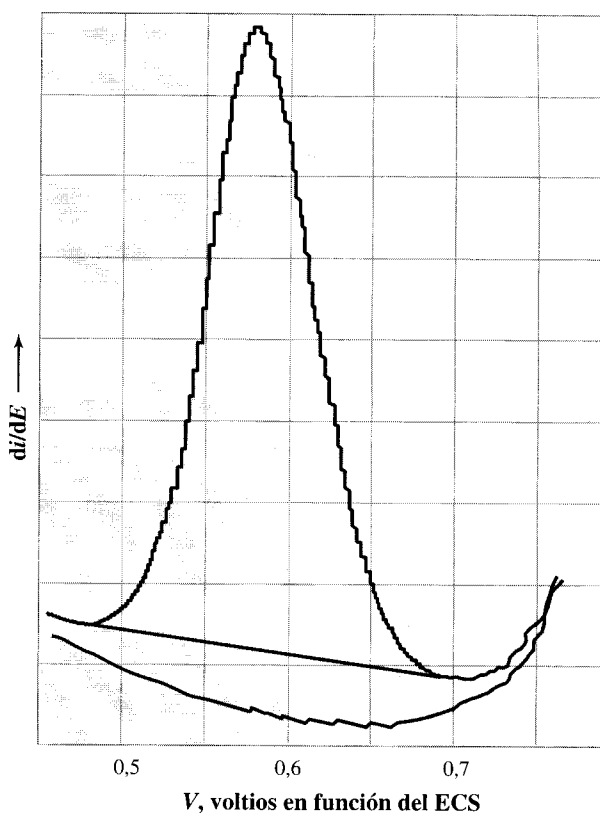


FIGURA 7.20.1 ▲

Análisis Instrumental

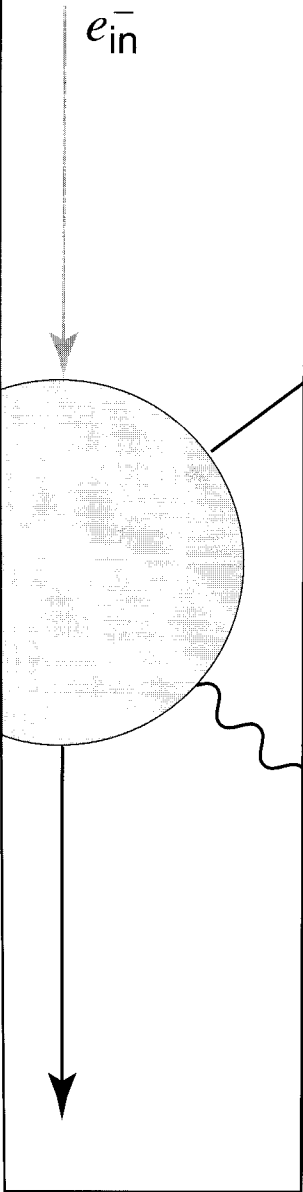
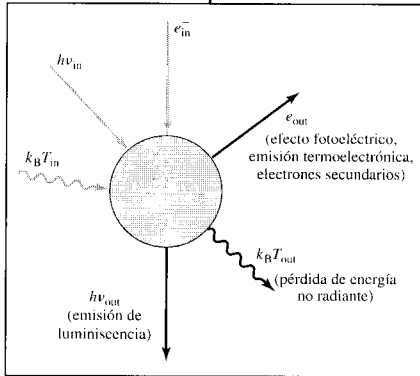


Parte 2 Capítulos 8 - 12

Kenneth A. Rubinson
Judith F. Rubinson

CAPÍTULO

Introducción a la espectrometría



Contenido

- 8.1. Espectrometría, de la radiofrecuencia a los rayos- γ
- 8.2. Revisión de energía, longitud de onda, frecuencia y temperatura
- 8.3. Transformaciones de la energía de la luz
- 8.4. Pureza y resolución del espectro
- 8.5. Medidas del espectro
- 8.6. Dispersión de la luz
- 8.7. Espectrometría de emisión
- 8.8. Espectrometría de absorción
- 8.9. Espectrometría de fluorescencia/fosforescencia
- 8.10. Interferencias espectrales y espectro de mezclas
- 8.11. Interferencias químicas
- 8.12. Interferencias instrumentales
- 8.13. Reflexión total interna y fibra óptica
- 8.14. Espectrometría de reflectancia difusa
- 8.15. Espectrometría derivada

Profundizando

- 8A. Separación de la longitud de onda: interferencia, difracción, redes y filtros
- 8B. Fuentes de radiación electromagnética: de 190 nm a 50 μm
- 8C. Transductores representativos para radiación electromagnética
- 8D. Dedución de la ley de Lambert-Beer
- 8E. Nomenclatura de absorción molecular y luminiscencia

8.1. Espectrometría, de la radiofrecuencia a los rayos- γ

La medida de la **emisión** y la **absorción** de la luz por parte de las sustancias se denomina **espectrofotometría**, a menudo simplificada como espectrometría, que es el término que vamos a utilizar. Los términos *absorción* y *emisión* tienen el mismo significado que el de su uso cotidiano: absorción significa *tomar*, y emisión significa *dar*.

Cuando coloquialmente se utiliza el término luz, nos referimos normalmente a la luz visible para nuestros ojos. Sin embargo, la luz visible es únicamente una pequeña parte del espectro electromagnético, que incluye las radiaciones de radio, microondas, infrarrojo, visible, ultravioleta, rayos X y rayos gamma. (Véase la Figura 8.1 para un breve resumen.) Aquí, la palabra luz se utilizará como un término general para la radiación electromagnética, simplemente porque es menos incómodo que *radiación electromagnética desde ondas de radio a la radiación- γ* .

Los instrumentos específicos utilizados para la espectrometría se denominan **espectrofotómetros**, **espectrorradiómetros** o **espectrómetros**, dependiendo de su construcción. Aquí se utilizará el término *espectrómetro* para referirse a todos los tipos.

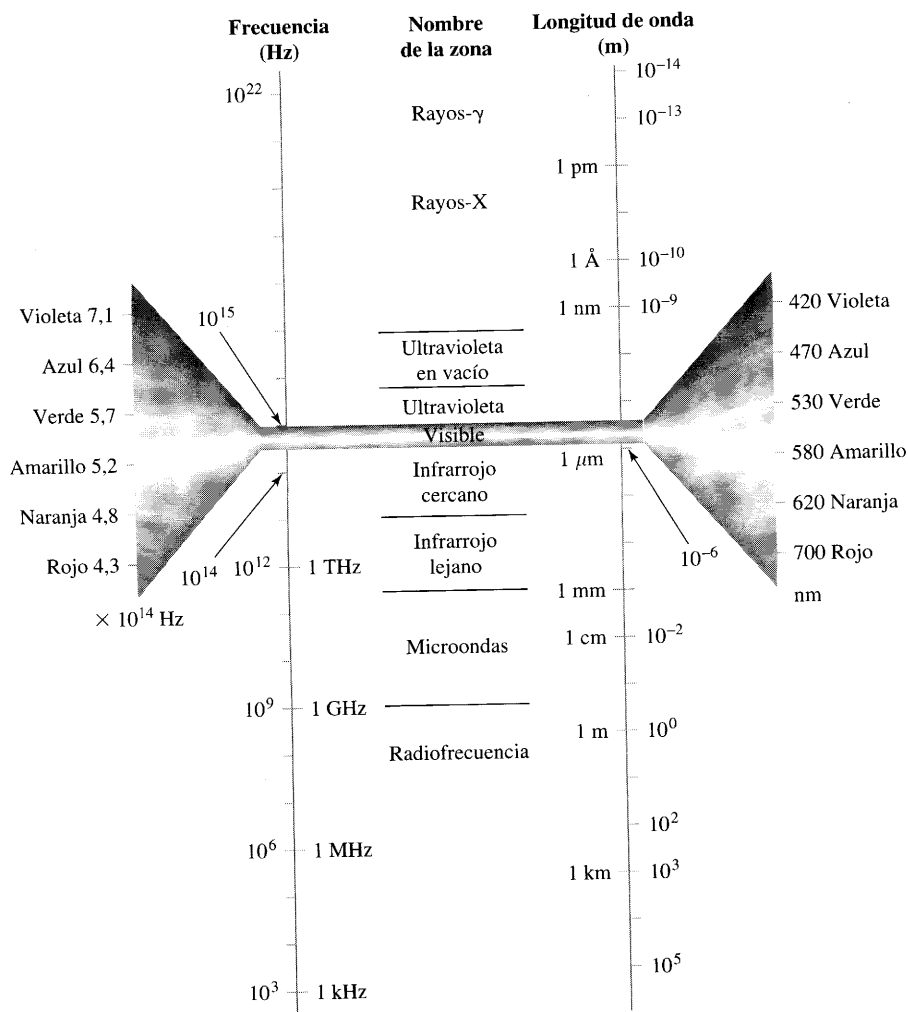


FIGURA 8.1 ► Diagrama de nombres, frecuencias y longitudes de onda (en el vacío) de la radiación electromagnética.

Cada región del espectro se utiliza en uno o más métodos analíticos. La luz visible se centra en torno a $500 \text{ nm} = 20000 \text{ cm}^{-1}$

La producción y la detección de radiación requiere de diferentes técnicas en diferentes regiones del espectro electromagnético. Sin embargo, en todos los métodos espectrométricos se miden fundamentalmente dos variables:

1. La **longitud de onda** (o *energía*) de la radiación.
2. La *cantidad* de radiación de esa longitud de onda.

Cuando un material específico absorbe energía de la luz, absorbe únicamente ciertas longitudes de onda. Para otras longitudes de onda, el material puede ser transparente. De manera similar, cuando un átomo o molécula emite luz, sólo lo hace a sus longitudes de onda características. A otras longitudes de onda, no se produce emisión. En resumen, las longitudes de onda absorbidas y emitidas dependen de la *identidad* del compuesto. Estas longitudes de onda permanecen iguales pese a la cantidad de analito presente. Sin embargo, la cantidad de luz absorbida o emitida depende de la *concentración* de compuesto presente en el paso óptico (en casos sencillos).

Se puede utilizar la espectrometría para determinar el contenido molecular y elemental de los materiales. Sin embargo, es importante darse cuenta de que cada método espectrométrico tiene sus propios beneficios, inconvenientes, especificaciones e interferencias. Ampliando esto último, se pueden clasificar las posibles interferencias en espectrometría dentro de tres tipos:

1. **Interferencias espectrales:** La absorción o emisión de otros componentes de la matriz que se produce a la(s) misma(s) longitud(es) de onda(s) que la utilizada para el análisis.
2. **Interferencias químicas:** El material a determinar no se encuentra en la misma forma química en todo el intervalo de concentración del análisis o la forma varía significativamente con los cambios en la matriz. Así, parte del comportamiento espectral esperado puede no aparecer a la(s) longitud(es) de onda(s) elegida(s) para el análisis.
3. **Interferencias instrumentales:** La iluminación en exceso llega al transductor debido a imperfecciones en el instrumento.

En algunas de las primeras secciones de este capítulo, nos ocuparemos de los fundamentos generales a aplicar a todas las espectrometrías, a pesar de la región de longitud de onda; concretamente, las diversas técnicas generales que se utilizan para medir la intensidad y la longitud de onda de la luz y los resultados que se obtienen.

8.2. Revisión de energía, longitud de onda, frecuencia y temperatura

La luz se puede considerar como una onda. Se caracteriza como una oscilación eléctrica sinusoidal y campos magnéticos. Para una onda que se mueve en el vacío, su velocidad c , su longitud de onda λ , y su frecuencia, escrita con la letra griega ν , están relacionadas de una manera sencilla; esto es:

$$\text{velocidad de la luz} = c = \lambda\nu; \quad \text{en el vacío} \quad (8-1a)$$

Cuando pasa a través de cualquier material, la velocidad es menor. Esta velocidad se llama v , y

$$\text{velocidad de la luz} = v = \lambda\nu; \quad \text{en general} \quad (8-1b)$$

la velocidad de la luz en el aire está muy próxima a la del vacío; únicamente en los cálculos que implican que la luz pase a través de sólidos no se puede asumir la velocidad como $v = c = 2,9979 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$. Ya que la frecuencia no cambia, la longitud de onda debe ser menor. Esta diferencia se caracteriza mediante el índice de refracción, n_r .

$$n_r = c/v = \frac{\lambda_{\text{vacío}}}{\lambda_{\text{materia}}} \quad (8-2)$$

En la ecuación, v es la velocidad de la luz en el material. El índice de refracción es función de la frecuencia de la radiación electromagnética y de la identidad del material a través del que pasa.

Por otro lado, cuando la luz interacciona con átomos y moléculas, tiene naturaleza de partículas de energía, fotones. Por tanto, la frecuencia ν de la radiación electromagnética es proporcional a la energía del fotón. La constante de proporcionalidad es la **constante de Planck**, h .

$$E = h\nu \quad (8-3a)$$

La energía del fotón también está relacionada con la longitud de onda de la luz. A partir de las Ecuaciones 8-1b y 8-3a, se puede ver que la energía de la luz y la longitud de onda son inversamente proporcionales; es decir, en el vacío,

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (8-3b)$$

En la práctica, se utilizan numerosas unidades para cuantificar la energía. Las dos medidas más usadas son **ergios** y **julios**. Por ejemplo, para la Ecuación 8-3a: si E se expresa en ergios y la frecuencia ν en s^{-1} , entonces la constante de Planck,

$$h = 6,62 \times 10^{-27} \text{ ergios}$$

Si E se expresa en julios y la frecuencia ν es de nuevo s^{-1} , entonces,

$$h = 6,62 \times 10^{-34} \text{ julios} \cdot \text{s}$$

Si bien se recomiendan los julios como unidad para expresar la energía, en los análisis químicos también se utilizan otras unidades para la luz y la energía. En la Tabla 8.1 se expone una selección de éstas, y en la Tabla 8.2 los factores que convierten unas en otras.

Tabla 8.1. Medidas más comunes para la longitud de onda y la energía

Nombre de la unidad	Símbolo	Unidad para	Utilizada en el intervalo de*
Nanómetro	nm	λ	UV, visible, infrarrojo cercano
Angstrom†	Å	λ	Rayos-X, UV-visible (antiguamente)
Milimicron†	mμ	λ	Visible (antiguamente)
Micra, micrómetro	μm	λ	Infrarrojo (común en física)
Número de onda	cm^{-1} , $\bar{\nu}$	ν/c	Infrarrojo, UV-visible (menos común)
electrón voltio†	eV	E	Rayos-X, rayos-γ
Hercio	Hz	ν	Radiofrecuencia, microondas
= ciclos por segundo	cps	ν	Radiofrecuencia (menos común en la bibliografía actual)

* Véase la Figura 8.1 para las zonas de longitud de onda.

† 1 Å = 0,1 nm, 1 mμ = 1 nm, 1 eV = $1,602 \times 10^{-19}$ julios.

Tabla 8.2. Factores de conversión para las longitudes de onda, frecuencia y energía en el vacío

Las regiones no sombreadas reflejan las relaciones directas, energía-energía o longitud de onda-longitud de onda. Por ejemplo:

$$1 \text{ nm} = 10 \text{ \AA}$$

$$5 \text{ nm} = 5 \times 10 = 50 \text{ \AA}$$

Las regiones sombreadas reflejan las relaciones inversas, longitud de onda-energía, o energía-longitud de onda. Por ejemplo:

Un fotón de luz con una longitud de onda de 1 nm tiene una energía, $E = 1,987 \times 10^{-16} \text{ J}$.

Un fotón de luz con una longitud de onda de 500 nm tiene una energía, $E = (1/500) \times 1,987 \times 10^{-16} = 3,974 \times 10^{-19} \text{ J}$.

Algebraicamente, escribimos tal relación inversa como:

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{E_2}{E_1}$$

	nm	\AA	cm ⁻¹	eV	MHz	J*
nm		10	10 ⁷	1,240 × 10 ³	2,9979 × 10 ¹¹	1,986 × 10 ⁻¹⁶
\AA	,1		10 ⁸	1,240 × 10 ⁴	2,9979 × 10 ¹²	1,986 × 10 ⁻¹⁵
cm ⁻¹	10 ⁷	10 ⁸		1,240 × 10 ⁻⁴	2,9979 × 10 ⁴	1,986 × 10 ⁻²³
eV	1,240 × 10 ³	1,240 × 10 ⁴	8,0655 × 10 ³		2,418 × 10 ⁸	1,602 × 10 ⁻¹⁹
MHz	2,9979 × 10 ¹¹	2,9979 × 10 ¹²	3,3356 × 10 ⁻⁵	4,1355 × 10 ⁻⁹		6,626 × 10 ⁻²⁸
J	1,986 × 10 ⁻¹⁶	1,986 × 10 ⁻¹⁵	5,034 × 10 ²²	6,241 × 10 ¹⁸	1,509 × 10 ²⁷	
Región espectrométrica	UV-vis	Rayos-X UV	Infrarrojo	Rayos-X γ	Radiofrecuencia (RNM)	

* 4,184 J = 1 cal.

En algunas ocasiones es conveniente expresar la radiación como la inversa de la longitud de onda. Un ejemplo son cm⁻¹. El inverso de los centímetros se denomina **número de onda**, la unidad más utilizada en espectrometría infrarroja.

Una medida realizada en número de ondas se representa como $\bar{\nu}$. Así, la energía del fotón es el producto de hc y el número de onda. Es decir:

$$E = hc\bar{\nu} \quad (8-3c)$$

Es importante admitir que, a pesar de las unidades de la expresión, sólo se puede asignar una energía a cada longitud de onda y frecuencia de luz. A mayor longitud de onda, menor energía y frecuencia.

EJEMPLO 8.1

Basándose en la siguiente definición:

$$1 \text{ eV} = (1 \text{ V}) \times (\text{carga del electrón en Culombios})$$

y en la equivalencia

$$1 \text{ J} = 1 \text{ V} \cdot \text{C}$$

obtener el factor de conversión de la Tabla 8.2 entre eV y J.

Solución:

$$1 \text{ eV} = (1 \text{ V})(1,602 \times 10^{-19} \text{ C}) = 1,602 \times 10^{-19} \text{ V} \cdot \text{C}$$

$$1,602 \times 10^{-19} \text{ V} \cdot \text{C} \times \frac{1 \text{ J}}{1 \text{ V} \cdot \text{C}} = 1,602 \times 10^{-19} \text{ J}$$

EJEMPLO 8.2

Utilizando los factores de conversión de la Tabla 8.2, calcular la longitud de onda de un fotón que tiene una energía de $4,50 \times 10^{-19}$ J.

Solución:

La tabla muestra que a una longitud de onda de 1 nm le corresponde $1,986 \times 10^{-16}$ J. Ya que la conversión entre longitud de onda y energía implica una relación inversa, se utiliza la ecuación

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{E_2}{E_1}$$

Sustituyendo el valor de la tabla para λ_1 , la ecuación queda:

$$\frac{1 \text{ nm}}{\lambda_2} = \frac{4,50 \times 10^{-19} \text{ J}}{1,986 \times 10^{-16} \text{ J}}$$

Entonces, podemos hallar λ_2 :

$$\lambda_2 = \frac{1,986 \times 10^{-16} \text{ J}}{4,50 \times 10^{-19} \text{ J}} \cdot 1 \text{ nm}$$

$$\lambda_2 = 441 \text{ nm}$$

Esta longitud de onda se encuentra en la región visible.

EJEMPLO 8.3

Calcúlese la energía en cm^{-1} de un fotón con una longitud de onda de $4,00 \mu\text{m}$ (en la región infrarroja).

Solución:

Utilizando las relaciones de la Tabla 8.2 y el factor de conversión apropiado para las longitudes:

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{E_2}{E_1}$$

$$\frac{4,00 \mu\text{m} \times \frac{10^3 \text{ nm}}{1 \mu\text{m}}}{1 \text{ nm}} = \frac{10^7 \text{ cm}^{-1}}{E_1}$$

$$E_1 = \frac{10^7}{4,00 \times 10^3 \text{ nm}}$$

$$E_1 = 2,50 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$$

Sin embargo, en este caso, sería más fácil utilizar la definición de número de onda:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

$$= \frac{1}{4,00 \mu\text{m} \times \frac{1 \text{ cm}}{1 \times 10^4 \mu\text{m}}}$$

$$= 2,50 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$$

Otra medida de energía conocida es la temperatura, que es la medida de la energía cinética media de un objeto. La energía es directamente proporcional a la temperatura y se puede expresar como la energía por átomo:

$$E \propto k_B T \quad (8-4)$$

donde k_B es la constante de Boltzman ($1,380 \times 10^{-16}$ erg K^{-1} atom^{-1} o $1,380 \times 10^{-23}$ julios K^{-1} atom^{-1}), o como la energía por mol de material:

$$E \propto RT \quad (8-5)$$

donde R es la constante de los gases ($8,3145 \times 10^7$ erg K^{-1} atom^{-1} u $8,3145$ julios K^{-1} mol^{-1}).

Como la energía está íntimamente relacionada con la longitud de onda y con la frecuencia, ambas deben ser función de la temperatura. El siguiente ejemplo muestra los cálculos.

EJEMPLO 8.4

La temperatura ambiente es aproximadamente 300 K. ¿Qué energía, longitud de onda y número de ondas es equivalente, $E = k_B T$?

Solución:

$$E = (1,380 \times 10^{-23} \text{ julios } K^{-1} \text{ atom}^{-1})(300 \text{ K}) = 4,14 \times 10^{-21} \text{ julios atom}^{-1}$$

$$E = \frac{hc}{\lambda} = \frac{(6,63 \times 10^{-34} \text{ julios s})(3,00 \times 10^8 \text{ m s}^{-1})}{\lambda}$$

$$\lambda = \frac{1,989 \times 10^{-25}}{4,14 \times 10^{-21}} = 4,80 \times 10^{-5} \text{ m} = 48,0 \mu\text{m}$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda(\text{cm})} = 208 \text{ cm}^{-1}$$

No debe confundirse la *energía* de los fotones con la luminosidad (más correctamente, **irradiación**) de la fuente. El número de fotones y la luminosidad están directamente relacionados, pero la energía del fotón se refiere al color de la luz.

Merece la pena hacer un pequeño paréntesis entre la energía y la intensidad. La intensidad (energía por unidad de tiempo) se mide en espectrometría cuantitativa, y la intensidad de la luz es el producto del número de fotones por su energía.

$$P = \text{número de fotones } s^{-1} \times \text{energía del fotón}$$

Se pueden calcular las unidades de la ecuación anterior según:

$$\text{Intensidad} = \text{energía/tiempo}$$

La *intensidad* de la luz es la cantidad medida en espectrometría.

8.3. Transformaciones de la energía de la luz

Tal y como dicta la ley de conservación de la energía, la suma de todas las formas de energía que entran en la muestra debe de ser igual a la suma de todas las formas de energía que salen de la muestra, más la energía que queda en el material. Los resultados de las interacciones de un átomo (o molécula) con sus alrededores y con la luz se pueden dibujar tal como se muestra en la Figura 8.2. La energía entra y sale del átomo en forma

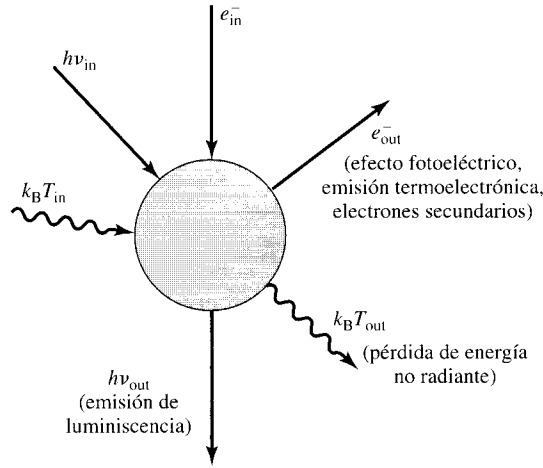


FIGURA 8.2 ▶ **Diagrama que representa la transformación de energía por parte de un átomo, molécula o ion.**

Es común representar la generación de calor (transiciones no radiantes) con flechas onduladas y la radiación absorbida o emitida con flechas rectas, cuya dirección es el sentido del flujo de energía.

de luz, calor y energía cinética de partículas tales como los electrones. Ya que la luz se puede transformar en calor, la longitud de onda de la luz que se emite puede ser mayor (menor energía) que la longitud de onda que excita el átomo, debido al calentamiento del átomo y sus alrededores.

En general, la energía que se crea o que queda como energía de enlace químico no interesa aquí. En un análisis espectrométrico no es deseable que se produzcan reacciones químicas a menos que la reacción genere luz, fenómeno denominado **quimioluminiscencia**. La quimioluminiscencia establece las bases para unos pocos análisis estándar, por ejemplo para NO gas.

Otras reacciones que producen energía son las caídas nucleares de alta energía, con emisiones γ . Aquí están las bases para el **análisis de activación neutrónica**, un método de análisis de trazas. Los neutrones se mueven lentamente reaccionando con el núcleo atómico, dando lugar a estados excitados del núcleo que caen con emisión de longitudes de onda características de radiación γ . Las energías de la radiación identifican la especie atómica, y la intensidad es proporcional a la concentración —como para cualquier otro método espectrométrico—.

Nombres en espectrometría

Los nombres para las distintas técnicas espectrométricas vienen dados por el tipo de energía que incide sobre el átomo y el tipo o tipos que salen. Estos nombres generales se exponen en la Tabla 8.3. Las dos primeras anotaciones son *emisión* y *absorción*. La tercera, luminiscencia, se puede dividir en dos tipos: **fluorescencia** y **fosforescencia**. Éstos dos se

Fluorescencia y fosforescencia: Secciones 8.9 y 8E.

Tabla 8.3. Transformaciones de la energía de la luz que interacciona con los átomos		
Energía incidente	Energía emergente	Espectrometría
Calor	Luz	Emisión (incandescencia)
Luz	Calor	Absorción
Luz	Luz	Luminiscencia (fosforescencia, fluorescencia)
Luz	Movimiento de electrones	Espectroscopía fotoelectrónica
Movimiento de electrones	Movimiento de electrones	Sonda
Energía de enlace	Luz	Quimioluminiscencia

pueden distinguir experimentalmente, por su diferente comportamiento de emisión de luz. Una vez que el material es iluminado, la emisión puede persistir durante un tiempo determinado apreciable tras retirar la iluminación. Esta emisión persistente se denomina fosforescencia. Por otro lado, la emisión de fluorescencia, cesa inmediatamente de manera virtual. (Una definición aceptada de «inmediatamente» son aproximadamente 10 ns.) Para uso analítico, la fosforescencia se observa normalmente en el intervalo visible, mientras que la fluorescencia analítica se utiliza en las regiones ultravioleta-visible y rayos X.

Como se observa, no se ha utilizado la palabra *luminiscencia* de la forma que se puede haber oído más a menudo —asociada con una bombilla—. En este caso el término se ha acertado de **termoluminiscencia**. La luz emitida por la bombilla se caracteriza más correctamente con el término incandescencia o **emisión térmica**: calor entrante, luz saliente. Se reserva luminiscencia para referirse a fluorescencia y fosforescencia: luz entrante, luz saliente.

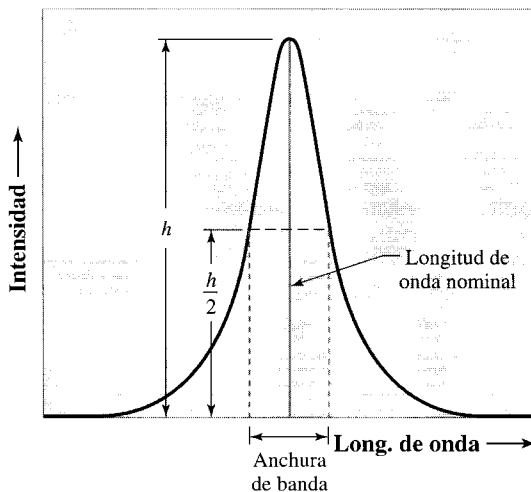
De la siguiente a la última anotación de la Tabla 8.3 es *emisión electrónica*. Esto se denomina *efecto fotoeléctrico* y es la base de varias **espectrometrías electrónicas**, que son más importantes en el análisis de superficies.

Las espectrometrías de superficie se tratan en la Sección 9.14.

8.4. Pureza y resolución del espectro

Hasta este punto del capítulo, las afirmaciones que se han leído indican que se podría ver la interacción de una longitud de onda de luz simple con una muestra. En realidad, cualquiera que sea el método utilizado para producir cualquier longitud de onda específica de luz o para seleccionar una longitud de onda «simple» en un amplio intervalo de longitudes de onda, lo mejor que se puede hacer es aislar un *intervalo* de longitudes de onda. Para todos estos casos, un gráfico de la intensidad *versus* la longitud de onda de la luz se asemejará al de la Figura 8.3.

Una medida cuantitativa del intervalo de longitudes de onda (**pureza espectral**) es un número denominado **anchura de banda espectral**, o **anchura de línea espectral**, o simplemente **anchura de banda** o **de línea**. Tal como se muestra en la figura, la medida cuantitativa utilizada es la anchura de banda a media altura entre la línea base y el



Cómo lo ve el ojo:



◀ FIGURA 8.3
Representación de la definición del ancho de banda espectral.

(a) es una representación de la intensidad frente a la longitud de onda. La longitud de onda nominal está en el máximo de intensidad del espectro con la intensidad decreciendo a ambos lados.

(b) aproximación de lo que el ojo podría ver en la salida de un monocromador proyectado sobre una pantalla.

pico. Ésta se denomina *anchura total a media altura* (atam) o *anchura total a la mitad del máximo* (atmm). Casualmente la banda no se desarrolla en forma de campana gaussiana. La forma de la línea es parecida a una forma denominada *lorentziana*. Comparada con una gaussiana es más estrecha en el medio y se extiende sobre un intervalo más ancho en regiones de intensidad más baja.

En resumen, se entenderá que aunque digamos que hay una longitud de onda simple —más correctamente, luz **monocromática** (del griego *un color*)—, la verdad es que toda luz monocromática tiene un ancho de banda espectral finito. Por el momento, permítasenos continuar con estas afirmaciones:

1. La luz con ancho de banda estrecho puede producirse a una longitud de onda fija.
2. La intensidad de la luz puede medirse sobre un ancho de banda estrecho.
3. Se puede cambiar la longitud de onda continuamente y sin problemas sobre algunos intervalos de longitudes de onda. Este último método se denomina, simplemente, **barrido** de la longitud de onda.

Algunas fuentes de radiación se pueden **ajustar** para diferentes longitudes de onda. Se incluyen en este grupo numerosas fuentes de radiofrecuencia y algunos láseres. Sin embargo, la complejidad del proceso de ajuste del láser, lo ha excluido hasta la fecha de su aplicación a la espectrometría corriente (excepto para la espectrometría Raman), mientras las espectrometrías de radiofrecuencia utilizan generalmente frecuencias fijas. La Tabla 8.4 contiene una lista de fuentes monocromáticas sobre todo el intervalo espectral.

Tabla 8.4. Generación de radiación monocromática (y regiones de uso)

Selección de longitud de onda monocromática a partir de radiación de banda ancha.

1. Dispersivos
 - a. Redes
 - Grabada (UV-VIS-IR)
 - Holográfica (UV-VIS-IR)
 - De volumen holográfico (VIS-IR cercano)
 - Cristal (Rayos-X)
 - Optoacústica (principalmente en IR)
 - b. Prismas
 2. No dispersivos
 - a. Interferómetros
 - De barrido (múltiples diseños)
 - De longitud de onda fija (dieléctrico, volumen holográfico)
 - b. Filtros de colorante
- Líneas de emisión estrechas
1. Coherente
 - a. Láseres (interferómetros para seleccionar longitud de onda)
 - Gas
 - Semiconductor
 - Estado sólido como Cr, Nd, Ti
 - Colorante
 - b. Fuentes de radiofrecuencia (intervalo kHz-200 GHz)
 - c. Haces de partículas de alta energía (radiación sincrotrón)
 2. No coherente
 - a. Líneas de emisión atómicas/iónicas (UV-VIS, IR cercano)
 - b. Líneas de emisión de rayos X (Rayos-X)
 - c. Emisiones de rayos- γ (nuclear)

^a Abreviaturas: UV = ultravioleta; ZR = infrarrojo

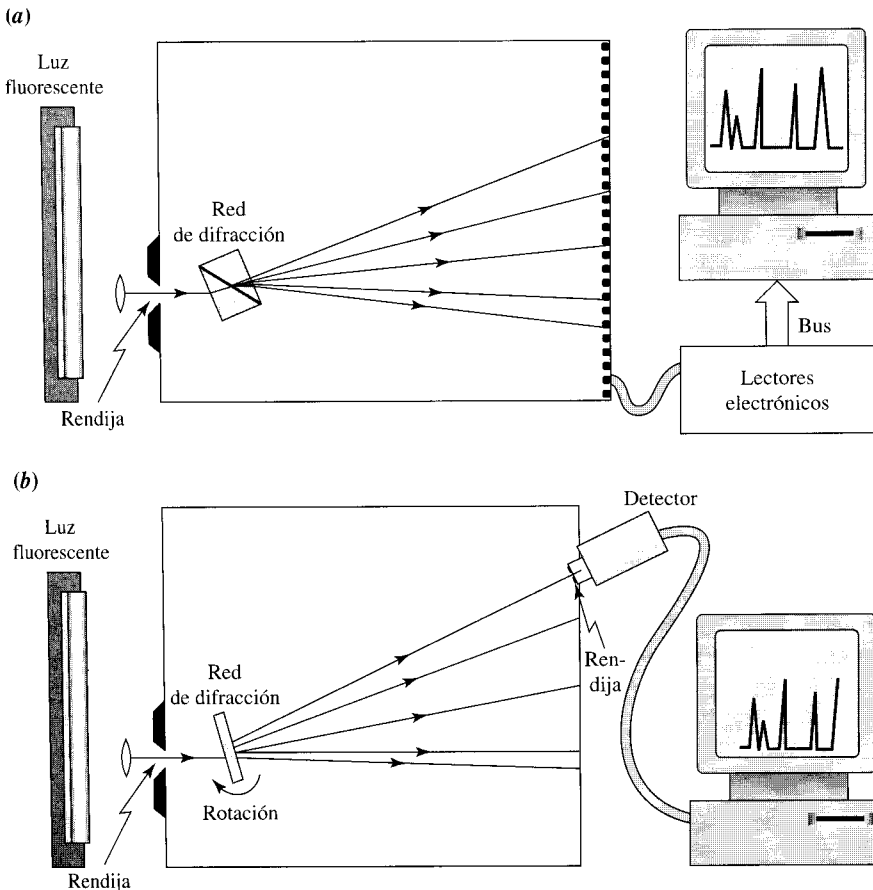
¹ Los interferómetros y láseres se asemejan en que ambos seleccionan radiación de un ancho de banda estrecho. En los láseres, la fuente de radiación está dentro del interferómetro.

Monocromadores y policromadores

La amplia variedad de usos de la espectrometría en los análisis químicos significa que se construye una gran variedad de espectrómetros para conseguir los datos. En esta sección se analizarán brevemente los espectrómetros que se utilizan en el intervalo **óptico**. *Óptico* es un término un tanto impreciso empleado para describir la luz que se puede controlar mediante lentes y prismas y que, generalmente, se considera para incluir la luz desde el infrarrojo lejano hasta el ultravioleta en vacío.

Los espectrómetros se pueden separar en dos grupos generales: **dispersivos** y **no dispersivos**. Los espectrómetros *dispersivos* cuentan con la separación de los colores de la luz en un intervalo de ángulos. Existe un gran número de diseños diferentes; uno de ellos se muestra en la Figura 8.4 e indica únicamente sus partes básicas. Es sumamente importante tener una **rendija** —o una construcción que tenga el mismo propósito— para seleccionar un estrecho ángulo de colores dispersos, es decir, elegir un estrecho intervalo de colores. La sección de un instrumento de barrido dispersivo que seleccione una única longitud de onda a un tiempo es el **monocromador**. (Obsérvese que se denomina *monocromador*, no *-metro*. Pasa una longitud de onda simple, no la mide.) Una ventaja de un elemento óptico dispersivo es que se pueden distribuir varios detectores a lo largo de la propagación de la luz dispersada. Se puede fabricar un **policromador** dispersivo. Tal como se representa en la Figura 8.4a, se detecta simultáneamente la luz a un número de longitudes de onda y, posteriormente, se pueden leer estas intensidades y construir el espectro en la computadora.

Las diferencias entre monocromadores e interferómetros se tratan, además, en la Sección 8a.



◀ FIGURA 8.4
Representación de las estructuras generales de los espectrómetros dispersivos.

La luz entra a través de la rendija y se dispersa. (a) El policromador produce un espectro (intensidad frente a longitud de onda) muestreando la salida con una serie de detectores. La anchura de banda del espectro es función de la anchura de la rendija, las cualidades de la red de difracción, el número de elementos individuales del transductor y la geometría de cada uno de los componentes. (b) Un instrumento basado en un monocromador debe barrer el espectro. Para esto, la red de difracción se rota. La pureza espectral depende de las anchuras de las rendijas y de las cualidades de la red de difracción y su geometría. La dispersión de la luz se ve con más detalle en la Sección 8A.

Los interferómetros incluyen interferómetros Fabry-Perot (Figura 8A.9), filtros de interferencia (Figura 8A.10) e interferómetros de Michelson (Figura 17.27). Otro nombre para éstos es **etalones**.

Las interferencias de onda se tratan con más detalle en la Sección 8A.

Los espectrómetros *no dispersivos* separan la luz permitiendo la propagación de un color específico, mientras que no se permite el paso de otros colores en la misma dirección. Se puede utilizar un simple filtro coloreado, que cuenta con tintes químicos para bloquear los colores no deseados. Un segundo tipo de filtros, **interferómetro**, no absorbe la luz no deseada sino que limita el color mediante una interferencia destructiva de los colores no deseados y una interferencia constructiva de la longitud de onda deseada. Obsérvese que la palabra *interferómetro* termina en *-metro*. La base para esta palabra es histórica; los interferómetros se utilizaban originariamente para medir propiedades de la luz.

Tanto los monocromadores como interferómetros funcionan debido a la interferencia constructiva y destructiva de las ondas de luz. Únicamente los filtros basados en la absorción de la luz por tintes no funcionan de esta forma.

Anchura de banda y anchura de la rendija espectral

Consideremos el funcionamiento de un monocromador. Como mínimo, el monocromador necesita un elemento dispersante y dos rendijas. Las rendijas de un monocromador son exactamente como cuchillas metálicas. La **anchura de la rendija** va de diez a unos cientos de micrómetros. Tal como se dibuja en la Figura 8.4b, la luz entra a través de la **rendija de entrada**, y se dispersa. Los diferentes colores de la luz se propagan en ángulos diferentes y únicamente un estrecho intervalo de estos ángulos puede pasar a través de la **rendija de salida**. Viendo la figura debe quedar claro que el ancho de banda espectral depende de la anchura de la rendija de salida. Pero la anchura de la banda también depende de la amplitud de propagación de los colores y de la distancia del elemento dispersante a la rendija de salida. Para una anchura de rendija *fija*, la anchura de banda que pasa por la rendija depende de la longitud de onda de la luz. Así, una medida de la anchura de la rendija será similar a «0,5 a 350 nm». A mayor anchura de rendija, mayor es la intensidad espectral que pasa a través de ella. Sin embargo, el ancho de banda espectral es mayor. Este equilibrio siempre existe. Cuando se incrementa la intensidad espectral utilizando una rendija más ancha, la pureza espectral se reduce.

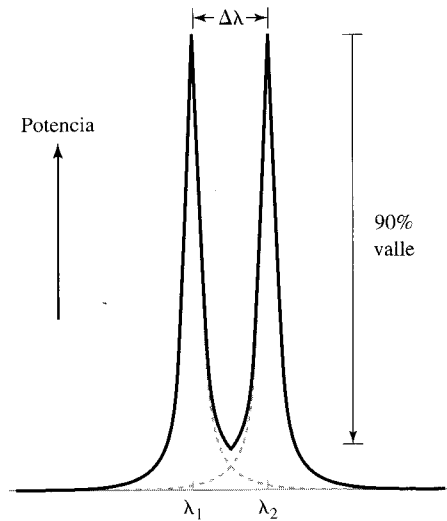
Para policromadores con detectores multicanales, la anchura de los detectores (fracción de extensión total) también resulta un factor determinante para la pureza espectral. Por otro lado, la pureza espectral de un filtro interferométrico no depende de la rendija, sino del número de veces que la luz se refleja antes de pasar a través de ella. La pureza espectral se caracteriza por un número denominado **finura**.

Resolución

No hablaremos de ancho de banda cuando dos colores diferentes sean «diferentes». Se utilizan dos términos para definir esta diferencia. Uno se refiere al instrumento: es el término **poder de resolución**. El otro se refiere al espectro: **resolución** del espectro. Éstos se definen fácilmente haciendo referencia a la Figura 8.5. La resolución de un espectro $\Delta\lambda$ es simplemente la diferencia de anchura de banda entre dos picos del espectro adyacentes (o líneas). El poder de resolución del instrumento es:

$$\text{poder de resolución} = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \quad (8-6)$$

donde λ_1 o λ_2 pueden estar en el numerador. Un instrumento que separe mejor las líneas tiene un poder de resolución mayor, pero un espectro mejor resuelto tiene un valor menor para su resolución. Sin embargo, la caída entre dos picos puede ser cualquier valor; así



◀ FIGURA 8.5
Representación de la resolución.

La resolución se refiere a la separación de las longitudes de onda en el espectro. El poder de resolución se refiere a la capacidad de un instrumento para separar longitudes de onda.

que la idea de que dos longitudes de onda están «resueltas» puede tener varios significados dependiendo de la profundidad del valle. Esta información se debe incluir. Por supuesto, la resolución de un espectro puede darse como *resolución xxx para un valle del 90%*. Esto significa que los picos se consideran resueltos cuando aparecen como en la Figura 8.5; la profundidad del valle es el 90% de la altura de picos *iguales*.

8.5. Medidas del espectro

En espectrometría, la medida del espectro depende íntimamente de las propiedades espectrales de la muestra y del instrumento utilizado para realizar la medida. Con respecto al instrumento, se dirige tanta luz de una fuente estable como sea posible al monocromador para proceder al barrido. La luz de longitud de onda variable pasa a través de la muestra y a través de la rendija de salida sobre el transductor. El espectro que resulta es un gráfico de intensidad detectada *versus* el tiempo (calibrado como longitud de onda) como el de la Figura 8.6.

En algunos casos, es útil considerar que la capacidad para absorber la luz está presente en la molécula incluso cuando no se está midiendo la absorción. La gráfica de la absorbancia incipiente frente la longitud de onda se denomina **espectro de absorción** de la molécula.

Vamos a describir como varía el espectro con diferentes anchuras de rendija. Las anchuras de la rendija del espectro están indicadas como la distancia entre dos líneas paralelas en el eje de la longitud de onda, tal como se muestra en la Figura 8.6. Estas líneas limitan el intervalo de longitudes de onda que pasan a través del monocromador para cualquier posición de la **longitud de onda nominal**. La longitud de onda nominal es el centro del intervalo de la longitud de onda. Solamente el transductor responde a la intensidad de luz, sin discriminación de longitud de onda. Como resultado, el transductor saca un promedio de la intensidad que llega, para todas las longitudes de onda que pasan por el monocromador. En consecuencia, como el monocromador barre las longitudes de onda, cuando la rendija de salida alcanza el intervalo del espectro característico, la intensidad *media* llega al transductor mejorada. Esto se asemeja a un aumento del nivel de intensidad antes de que la longitud de onda nominal del monocromador alcan-

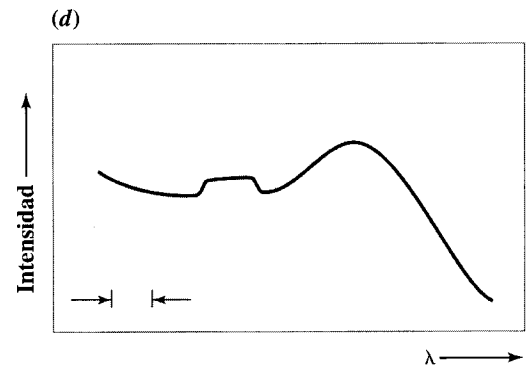
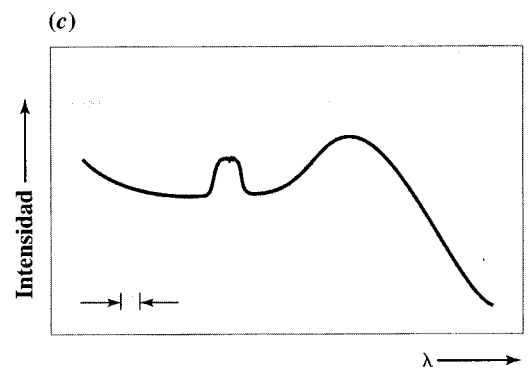
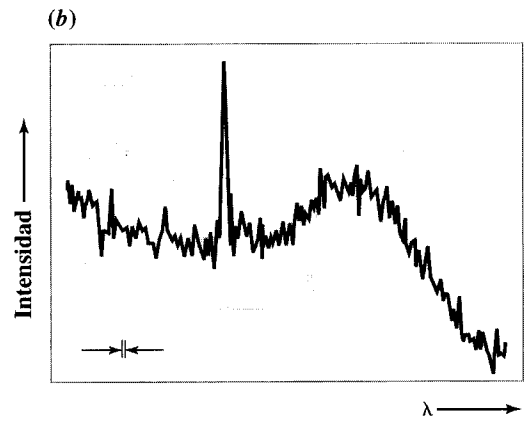
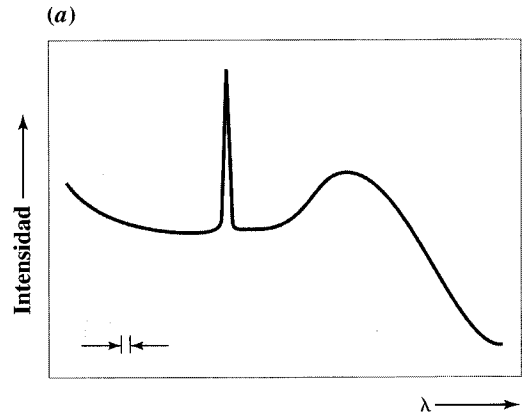
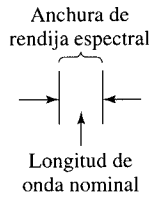


FIGURA 8.6 ► Representación del efecto de la anchura de rendija (o resolución espectral) sobre un espectro.

ce la base del pico alto. Cuando la longitud de onda nominal del pico más alto alcanza el centro de la rendija, el punto más alto (intensidad más alta) del pico parece reducirse, ya que el transductor promedia la intensidad del pico con los puntos de potencia más bajos de cualquier lado.

Si se optimiza la anchura de la rendija, el espectro se asemejará de manera muy próxima al hábito de la absorción tal como se muestra en la Figura 8.6a. Si se utiliza un ancho de rendija más estrecho, la caída de la intensidad llega al transductor, lo que significa que la contribución del ruido impide ver claramente el espectro característico. En este caso, el espectro se asemejará al que se muestra en la Figura 8.6b.

Cuando la anchura de la rendija se incrementa con respecto al valor óptimo, el espectro se vuelve más ancho, y el pico más alto *aparece* más ancho y más bajo, tal como se muestra en la Figura 8.6c y 8.6d. Obsérvese que el pico ancho aparentemente no cambia durante toda la variación de la anchura de la rendija. La diferencia en el efecto de la anchura de la rendija sobre las formas anchas y agudas se muestra como una regla general. El efecto depende del porcentaje del ancho de línea de cada forma espectral, comparado con el ancho de la rendija espectral. Como regla general, para medir las formas del espectro de manera precisa,

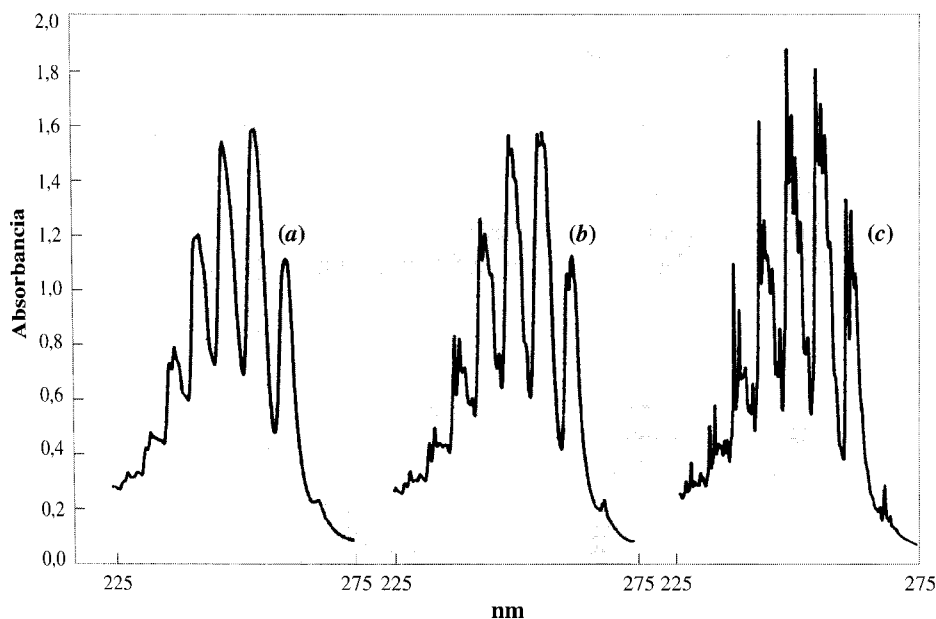
$$\text{anchura de banda espectral} < (1/10) \text{ anchura de línea característica} \quad (8-7)$$

Aunque se pierda intensidad con una rendija más estrecha, la resolución de la longitud de onda superior permite trazar mejor las formas del espectro. Se muestra un ejemplo en la Figura 8.7, donde la estructura del espectro del benceno vapor se hace más aguda cuando la rendija espectral se hace más estrecha.

Para cuantificar (opuesto a identificar o calibrar la longitud de onda), la limitación de la anchura de banda del espectro se puede mitigar algo, de manera que

$$\text{ancho de banda espectral} \leq (1/5) \text{ ancho espectral característico} \quad (8-8)$$

La resolución cambia para un mayor nivel S/R con una rendija más ancha.



◀ FIGURA 8.7
Representación del
cambio de la apariencia
de un espectro con
cambios en la longitud de
banda espectral.

Los espectros son obtenidos a partir de una muestra líquida saturada con vapor de benceno en la región $UV = 225-275$ nm. La anchura de rendija es fija y la anchura de banda varía en el intervalo de longitudes de onda. Los intervalos de anchura de banda para los espectros son: (a) de 0,5 a 1 nm, (b) de 0,25 a 0,5 nm y (c) de 0,05 a 0,1 nm [Referencia: Reimpresión de West, M.A., Kemp, D. R. 1976. *Intl. lab.* May/June, 28. Copyright 1976 by International Scientific Communications, Inc.]

En resumen: Se requieren tres componentes fundamentales en los instrumentos espectrométricos para llevar a cabo medidas en cualquier región del espectro electromagnético.

- Una *fente* de radiación electromagnética.
- Un componente que aisle una *única longitud de onda* de la radiación electromagnética. Esta longitud de onda única puede surgir de la fuente o de la emisión del propio analito.
- Un *transductor* para medir los cambios en la cantidad de radiación electromagnética incidente.

La idea de una «longitud de onda única» se estudiará en la Sección 8.4.

Con estos tres componentes se puede llevar a cabo cualquiera de las tres técnicas espectrométricas —emisión, absorción y luminiscencia—. A continuación, tras un inciso para introducir la dispersión de la luz, se describirán de forma secuencial cada uno de los tres tipos de espectrometría.

8.6. Dispersión de la luz

La muestra no sólo puede absorber luz, también puede dispersarla. Aquí sólo se trata la dispersión no resonante, que implica un fotón amortiguado por un dispersor que emite de nuevo otro fotón sin transición de excitación entre niveles electrónicos de energía. Si el fotón emitido tiene la misma longitud de onda que el fotón incidente, se dice que la dispersión es **elástica**. Cuando el fotón emitido tiene una longitud de onda diferente, el proceso se denomina **dispersión inelástica**. Para obtener información a partir de la dispersión elástica hay que evaluar la forma de las líneas, la cantidad de luz frente al ángulo de dispersión, los cambios de polarización y los cambios en la dispersión con la concentración. Los datos de dispersión inelástica pueden dar información química útil a partir de los cambios en la longitud de onda y la polarización.

La dispersión de la luz es un tema complejo. Muchas propiedades diferentes de la luz (longitud de onda, polarización, coherencia) y de los materiales (orden del sólido, desorden del sólido, líquido, gas, índices de refracción, tamaños de partícula), así como las diferentes geometrías, interactúan para producir diferentes resultados fenomenológicos. Aquí se indica un breve esquema de dispersión. De todas las formas posibles, solamente la dispersión Raman —una dispersión inelástica de la luz— es común en el terreno de los análisis químicos. En menos ocasiones, se utilizan determinados tipos de dispersión de soluciones para caracterizar algunas propiedades de polímeros, y los aerosoles se caracterizan en el aire por los procesos de dispersión que producen.

Más sobre espectrometría Raman en el Capítulo 10.

Geometría de la dispersión

Los nombres de las geometrías de dispersión de la luz vienen de la espectrometría y de la dispersión de partículas. Véase la Figura 8.8. El ángulo de dispersión se marca a par-

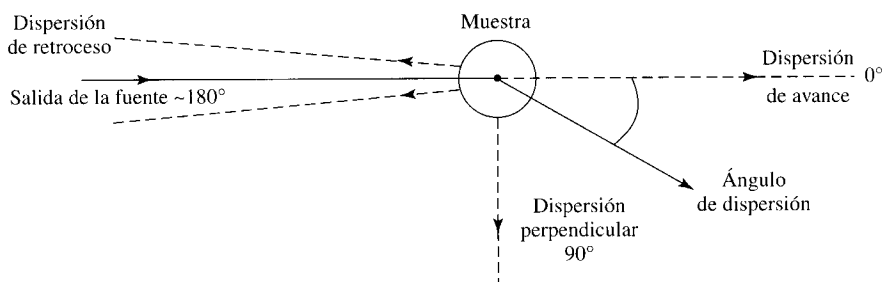


FIGURA 8.8 ► Geometría y nomenclatura de la luz dispersa.

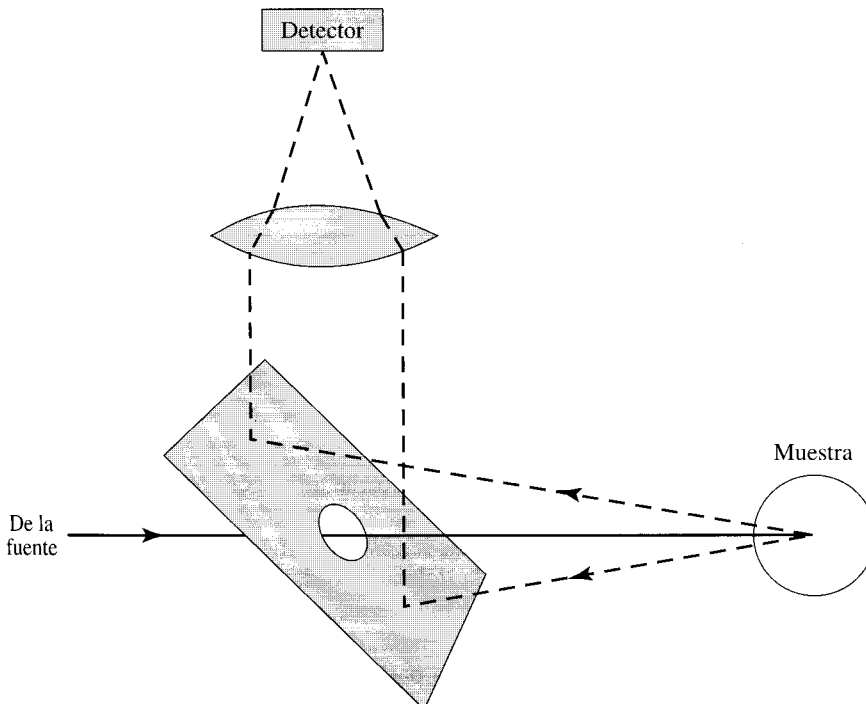
tir del rayo que entra a 0° , que se encuentra en la misma dirección y se denomina **dispersión de avance**. El detector está situado en el eje de la radiación que entra o a muy pocos grados, de forma que se recoge la luz dispersada deseada, y detecta el resto de la radiación original. La espectrometría Raman se realiza normalmente con el detector colocado a 90° —perpendicular a la radiación que entra—. Ocasionalmente se utiliza la geometría de **dispersión de retroceso**. Antes que colocar el detector a 180° , donde se bloquearía la luz entrante, se puede colocar un espejo para recoger la luz a detectar, como se muestra en la Figura 8.9. Se verá que el término dispersión de retroceso se utiliza para aludir a esta geometría en general, como, por ejemplo, cuando se mide de esta forma la fluorescencia.

Orígenes de la dispersión elástica y comportamiento

La dispersión de la luz origina diferencias en el índice de refracción n_r , en distintos puntos del espacio. En los gases, cada átomo o molécula se puede considerar como un volumen simple de dispersión de luz, y la luz de cada uno se combina en la dispersión total del gas. El volumen de dispersión no se define fácilmente en fases condensadas. La teoría utilizada considera las moléculas como esferas, con los electrones embebidos en una matriz continua. Cada esfera es un centro de dispersión con **polarizabilidad** α , pero las interacciones del campo eléctrico de la luz están influidas por los alrededores de la matriz. Como se sabe, la polarizabilidad es una medida de la capacidad de los electrones de los átomos para seguir el campo eléctrico de la luz incidente.

El índice de refracción depende de la polarizabilidad de las esferas y de su densidad. La teoría del índice de refracción une las propiedades atómicas de polarizabilidad con las propiedades macroscópicas de los cambios en la velocidad de la luz en el medio.

Estas esferas polarizables, idealizadas, pueden ser átomos o moléculas. Sin embargo, considerando que el intervalo de moléculas puede ser de diatómicas a macromoléculas, este concepto proporciona un enorme intervalo de tamaños. Aquí surgen otros dos



◀ FIGURA 8.9
Geometría de la dispersión por retroceso.

La luz incidente atraviesa un agujero presente en el espejo, la luz emitida por la muestra se refleja en el espejo y es recogida en el detector. Las flechas muestran la dirección de propagación de la luz.

Los efectos de la reflexión y la refracción se estudian en las Secciones 8.13 y 8.14.

factores en la dispersión de la luz (además de la concentración y la polarizabilidad): el orden de las partículas y sus tamaños relativos con respecto a la longitud de onda de la luz. En efecto, están íntimamente relacionados, ya que el nivel de ordenación depende fundamentalmente de la relación entre la longitud de onda y el tamaño de las moléculas. Si un rayo láser pasa a través de un cristal muy ordenado, las moléculas, que forman una matriz regular, causan una interferencia destructiva perpendicular al haz. Como resultado, la luz se refleja y se refracta en las superficies en las que el rayo entra y sale del cristal. De manera similar, las moléculas pequeñas en los líquidos puros o disoluciones tienden a ser dispersantes pobres, ya que, comparando la longitud de onda de la luz, las moléculas forman una matriz moderadamente regular. ¿Cómo puede ser esto en un líquido? Es una pregunta razonable y se puede responder como sigue. Considérense átomos —aproximadamente de 0,2 nm de diámetro— y luz visible, de longitud de onda aproximada de 400 nm. Hay cerca de 2000 átomos por longitud de onda todo el tiempo; las variaciones en este número con el tiempo son sumamente pequeñas. Como resultado, las interferencias provocadas por los focos de dispersión se asemejan a las producidas en un cristal perfecto.

Esto nos lleva a que la dispersión elástica más fuerte se origina:

1. Cuando las fluctuaciones en la densidad hacen que la luz no interfiera destructivamente.
2. Cuando las moléculas con un índice de difracción diferente al de la matriz no son pequeñas comparadas con la longitud de onda de la luz.

En esencia, ambas son manifestaciones de la misma propiedad: cuando las diferencias en el índice de refracción tienen lugar a distancias del orden de la longitud de la luz. En el caso 1, las moléculas (o partículas o sólidos o polímeros) son suficientemente grandes como para que el número medio de moléculas por longitud de onda varíe con el tiempo de dispersión. Esto significa que algunos volúmenes tienen una densidad mayor (donde hay mayor número de moléculas dispersantes) y otros tienen una densidad menor. Como resultado, se produce una interferencia destructiva no mayor que la esperada de una matriz regular. La luz se dispersa lejos de la dirección del haz de luz incidente. Este fenómeno se denomina dispersión **Rayleigh**, y la intensidad de la dispersión depende de la polarizabilidad de la luz.

$$I_{\text{Rayleigh}} \propto \frac{\alpha^2}{\lambda^4}$$

En la zona visible, la luz azul se dispersa más que la luz roja; éste es el efecto que hace que el cielo sea azul (90° y mayor) y las puestas de sol naranjas (próximo a la dirección de 0°). Para que esto ocurra la dispersión de las partículas debe ser mucho más pequeña que la dispersión Rayleigh de la luz. Es decir,

$$d < 0,1 \lambda$$

donde d es la menor dimensión del dispersor. Cuando las dimensiones del dispersor son mayores de aproximadamente $0,1 \lambda$, se puede ver que se utiliza el nombre de dispersión **Rayleigh-Debye**.

Cuando $\lambda > d$, y el índice de refracción de la matriz es menor que el de las partículas, casi toda la dispersión se produce hacia delante. Se denomina dispersión **Mie**. La dispersión Mie depende del ángulo, incluso más que la dispersión Rayleigh. La gran dependencia angular se produce porque la dispersión de una parte de la partícula mayor (o molécula) interfiere con la dispersión de otra parte de la molécula. Los detalles están fuera del nivel que se desea tratar en este tema.

Dispersión inelástica

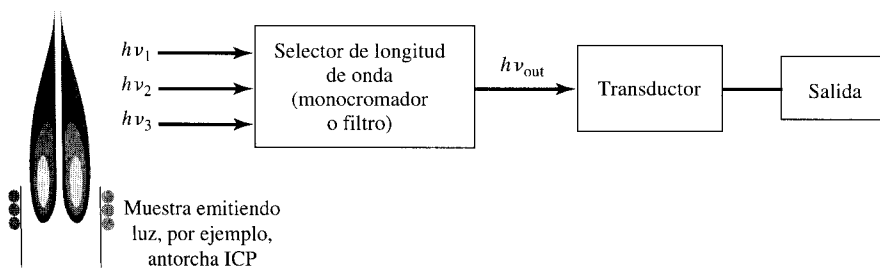
A diferencia de la dispersión elástica, la dispersión inelástica produce desplazamientos de la luz a frecuencias mayores, y la cantidad de luz dispersa depende poco del ángulo de dispersión. Se conocen dos tipos de dispersión elástica de la luz: dispersión **Brillouin** y dispersión **Raman**. La dispersión Brillouin se produce por fluctuaciones en la densidad de los sólidos a frecuencias acústicas. Debido a las dificultades experimentales y a la información ofrecida, no se utiliza normalmente. La dispersión Raman ha ganado en popularidad debido al abaratamiento de las fuentes de láser y espectrómetros. El origen de la dispersión Raman se encuentra en la polarizabilidad de los enlaces debido a vibraciones moleculares. Los electrones resultan más fáciles/más difíciles de polarizar a medida que los enlaces moleculares del dispersor son cortos/largos. La frecuencia a la que ocurren estas vibraciones muestra cómo la luz se dispersa a frecuencias *diferentes* a la dispersión Rayleigh. En el Capítulo 10 se describe la dispersión Raman y algunos de sus usos en análisis químicos.

8.7. Espectrometría de emisión

En la Figura 8.10 se muestra un esquema de un instrumento de espectrometría de emisión. La emisión de la muestra proporciona luz por sí misma, y la intensidad de la luz emitida es función de la concentración del analito. La ilustración muestra la luz que se origina en un plasma acoplado inductivamente, pero se pueden utilizar muchos otros tipos de fuentes luminosas.

Como con cualquier otro método espectrométrico cuantitativo, se requiere luz monocromática. Aquí, el monocromador se encuentra entre la muestra emisora y el transductor.

La mayoría de las fuentes de emisión emiten la luz isotrópicamente, es decir, de la misma manera en todas las direcciones. Midiendo la luz emitida se pueden imaginar unos alrededores en forma de casquete esférico y la fuente de luz en el centro de la esfera. La luz emitida isotrópicamente ilumina el casquete esférico de forma homogénea sobre toda la superficie. Sin embargo, en la mayoría de los experimentos, la luz emitida se recoge en sólo alguna fracción de la superficie total de este casquete esférico —una cantidad que puede ser cuantificada como ángulo sólido—. Se utilizan los radianes como medida de los ángulos en dos dimensiones; el ángulo sólido se mide en esterorradianes, tal como se muestra en la Figura 8.11. En una lectura posterior, se encontrarán varios términos que se refieren a la cantidad de luz emitida y a la fracción de luz recogida de varias fuentes emisoras. Si la medida se refiere a todas las frecuencias de radiación, entonces ... radian ... aparece, como «radiante». Si sólo se consideran las longitudes de onda visibles, se encontrará ... lumin ... utilizado como «luminiscencia». Los términos más comunes para las medidas de la luz emitida se recogen en la Tabla 8.5.



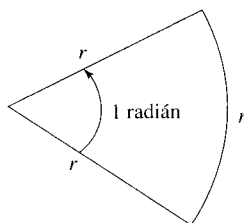
◀ FIGURA 8.10
Equipo experimental diseñado para medir emisión de luz a una longitud de onda simple en cualquier intervalo de longitud de onda.

Las flechas indican la dirección de propagación de la luz.

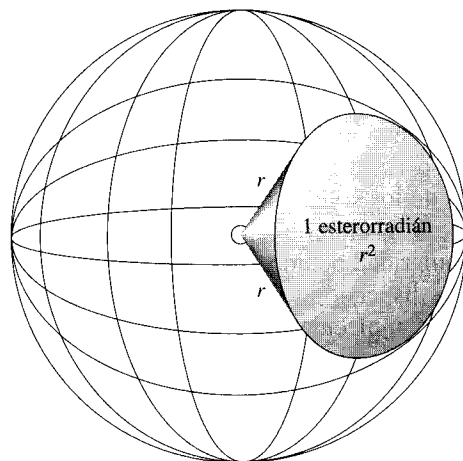
FIGURA 8.11 ►

Definiciones de radián y esterorradián.

La figura de la izquierda representa la definición de un ángulo plano igual a un radián, donde el radio y la longitud del arco son r . La circunferencia total es $2\pi = 6,283$ radianes. En la derecha, la figura describe la definición de un esterorradián. El área de la superficie envuelve r^2 de una esfera de radio r . Cualquier área que envuelva la misma fracción de superficie, de forma arbitraria, también se entiende como esterorradián. El área total de la superficie es $4\pi = 12,566$ esterorradianes.



Circunferencia = $2\pi r$



Área total de la superficie = $4\pi r^2$

Tabla 8.5. Términos utilizados en luminiscencia y en emisión

Cantidad	Símbolo	Ecuación que lo define	En palabras	Unidades S.I.
Área	A			m^2
Ángulo sólido	Ω			esterorradián (sr)
Energía luminosa o radiante	Q			julios
Poder luminoso o radiante	Φ, P	$\Phi = \frac{\delta Q}{\delta t}$	Energía total que sale en todas direcciones	watios
Intensidad luminosa o radiante	I	$I = \frac{\delta \Phi}{\delta \Omega}$	Potencia por unidad de ángulo sólido de una fuente isotrópica	watios sr^{-1}
Iluminancia o Irradancia	I, E	$E = \frac{\delta \Phi}{\delta A}$	Potencia por unidad de área	watios m^{-2} *

* 1 watio sr^{-1} produce $1 W m^{-2}$ en 1 m.

Los instrumentos de emisión son comúnmente utilizados en espectrometría atómica así como en algunos ensayos de quimioluminiscencia. Por consiguiente, se darán más detalles de espectrometría de emisión a partir del Capítulo 9.

8.8. Espectrometría de absorción

La espectrometría de absorción implica la medida de la fracción de luz de una longitud de onda dada que pasa a través de una muestra. La geometría del equipo se representa en la Figura 8.12. La muestra (como solución coloreada) no emite luz por sí misma, por lo que se debe incluir una fuente de radiación.

La mayoría de las fuentes producen luz con longitudes de onda no deseadas además de la deseada. (La excepción de esta característica general está en las fuentes de radiofrecuencia y los láseres.) El paso de la luz a través de un monocromador o un filtro selecciona la longitud de onda para el análisis. La figura muestra el monocromador entre la fuente y la muestra. Sin embargo, en otros diseños se colocan policromadores en el lado opuesto de la muestra, entre la muestra y el transductor, y en algunos instrumentos se sitúa ahí el monocromador.

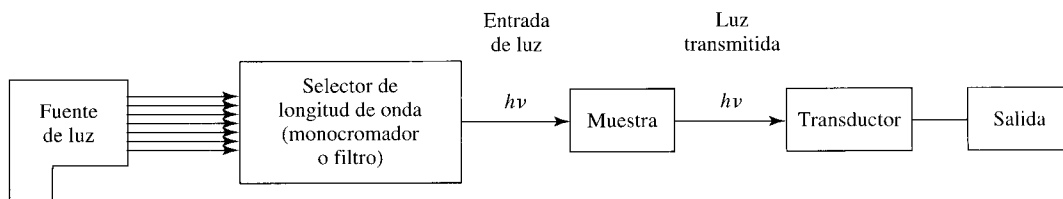


FIGURA 8.12 ▲
Diseño de un equipo experimental para medir absorción o transmitancia a una única longitud de onda.

Para los análisis, se hacen dos medidas de la cantidad de luz absorbida. En la primera se mide la cantidad de luz (a la longitud de onda elegida) que llega al transductor, cuando se coloca un blanco. Se denomina intensidad P_0 del blanco, es cuando la concentración del material analizado es cero.

La medida final se obtiene comparando la medida de las muestras o los patrones de calibración con la medida del blanco. Llamamos P a la intensidad que se mide con las muestras o con el estándar. La comparación que siempre se hace implica la relación P/P_0 , con ambas intensidades medidas en las mismas condiciones del instrumento —longitud de onda, geometría, etcétera.

Se utilizan tres términos diferentes para expresar esta relación. El primero es simplemente la relación P/P_0 y se denomina **Transmitancia**. El símbolo habitual para la transmitancia es T .

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (8-9)$$

El segundo es el porcentaje de transmitancia:

$$\% T = T \times 100 \quad (8-10)$$

El tercero es el logaritmo negativo de T , que se denomina **Absorbancia** y se abrevia como A . La expresión algebraica para la absorbancia es:

$$A = -\log \frac{P}{P_0} = -\log T \quad (8-11)$$

También se utiliza otro nombre para esta cantidad, **densidad óptica**, pero esta denominación no es muy recomendada. Los términos utilizados en espectrometría de absorción se recogen en la Tabla 8.6.

Tabla 8.6. Términos utilizados en espectrometría de absorción

Nombre de la unidad	Símbolo	Definición
Energía del fotón	E	$E = hv$ (véase la Ecuación 8-3)
Potencia radiante	Φ o P	Cantidad de flujo de energía radiante por segundo (en vatios)
Irradiancia*	I	Flujo de energía por unidad de área por unidad de tiempo
Transmitancia	T	P/P_0 ; relación de la potencia radiante que pasa a través de una muestra P , con la potencia incidente en ella, P_0
Porcentaje de transmitancia	$\% T$	$100 \times T$
Absorbancia	A	$-\log T = -\log (P/P_0) = \log (P_0/P) = \log (I_0/I)$

* También denominada *intensidad* (no muy recomendada).

EJEMPLO 8.5

¿Qué valores de absorbancia corresponden al 100% de T , 10% de T y 1% de T ?

Solución:

100%, 10% y 1% de T corresponden a transmitancias de 1,00, 0,10 y 0,010. A partir de la definición de A ,

$$100\% T \text{ tiene } A = -\log 1 = 0$$

$$10\% T \text{ tiene } A = -\log 0,10 = 1,0$$

$$1\% T \text{ tiene } A = -\log 0,010 = 2,0$$

Absorbancia y concentración

La Absorbancia de una muestra es proporcional a la concentración de la sustancia que absorbe la luz incidente. Experimentalmente, se muestra que:

$$A = a b c \quad (8-12a)$$

En otras palabras, la absorbancia es directamente proporcional a:

- una constante que es una propiedad de la sustancia por sí misma así como de la longitud de onda de medida;
- la longitud de paso óptico a través del cual la luz viaja hacia la muestra;
- la concentración de la sustancia que absorbe la luz. La diferencia entre c utilizada como velocidad de la luz y c como concentración será obvia según el contexto.

La ecuación 8-12 describe la **ley de Lambert-Beer**. Cuando la concentración c se expresa en (moles L^{-1}) y la longitud de paso óptico en cm, entonces la constante a tendrá las unidades ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), en cuyo caso se le da el símbolo ϵ . ϵ se denomina **coeficiente de extinción molar** o **absortividad molar** (término corrientemente preferido). Con las unidades incluidas, vemos:

$$A \text{ (adimensional)} = \epsilon(L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) b(\text{cm}) c(\text{mol L}^{-1}) \quad (8-12b)$$

o simplemente:

$$A = \epsilon b c \quad (8-12b)$$

Es importante señalar que ϵ depende de la medida de la longitud de onda. Así, a menudo se escribe el valor de ϵ como:

$$\epsilon_{\lambda(\text{nm})}, \text{ tal como } \epsilon_{530}$$

para indicar que ϵ se mide a $\lambda = 530 \text{ nm}$.

Si no se indican las unidades, el uso de ϵ implica generalmente unidades molares. Otras unidades que podrían utilizarse para la absortividad son, por ejemplo, $(\mu\text{g L}^{-1})^{-1} \text{ cm}^{-1}$. En este caso, la unidad de la concentración debe expresarse en $(\mu\text{g L}^{-1})$.

EJEMPLO 8.6

Una disolución de níquel $5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$ se coloca en una cubeta con una longitud de paso de 1,000 cm. La absorbancia a 592 nm es 0,446. ¿Cuánto vale ϵ a 592 nm? Si una disolución de níquel de concentración desconocida tiene una absorbancia de 0,125 a la misma λ , ¿cuál es su concentración?

Solución:

Para encontrar ϵ_{592} :

$$\begin{aligned} A &= \epsilon_{592} bc \\ 0,446 &= \epsilon_{592}(1,000 \text{ cm})(5,00 \times 10^{-5} \text{ M}) \\ \epsilon_{592} &= \frac{0,446}{(1,000)(5,00 \times 10^{-5})} \\ &= 8920 \end{aligned}$$

Con el valor de ϵ_{592} conocido, encontrar la concentración desconocida:

$$\begin{aligned} 0,125 &= (8920 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1})(1,000 \text{ cm}) c \\ c &= \frac{0,125}{(8920 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1})(1,000 \text{ cm})} \\ &= 1,40 \times 10^{-5} \text{ M} \end{aligned}$$

Se puede formular una aproximación, ya que la única diferencia entre las medidas es el cambio en la concentración de las muestras medidas. Ya que ϵ_{592} y b permanecen iguales,

$$\epsilon_{592} b = \frac{A_{\text{std}}}{c_{\text{std}}} = \frac{A_{\text{desconocido}}}{c_{\text{desconocido}}}$$

Sustitución de los valores conocidos en la relación encontrada:

$$\frac{0,446}{5,00 \times 10^{-5}} = \frac{0,125}{c_{\text{desconocido}}}$$

o bien, $c_{\text{desconocido}} = 1,40 \times 10^{-5} \text{ M}$ directamente.

Absorbancia concentración y precisión

El error aleatorio asociado con la medida de la intensidad de la luz se denomina **error fotométrico**, y la precisión de una medida depende de este error. Sin embargo, por la relación logarítmica entre T y A , la precisión en la medida de la concentración difiere según el intervalo de absorbancia medible. Recuérdese que la Transmitancia P/P_0 es la magnitud directamente medida. Sin embargo, normalmente, en los análisis se utiliza la Absorbancia ya que su valor es directamente proporcional a la concentración de las especies que absorben la luz. Para ver los cambios en la precisión, vamos a *suponer* que el error relativo en la medida de T es $\pm 0,5\%$ para todos los valores de T entre 0 y 1. Esto es un error relativo de 0,005 para T . Tal como se muestra en la Figura 8.13a, el error relativo en A disminuye de forma continua de mayores a menores valores de A .

A continuación, vamos a ver el error *relativo* en la absorbancia; es la medida de nuestra precisión analítica. En las Figuras 8.13b y 8.13c, se observa que a bajas concentraciones, 90% T ($A = 0,045$), y a concentraciones relativamente altas, $< 2\%$ T ($A > 1,70$), el error relativo es mayor del 5%. Claramente, en estas condiciones la medida es menos precisa que en otros intervalos. El intervalo en el que el error relativo para los resultados es más pequeño se encuentra en valores de absorbancia entre 0,4-0,7 ó 20-60% T . En otras palabras, para alcanzar la mayor precisión en un experimento de absorción, la concentración de la muestra o la longitud del paso óptico a través de la muestra se deberían ajustar, si es posible, a aquella en la que la absorbancia a la salida del instrumento esté en el intervalo de 0,4-0,7. Se llega a esta conclusión teniendo en cuenta únicamente la relación entre la absorbancia y la transmitancia, y teniendo en cuenta fijo el error aleatorio de la transmitancia. En efecto, el error en T no es constante a lo largo de todo el

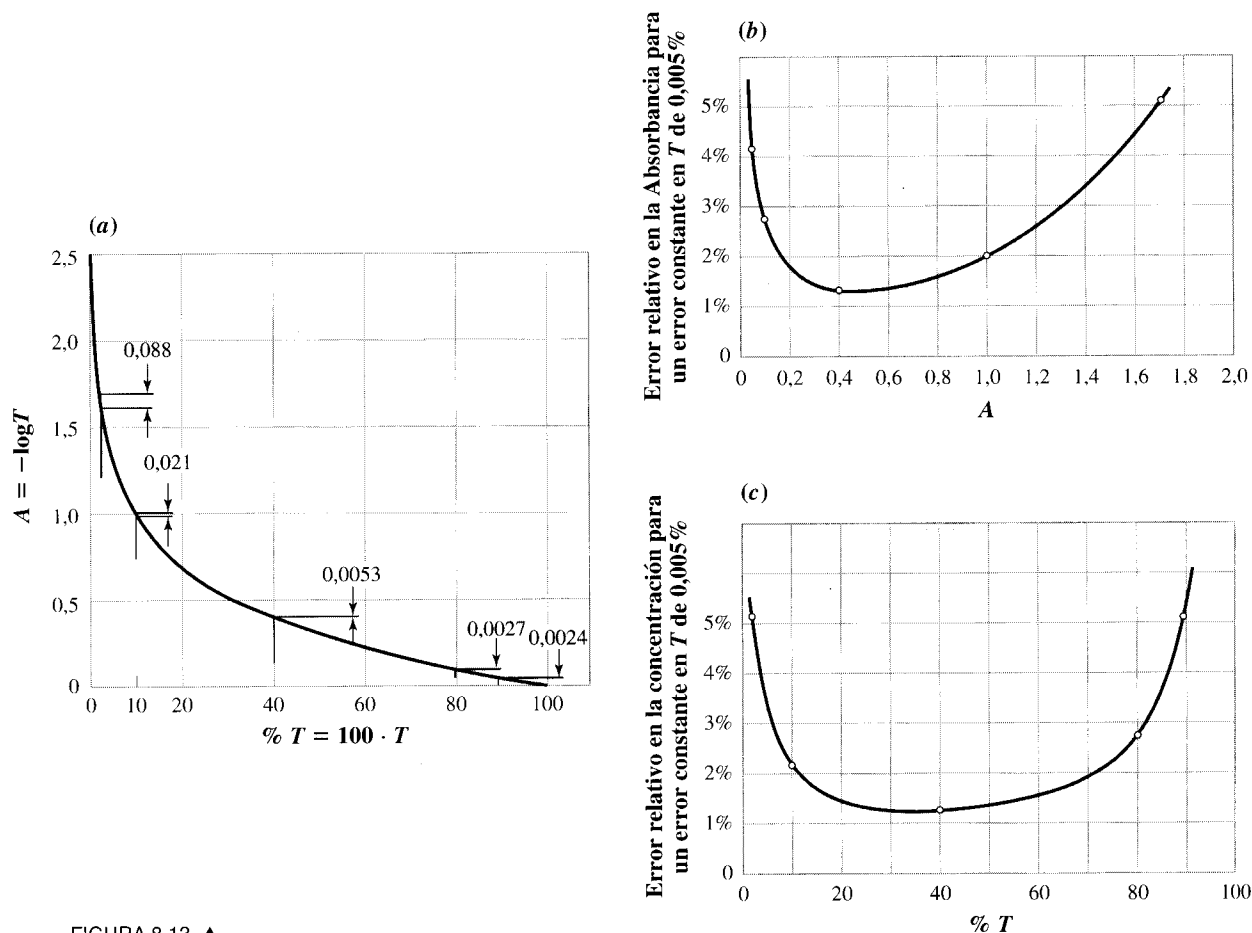


FIGURA 8.13 ▲ **Transmitancia y error en la Absorbancia y en la concentración.**

(a) Gráfico de la relación entre Absorbancia y Transmitancia. La variación de los errores en A resulta de un error constante en T de 1/2 %.

(b) Representación de las variaciones en el error relativo debido solamente a la relación aritmética entre Absorbancia y Transmitancia. Para un error constante en T de 1/2 %, se muestra el error relativo en la Absorbancia. El intervalo de absorbancia entre aproximadamente 0,2 y 0,8 es el intervalo óptimo para minimizar el error en la medida de la Absorbancia.

(c) El error relativo en las concentraciones para un error constante en T de 1/2 %. Se muestra que el intervalo óptimo para determinar las concentraciones, mediante medidas de transmitancia, se encuentra entre 20% y 60% de T.

intervalo, y cada instrumento tiene sus propias características. Sin embargo, se puede aplicar la descripción general que se ha hecho y se debería considerar cuando se vaya a llevar a cabo un análisis.

Resolución espectral y error en la medida de las concentraciones

Se vio en la Sección 8.5 que era necesaria una anchura de banda espectral estrecha para distinguir las características del espectro. Resulta que para hacer una medida espectrométrica precisa de la concentración, la anchura de banda espectral de nuevo debería ser pequeña —menos de 1/5 de las anchuras de las líneas inherentes a las características del espectro, como se indica en la Ecuación 8-8—. La razón de esta regla es la relación no lineal entre la Absorbancia y la Transmitancia. Para ver esta idea de una manera menos abstracta, véase la Figura 8.14. Se supone que la forma de banda natural permanece completamente lineal en % T y que la línea base al 100% de T se alcanza exactamente en el

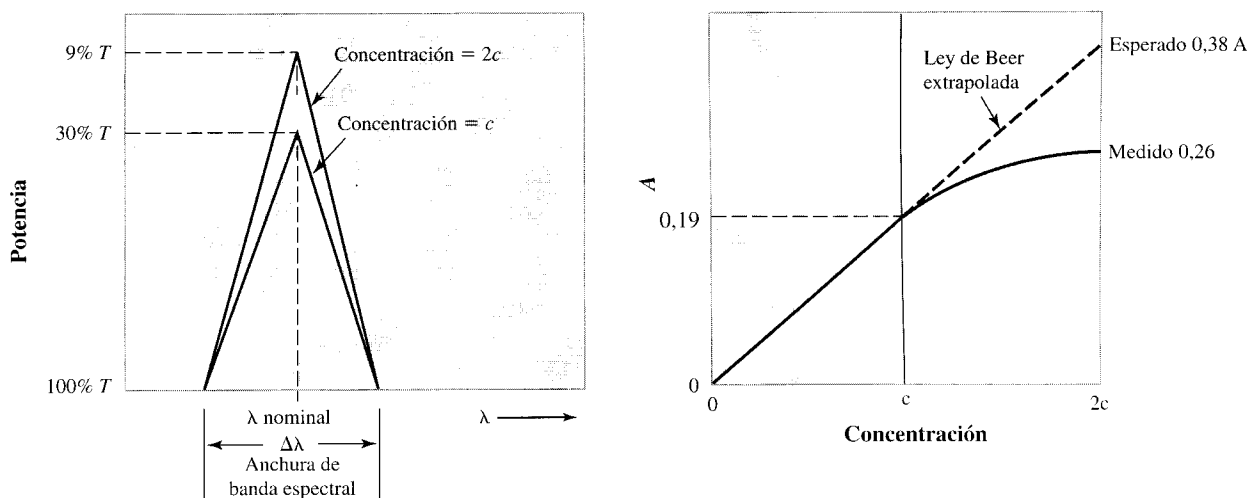


FIGURA 8.14 ▲
Representación de cómo la elección de la anchura de banda de un instrumento puede causar una aparente desviación de la ley de Beer.

(Izquierda) El transductor responde solamente a la potencia media sobre un intervalo de longitudes de onda. Aquí, la respuesta media a dos concentraciones se convierte en absorbancia cuando la anchura de banda espectral cubre una región que cambia rápidamente el % T . (Derecha) Cuando la absorbancia es directamente proporcional a la concentración, la muestra sigue la ley de Beer. Aquí, se produce una desviación de la linealidad en la curva de trabajo.

límite del paso de banda del espectro. A la concentración c , el pico abarca el 30% de T . El valor medio de la potencia transmitida es entonces el 35% de T ($100\% + 30\% / 2$), que corresponde a $0,187$ unidades de absorbancia.

Ahora, doblamos la concentración de la muestra. La transmitancia al 100% no cambia —se transmite toda la luz, cualquiera que sea la concentración de la muestra—. La transmitancia del pico es el 9% de T . La transmitancia media que será la que se mide para la concentración mayor es el $54,5\%$ de T , que corresponde a $0,263 A$. Pero, cuando la absorbancia para la concentración c es $0,187$, se espera (según la ley de Beer) que la solución $2c$ tendrá el doble de absorbancia $0,374$ ($= 2 \cdot 0,187$), no $0,263$. No parece que la muestra siga la ley de Beer. Sin embargo, esta desviación se produce porque la longitud de banda espectral del espectrómetro no está correctamente colocada. *Con una longitud de banda espectral suficientemente estrecha*, encontraremos que para cada longitud de onda la intensidad *versus* la longitud de onda sigue la ley de Beer.

En resumen, la rendija espectral puede ser más ancha dando una mayor relación S/R y todavía suministrar una cuantificación precisa si la banda medida es relativamente plana en la absorbancia (o emisión). Ésta es la razón por la que las longitudes de onda utilizadas para los análisis se eligen en los picos de banda espectral, donde no sólo la curva de absorbancia es plana, sino que también se alcanza la máxima sensibilidad.

Otras causas de la desviación de la ley de Beer se estudiarán en las Secciones 8.11, 8.12 y 8.14

Células de muestra y disolventes

El título de esta subsección es inevitablemente engañoso ya que se usa el lenguaje cotidiano para facilitar la práctica de la espectrometría. Para ser más general, el título debería haber sido «portamuestras y matrices no interferentes». Después de todo, cuando se consideran todas las medidas espectrométricas, de la radiofrecuencia a la radiación γ , y qué analitos pueden estar sólo en fase de vapor o en llama, plasma, líquid-

do, sólido, sólo surgen dos principios generales. Éstos describen propiedades de los materiales que comprenden portamuestras, sus geometrías, y la matriz en la que se encuentra el analito.

1. Todos los materiales que atraviesa el haz de luz (matriz, célula, ventanas, etc.) distintos a los analitos deben ser tan transparentes a la radiación como sea posible.
2. Las geometrías del instrumento y la muestra deben incrementar la radiación que comprende la señal deseada y minimizar cualquier radiación que pueda interferir.

Éstas son sólo profundas generalizaciones.

Estas generalidades se hacen específicas en los capítulos y secciones que describen las diferentes espectrometrías, ya que existen muchas combinaciones y permutaciones. Por ejemplo, el cuarzo es opaco en el intervalo de la radiofrecuencia, transparente en el infrarrojo, opaco en el intervalo visible y transparente en el intervalo γ . Así el cuarzo se utiliza en ventanas y lentes infrarrojas. Sin embargo, los límites de trabajo no son rígidos. Como para cualquier otro material, el intervalo de longitud de onda sobre el que puede ser útilmente transparente se puede aumentar haciendo la ventana o la lente tan fina como sea posible, según su resistencia física.

La optimización de los principios anteriores depende de tres factores.

- a. La extensión con que la luz puede pasar a través de la muestra, que depende de la naturaleza de la muestra, de cómo absorbe y dispersa la luz.
- b. La extensión en la que el material del portamuestras hace disminuir la luz que recibe la muestra (por dispersión, reflexión, refracción) o cambia sus propiedades (como por polarización). Este factor tiene mayor impacto cuando la polarización de la luz es importante.
- c. Cuando se miden varios tipos de absorción, emisión y difracción.

Todas estas generalizaciones se aplican no sólo como medidas espectrométricas independientes, sino también cuando se utilizan como métodos de detección para técnicas de separación.

La Figura 8.15 representa un ejemplo específico de los efectos de la geometría. Una cubeta de muestra típica con una sección transversal cuadrada no se puede colocar en el compartimento de la muestra en un espectrómetro UV-visible exactamente en el mismo sitio cada vez. Variaciones sin importancia en la geometría modifican el paso de la luz mediante ligeras diferencias en la reflexión y la refracción en cada superficie, encontrándose que una limitación en la precisión se debe al error de la posición de la cubeta. Los problemas con la colocación de la muestra sugieren que para mayores precisiones y exactitudes, es mejor utilizar una célula de muestra que esté fija en la posición y reemplazar el líquido o el gas, evitando la contaminación cruzada.

Otros límites para la precisión fotométrica

Las diferencias en la preparación de la muestra pueden, como siempre, contribuir a la imprecisión. Consideremos, por ejemplo, una serie de muestras analizadas con una técnica de absorción, pero teniendo cada muestra una cantidad diferente de partículas residuales mezcladas en ellas. Las partículas difractan algo la luz, lo que produce cambios en la línea base y resultados poco exactos. La suciedad y las erosiones en las cubetas pueden tener el mismo efecto.



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 8-1

Da una Tropopausa

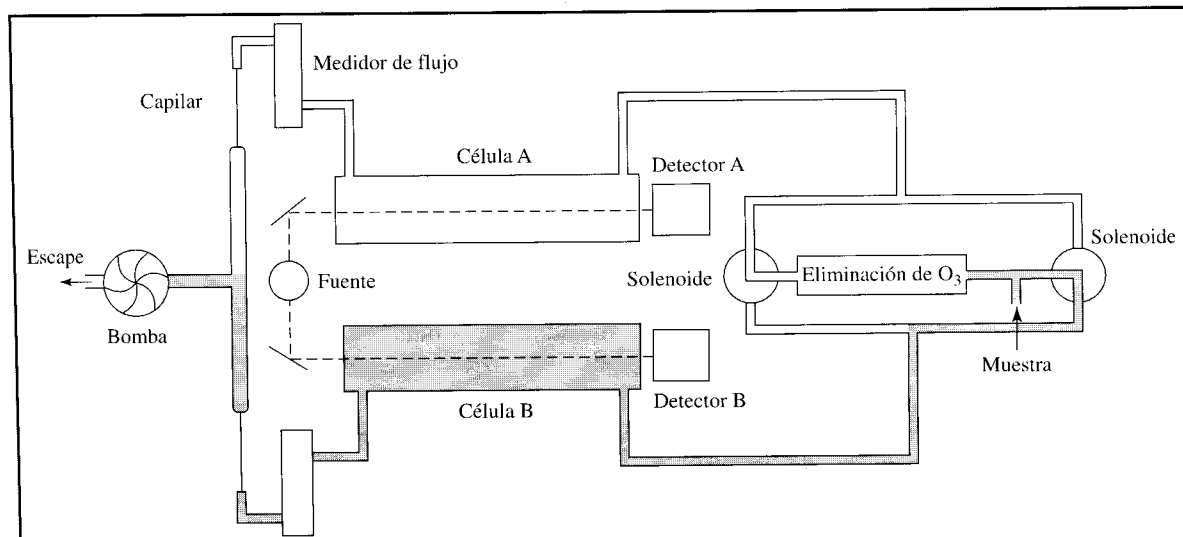
Los aviones comerciales generalmente vuelan a altitudes en la tropopausa, en el límite entre la troposfera libre (de 1,5 a 10 km sobre el nivel del mar) y la estratosfera (aproximadamente 10-12 km sobre el nivel del mar). La composición química de las dos difiere significativamente: la troposfera libre tiene una concentración media de O_3 de 10-30 ppb, mientras que la media de la estratosfera es de 100-400 ppb. La química y el transporte dentro de la atmósfera es compleja. Por ejemplo, el ozono tiene como fuentes las descargas eléctricas atmosféricas, y el NO_x surge de reacciones fotoquímicas con diferentes mecanismos de eliminación. También las turbulencias mezclan las capas, cuyos efectos dependen de las regiones mezcladas y del tiempo de mezcla. Como resultado, las medias citadas anteriormente no describen las diferencias locales que se encuentran —tales como hasta multiplicar por diez las diferencias en la concentración de O_3 en 10 kilómetros a la misma altitud.

El efecto de la expulsión de gases de los aviones en la química del ozono es de un interés fundamental para establecer los efectos del aumento de la actividad comercial aérea y el desarrollo de modelos. Para obtener los datos necesarios, cinco aviones comerciales de tres compañías aéreas

europas recogen continuamente datos sobre la concentración de ozono durante sus vuelos.

Un analizador de ozono, resumido en la figura, utiliza el aire extraído de la salida del avión a una velocidad fija por dos capilares iguales y la diferencia de presión a lo largo del sistema. Se incorpora un espectrómetro de doble haz con una única fuente (254 nm) y detectores separados para cada haz. En la figura, se muestra el paso del aire sombreado, y el paso de referencia sin sombreado. El gas de referencia es el mismo que el del ejemplo, excepto que pasa por un lecho de carbón para eliminar cualquier presencia de ozono. Las células de muestra son de 37 cm de long, y con el fin de alcanzar una precisión de ± 1 ppb ($\pm 0,002\% T$), se toman una serie de precauciones. Por ejemplo, la superficie interna está recubierta con fluoruro de polivinilidina para prevenir la descomposición del O_3 . La muestra y los canales de referencia se alternan varias veces cada minuto para corregir cualquier influencia óptica o electrónica en los canales, mientras que se alcanza la localización en 1 km. La diferencia de absorción se mide después de dejar pasar durante el suficiente tiempo las nuevas muestras y referencias por las células.

Las medidas registradas se corrigen para la temperatura, presión y humedad. En la tapa de este



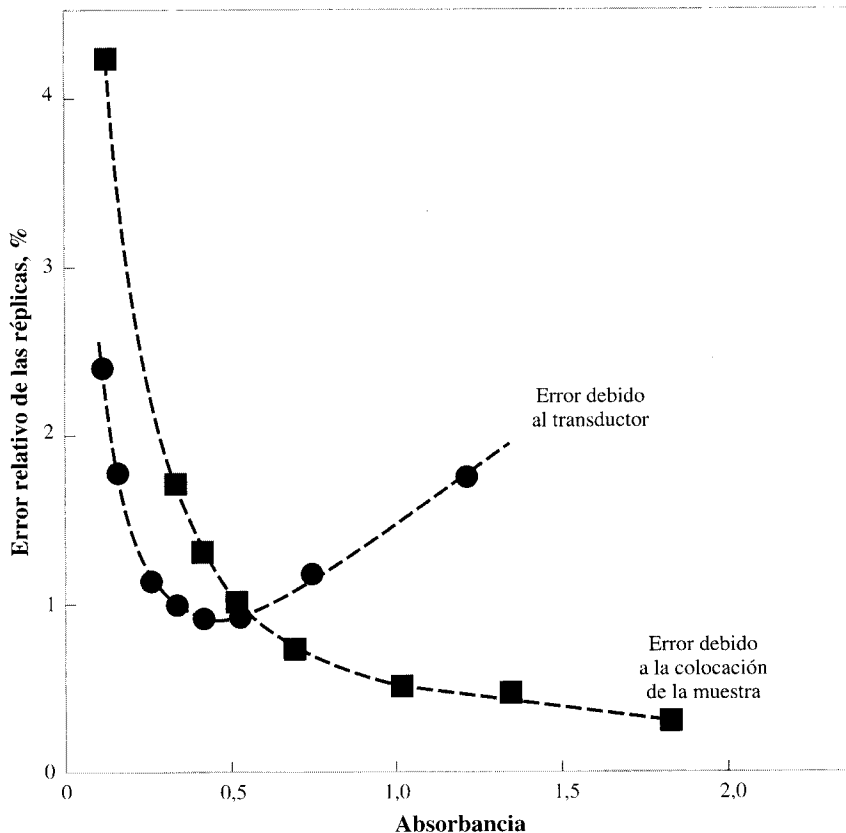
Da una Tropopausa... (continuación)

libro se muestra un mapa con los resultados de estos experimentos. El dibujo es el registro de las concentraciones medias a 9-12 km de altitud en los meses de septiembre, octubre y noviembre. Los datos se tomaron durante estos meses en los traxectos de los vuelos de 1994, 1995 y 1996.

[Refs.: THOURET, V. MARENCO A., NÉDÉLEC, P., and GROUHEL C. 1998. «Ozone climatologies at 9-12 km altitude as seen by MOZAIC airborne program between September 1994 and August 1996.» *J. of Geophys. Res.* 103, 25, 653-25, 679. Manual for Thermo Environmental Instruments, Model 49. MOZAIC (Measurement of Ozone by Airbus In-Service Aircraft).] ■

FIGURA 8.15 ►
Resultados experimentales obtenidos para determinar el error relativo en un experimento de absorción.

Los datos se obtienen en el intervalo visible en disoluciones de dicromato potásico, $K_2Cr_2O_7$, en ácido sulfúrico. Las disoluciones se introdujeron en células de sección transversal cuadradas estándares 1,000 cm fabricadas en sílice fundida. El soporte para las celdas sólo se colocó durante 15 min. en el ángulo de error ($\pm 0^\circ 7,5'$), pero fue suficiente para que este emplazamiento fuera la mayor fuente de error (cuadrados) en el intervalo óptimo de absorbancia de 0,4-0,7 A. Los círculos indican la contribución de otra fuente de error mayor —ruido inherente en el transductor, que tiene una alta calidad fotomultiplicadora. Compárese el gráfico del ruido del transductor con el de la Figura 8.13a. [Ref.: Reimpresión con permiso de Rothman, L. D., Crouch, S. R., Ingle, J. D. 1975. *Anal. Chem.* 47, 1226-1233. Copyright 1975 American Chemical Society.]



8.9. Espectrometría de fluorescencia/fosforescencia

Los espectros de luminiscencia (fluorescencia y fosforescencia) se obtienen con la disposición instrumental general mostrada en la Figura 8.16. Se requiere una fuente de luz en la región de energía apropiada, y la luz incidente es monocromática. En la figura, se observa que la luz incidente llega a la muestra después de pasar a través de un primer mon cromador, aunque también se utilicen fuentes de luz monocromáticas tales como láseres. La muestra absorbe la luz y a continuación la reemite en todas las direcciones y a mayores longitudes de onda. La *luminiscencia* que sale de la muestra se mide bajo un ángulo que no está en línea con el eje que conecta la fuente y la muestra. Este ángulo es a menudo, pero no necesariamente, de 90° .

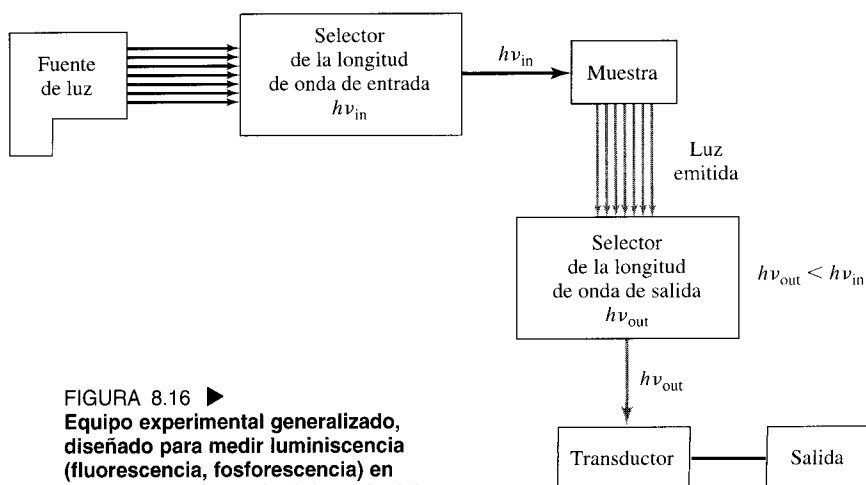


FIGURA 8.16 ►
Equipo experimental generalizado, diseñado para medir luminiscencia (fluorescencia, fosforescencia) en las regiones de longitud de onda del infrarrojo a los rayos X.

Si la luminiscencia de la muestra es proporcional al contenido de analito, se puede utilizar para cuantificar el analito. Además, si se utiliza un método espectrométrico que depende del tiempo, se puede separar la luz debida a la fosforescencia, de la luz debida a la fluorescencia. En estas bases prácticas, la reemisión de fosforescencia se produce generalmente a un tiempo mayor —incluso cuando la fuente de luz ya no proporcione más radiación a la muestra fosforescente.

La señal medida se puede describir simplemente como:

$$\text{Salida}_\lambda = \kappa_\lambda c \quad (8-13)$$

donde:

c es la concentración de la disolución

κ es una constante de proporcionalidad

λ es la longitud de onda a la que se mide la señal luminiscente. λ_0 es la longitud de onda de la radiación emitida por la fuente.

El factor κ engloba la potencia de la fuente, la eficiencia del proceso de luminiscencia para convertir la potencia de la fuente en emisión, la longitud del paso óptico de la fuente de luz y de la luz emitida y las geometrías ópticas. Todos estos factores deben ser constantes para una serie de medidas cuantitativas. Algunos términos específicos de luminiscencia se recogen en la Tabla 8.5 de la página 300.

Nótese que la salida de la luz debe ser cero en ausencia de analito. La Ecuación 8-13 sólo se aplica cuando ningún otro componente de la disolución produce o refracta luz.

La fluorescencia es la base para la medida cuantitativa de DNA del ejemplo descrito en el caso de estudio 8.2.

Las bases de la Ecuación 8.13 se muestran en la Sección 8D.

EJEMPLO 8.7

Se estudió mediante fluorescencia el intervalo de concentración lineal. Se obtuvieron los siguientes datos para sulfato de quinina estándar, en el intervalo de concentraciones de 10^{-3} a 10^{-9} M. Dado el amplio intervalo estudiado, fue necesario cambiar la **atenuación** de la señal para tener las lecturas en escala. A continuación se leyó un blanco para cada nivel de atenuación para corregir la intensidad de la señal de fondo. Las intensidades están en escala lineal con un factor de multiplicación arbitrario.

Log de la concentración	Intensidad de fluorescencia de la muestra	Atenuación	Intensidad de fluorescencia del blanco
-3	3500	10000	2
-4	5853	10000	2
-5	5928	10000	2
-6	6099	1000	4
-7	6038	100	42
-8	6335	10	390
-9	10005	1	4003

- Multiplíquese cada lectura estándar por la atenuación y corrija la contribución encontrada para el blanco con el mismo ajuste de atenuación.
- Represéntese las intensidades corregidas *versus* la concentración en un gráfico logarítmico.
- ¿Sobre qué intervalo de concentración sería útil el método?

Solución:

a.

Log de la concentración	Fluorescencia de la muestra ajustada	Fluorescencia del blanco ajustada	Intensidad corregida
-3	$3,500 \times 10^7$	2×10^4	$3,498 \times 10^7$
-4	$5,853 \times 10^7$	2×10^4	$5,851 \times 10^7$
-5	$5,928 \times 10^7$	2×10^4	$5,926 \times 10^7$
-6	$6,099 \times 10^6$	4×10^3	$6,095 \times 10^6$
-7	$6,038 \times 10^5$	$4,2 \times 10^3$	$5,996 \times 10^5$
-8	$6,335 \times 10^4$	$3,90 \times 10^3$	$5,945 \times 10^4$
-9	$1,0005 \times 10^4$	$4,003 \times 10^3$	$6,027 \times 10^3$

- Véase la Figura 8.17.
- El método podría utilizarse para concentraciones hasta el del punto en el que la intensidad se curva dando una representación de **valores dobles**. *Valores dobles*

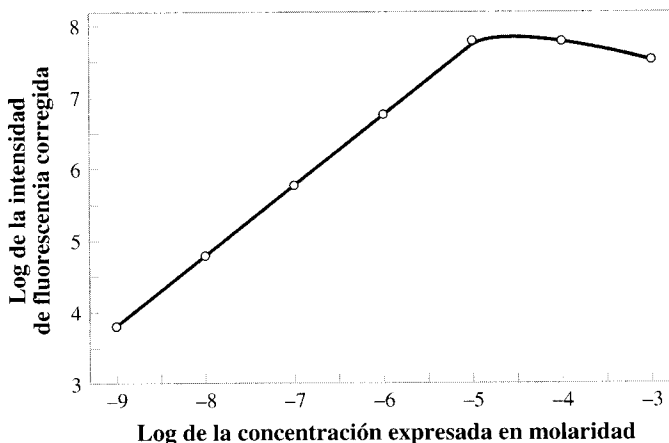


FIGURA 8.17 ► Representación logarítmica de la intensidad de fluorescencia *versus* concentración.

significa que una lectura de intensidad puede tener dos concentraciones diferentes asociadas —una a cada lado del máximo—. Con el fin de eliminar la ambigüedad de la respuesta del doble valor, el límite superior del ensayo aparece en torno a 10^{-6} M. En el lado menor, el blanco alcanza una porción significativa de la intensidad leída en el nivel de 10^{-9} M, por lo que probablemente no sería un buen método para concentraciones menores que ésta.

Comparación de los métodos

¿Cuándo se debe considerar utilizar métodos de fluorescencia en lugar de absorción? Ya que todos los compuestos que producen fluorescencia/fosforescencia también absorben luz, muchas muestras analíticas se pueden analizar por espectrometría de absorción o de luminiscencia. Si un analito no produce una fuerte fluorescencia, la elección parece fácil: usar absorción. Sin embargo, la elección del método no parece tan sencilla, ya que se deben tener en cuenta las ventajas e inconvenientes.

Primero, así como es más fácil para la vista encontrar un punto de luz sobre un fondo oscuro que ver ligeros cambios en la luminosidad, del mismo modo los límites de detección son inherentemente menores en espectrometría de luminiscencia que en absorción. Pero los límites inherentes no son necesariamente los límites de la práctica. Por ejemplo, la luz incidente puede ser difractada debido a las partículas presentes en la muestra. Con el fin de obtener resultados exactos, las muestras se deben filtrar para eliminar las partículas de la matriz. Esto añade un paso extra a la preparación de la muestra. Además, a nivel de trazas, el paso de filtración no debe afectar a la medida porque, por ejemplo, el filtro adsorba al analito en su superficie. La espectrometría de absorción está mucho menos expuesta a errores debido a tal refracción de la luz.

Una segunda base de elección del método es el intervalo de la concentración de trabajo para el analito. La emisión de fluorescencia puede ser lineal para concentraciones en el orden de tres a cinco órdenes de magnitud, como se ha visto en el ejemplo anterior. Una curva de trabajo no lineal pero que se puede utilizar, puede añadir otro factor de diez. En contraste, los análisis que dependen de absorbancia tienden a ser lineales con concentraciones sobre un factor de 10 a 100 en concentración. En otras palabras, la luminiscencia tiene un intervalo lineal mayor que la espectrometría de absorción. Sin embargo, la espectrometría de luminiscencia presenta desventajas para disoluciones más concentradas. En espectrometría de luminiscencia, la potencia es absorbida por la muestra y posteriormente la reemite. Sin embargo, la muestra puede también absorber la luz reemitida. Este proceso se denomina, razonablemente, **auto-absorción**. Como resultado de la auto-absorción, se emite menos luz a mayores concentraciones del analito que la esperada, si extrapolamos los resultados para concentraciones menores. En efecto, si la auto-absorción es grande, la medida de la intensidad de luminiscencia puede incluso disminuir si aumenta la concentración; se alcanza un valor máximo y el resultado disminuye con concentraciones mayores, lo que produce una curva de trabajo no lineal. En general, las curvas de calibración se volverán no lineales en espectrometría de fluorescencia a menores concentraciones de analito que para espectrometría de absorción. Pero, de nuevo, se demuestra que el problema es simple ya que se puede diluir la muestra.

Una tercera base de elección es que, como la mayoría de las moléculas no producen luminiscencia, a veces es posible analizar por luminiscencia analitos en presencia de especies que podrían interferir en un análisis de absorbancia.

¿Qué conclusión se puede extraer de estas conflictivas consideraciones? En la práctica, cuando se pueden utilizar ambos métodos, la luminiscencia se utiliza para

La falta de luminiscencia se produce porque hay pocas moléculas con la energía adecuada. Véase la Sección 8E.

análisis de ultratrazas, mientras que la absorción se aplica para muestras con analitos más concentrados.

La emisión se utiliza con analitos que emiten luz. Hay dos casos comunes. El primero cuando se puede calentar la muestra a altas temperaturas (500-3000 K). Se emplean varias técnicas que utilizan estas temperaturas elevadas para análisis elementales, y se describen en el Capítulo 9. El segundo resulta de un origen de emisión de la luz completamente especial, y sólo se han encontrado relativamente pocos ejemplos. La energía se introduce a partir de reorganizaciones de uniones químicas. Es la *quimioluminiscencia*. La quimioluminiscencia no es un método general de espectrometría pero sí una descripción del origen de la luz. La quimioluminiscencia da lugar a análisis muy específicos y sensibles.

8.10. Interferencias espectrales y espectro de mezclas

Se pueden definir las interferencias espectrales como la radiación de luminiscencia o de absorción a la(s) longitud(es) de onda del análisis que interfiere en la cuantificación del analito. Estas interferencias pueden ocasionarse por los componentes de la matriz.

La interferencia, en cierto modo, se divide en dos categorías: las interferencias debidas al fondo y las interferencias debidas a las características espectrales en o próximas a la misma longitud de onda. La diferencia entre un fondo y una característica espectral es la variación de la magnitud de la señal con la longitud de onda. El fondo varía lentamente *en relación con la señal deseada*. La señal de una interferencia (característica espectral) es aproximadamente tan «aguda» como la señal del analito. Por ejemplo, en la Figura 8.6 de la página 294, los picos del espectro podrían considerarse una señal de fondo. Esta regla asignada a la señal y al fondo no es rígida. Si la parte importante del espectro de la Figura 8.6 es la parte ancha, el pico podría considerarse ruido o no tomarse en cuenta. Después de todo, si un monocromador está listo a la longitud de onda del máximo del pico ancho de la Figura 8.6, la señal de la interferencia no tendrá influencia.

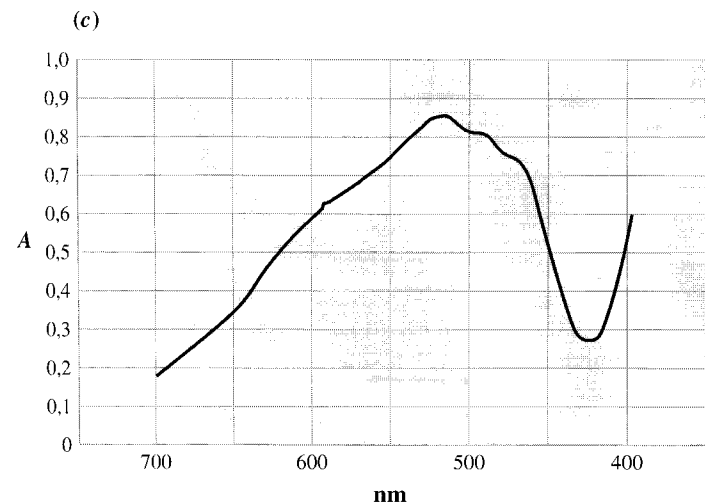
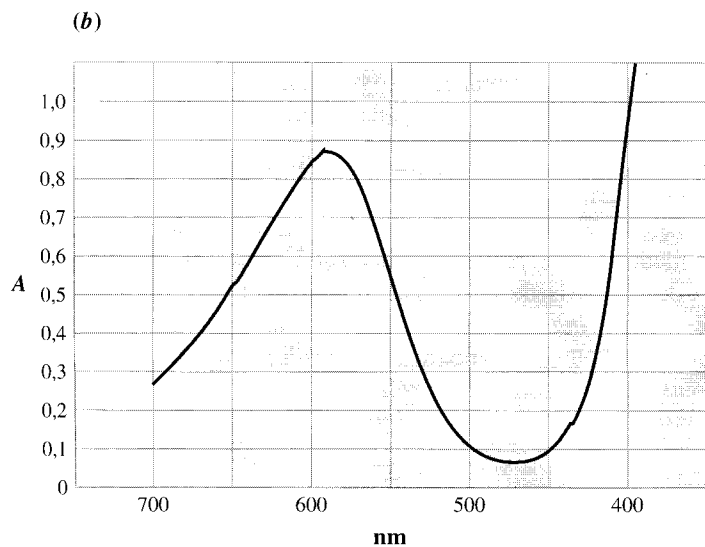
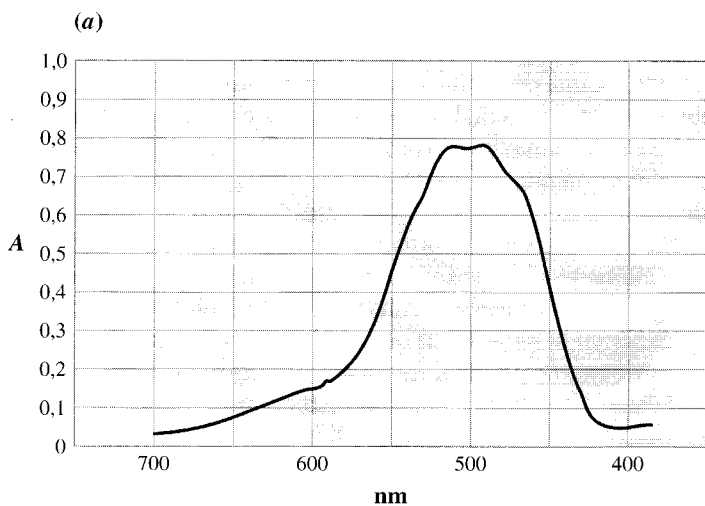
Los orígenes de las interferencias espectrales, los problemas que producen en el análisis, y las técnicas utilizadas para seguirlas o eliminarlas o compensarlas dependen de tres puntos fundamentales.

1. La selectividad y sensibilidad de los métodos espectroscópicos depende del aislamiento de una longitud de onda estrecha.
2. La respuesta del transductor a la media de la intensidad total de esta banda estrecha se mencionó al analizar la Figura 8.14.
3. Para una buena aproximación, la intensidad total detectada es la suma de la iluminación (o absorción) debida a todos los materiales que emiten (o absorben) a la longitud de onda. Este punto se representa en la Figura 8.18.

Unos pocos ejemplos específicos pueden clarificar cómo estas ideas ayudan a minimizar o a eliminar las interferencias espectrales. Tales procedimientos se pueden aplicar en todas las regiones de longitud de onda.

Corrección de fondo

En la Figura 8.19 se muestra un espectro que contiene un pico de un analito junto con un pico debido al fondo. Si se quiere determinar la radiación debida sólo al analito, es necesario compensar la señal de fondo: hacer una **corrección de fondo**.



◀ FIGURA 8.18
Espectro de una disolución AEDT-metal
(ácido etilendiamino tetraacético) en tampón fosfato.

(a) Espectro de absorbancia de una disolución estándar AEDT Co que se ha preparado diluyendo 20 ml de CoCl_2 0,150 M a 50 mL con una disolución fosfato-AEDT. (b) Disolución similar preparada para níquel. Para el Ni estándar, 20 mL de NiCl_2 0,250 M se diluyeron a 50 mL. (c) Una mezcla de las dos disoluciones. El espectro de la mezcla es la suma del espectro de los dos componentes.

Para el espectro (a), se podría corregir el ruido haciendo la representación del espectro y dibujando «mejor» la línea de base, determinando manualmente la altura del pico del analito interpolada por encima de la línea de base. Las suposiciones y los cálculos se deben hacer algebraicamente. La señal del pico se debe al pico del analito S y al pico del fondo B . La medida es la suma de éstos ($S + B$). Así, la señal debida sólo al analito es:

$$S = (S + B) - B$$

¿Cómo se podría hacer la misma corrección de forma instrumental?

El instrumento debería hacer tres lecturas a la salida y guardar la información electrónicamente. Las tres lecturas serían la longitud de onda indicada B_1 , posición del pico, y la longitud de onda B_2 . En este caso, B_1 y B_2 son equidistantes para el pico. Como estas posiciones de fondo son equidistantes para el pico central, B (valor del fondo a la longitud de onda del pico) contribuye

$$B = \frac{B_1 + B_2}{2}$$

al valor medido. Esta simple ecuación algebraica contiene una suposición inherente, que la línea de base es una línea estrecha, que es la que se podría dibujar manualmente. La señal del analito será entonces:

$$S = (B + S) - B = (B + S) - \frac{1}{2}(B_1 + B_2)$$

Obsérvese que en este caso especial *no es necesario un blanco*. La necesidad de un blanco químico se elimina mediante la *separación espectral* de la intensidad proporcionada por los componentes de la matriz de la intensidad del analito. En otras palabras, encontramos que *midiendo el fondo independientemente, se alcanza el mismo efecto que haciendo una corrección utilizando un blanco correctamente formulado*.

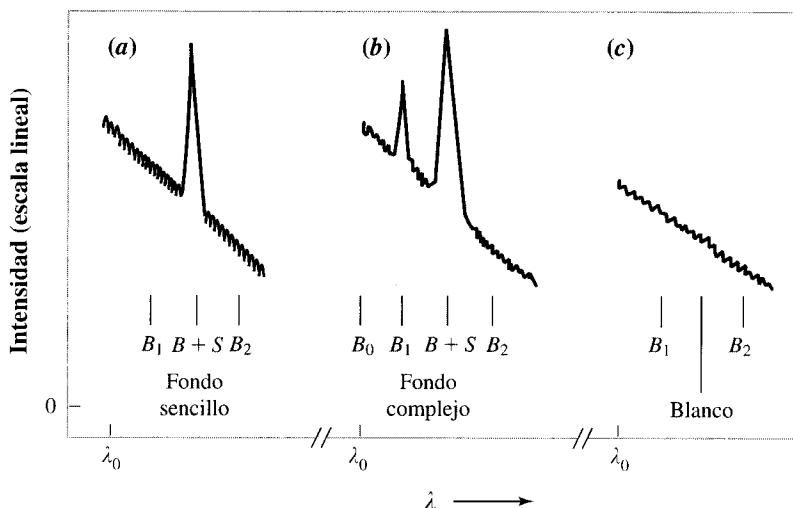


FIGURA 8.19 ▲
Espectros y compensación de fondo.

Los espectros se miden uno después de otro a las longitudes de onda indicadas B_1 , $B + S$ y B_2 . La señal sólo del analito se puede obtener restando el fondo medio. Si aparece una interferencia estructurada, como en (b), se puede elegir un punto alternativo del fondo, B_0 , con el cambio adecuado en las ecuaciones.

Para este ejemplo, la señal instrumental debida al blanco se muestra en el espectro (c). Hay que señalar que si sólo se mide en la posición del pico y se corrige midiendo el blanco, se puede obtener un resultado que no sea exacto. El fondo durante el análisis es significativamente mayor que el del blanco solo. ¿Desobedece este ejemplo los principios presentados en el Capítulo 4 con respecto a los estándares? Realmente no. Tal como se muestra aquí, algunas otras interferencias que no se incluyen en el blanco están presentes en la muestra. El blanco será imperfecto; no contiene todos los componentes que contribuyen a la interferencia espectral.

El ejemplo anterior está simplificado: sólo aparece un pico de analito aislado en un fondo muy sencillo. ¿Qué ocurre si el fondo no es sencillo? Suponemos que hay un pico debido a algún componente de la matriz a la longitud de onda elegida para B_1 , tal como se ve en el espectro (b). Si el instrumento se programara para hacer el mismo cálculo anterior, concretamente, el fondo en la posición del pico se encuentra que es $(B_1 + B_2)/2$, el resultado del análisis sería totalmente impreciso.

Un camino para solucionar esta dificultad es encontrar dos longitudes de onda — B_0 y B_2 — a las que hacer las medidas del fondo y utilizarlas para calcular B en la longitud de onda del pico. La fórmula para calcular B partir de B_0 y B_2 , por supuesto, difiere de la utilizada para B_1 y B_2 , que son equidistantes al pico. Es a través de estas estrategias como se pueden hacer las correcciones del fondo cuando se analiza espectrométricamente un único componente, incluso en matrices complejas.

Se puede hacer una detección simultánea de fondos y picos con un detector de transferencia de carga (CCD). Véase la Sección 8C.

Quantificación de dos especies en presencia de interferencias espectrales

Si se dispone de suficiente información espectrométrica, se pueden cuantificar todos los componentes de la mezcla sin separación. En la Figura 8.18 se muestran ejemplos de espectros de una mezcla de dos componentes. Se comprobará que el problema, matemáticamente, es equivalente a tener dos ecuaciones con dos incógnitas. Los datos necesarios para los cálculos son los siguientes:

1. Para una muestra desconocida, la absorbancia a varias longitudes de onda. El número de longitudes de onda debe ser igual (o mayor) que el número de componentes de la muestra que absorben una fracción significativa de luz.
2. Las absorptividades molares *para cada componente por separado* a todas las longitudes de onda elegidas para la mezcla.

Vamos a escribir esto algebraicamente. Para una muestra que contiene dos componentes (identificados con los subíndices 1 y 2), absorbiendo ambos la luz a la misma longitud de onda λ_i , la absorbancia total es:

$$A(\lambda_i) = A_1(\lambda_i) + A_2(\lambda_i) \quad (8-14)$$

La Ecuación 8.14 dice que para cualquier longitud de onda la absorbancia total medida es la suma de las Absorbancias de los dos componentes. Se utiliza la ley de Beer, Ecuación 8.12, con ligeras diferencias indicadas para sustituir en cada absorbancia en la Ecuación 8.14. Así, para el componente 1 a la longitud de onda i ,

$$A(\lambda_i) = \epsilon_{1i}bc_1 \quad (8-15a)$$

Una expresión similar (sólo se diferencian los subíndices) describe la Absorbancia del segundo componente:

$$A_2(\lambda_i) = \epsilon_{2i}bc_2 \quad (8-15b)$$



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 8-2

Todo está en los genes

Una propiedad de los genes es que presentan regiones codificadas y no codificadas. Las regiones codificadas —que abarcan menos del 5% del genoma total— dirigen la síntesis de proteínas a través del RNA mensajero (mRNA) que es complementario de la secuencia de DNA. Experimentalmente, se encuentra que la cantidad de mRNA presente en las células corresponde normalmente al nivel o la producción de sus proteínas codificadas. Los niveles correctos del conjunto de proteínas celulares mantienen las funciones normales de la célula. Estos niveles están regulados mediante los factores de transcripción que unen algunas de las regiones de DNA no codificadas, denominadas regiones promotoras.

Enfermedades tales como la anemia drepanocítica tienen origen en la mutación de proteínas producidas cuando la secuencia de DNA no es correcta. Sin embargo, las enfermedades del corazón, el cáncer y otras, implican cambios multigenes mucho más complicados. Una hipótesis indica que estas últimas enfermedades se pueden estudiar observando el patrón de expresión del gen. Lo que se cree es que la diferencia entre estados de salud

y enfermedad está condicionada por la presencia de cantidades de determinados mRNA en tejidos relevantes. El conocimiento de qué mRNA cambia nos lleva a conocer qué proteínas están implicadas en el proceso de la enfermedad y, de este modo, posibilitar métodos de intervención con nuevos fármacos.

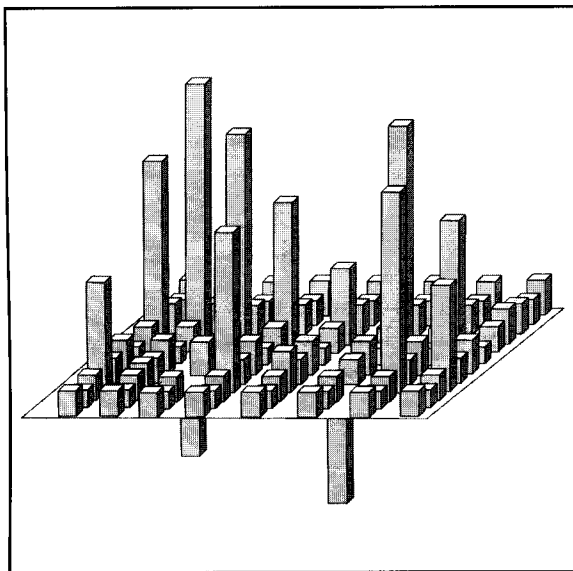
Para ver el patrón de actividad de los genes se necesita obtener la máxima información. Por tanto, se requieren cantidades de análisis paralelos. Los análisis se pueden realizar según los siguientes pasos.

1. Inmovilizar un gran número de sondas de DNA complementario (cada complementario para cada uno de los tipos de mRNA), para especificar las localizaciones en una cadena.
2. Marcar todos los mRNA aislados en un tejido con un marcador fluorescente.
3. Dejar el tiempo necesario los mRNA marcados para que se unan con su respectivo DNA complementario.
4. Medir la fluorescencia de todos los sitios en paralelo.

La señal fluorescente de cada sitio proporciona medidas cuantitativas de la cantidad de mRNA de la secuencia conocida para ser localizada en ese sitio. (Por supuesto, las cantidades de mRNA deben controlarse para que no se saturan los sitios en el DNA; si no, se podría perder la naturaleza cuantitativa del test).

En la figura se muestra un ejemplo del ensayo para 96 genes humanos expresados. La altura de las columnas corresponden a las diferentes concentraciones, y las localizaciones proporcionan sus identidades. Estas 96 pruebas se han realizado en una cadena de 8×12 en un chip de 1 cm^2 .

[Ref.: información e ilustración por cortesía de Gene Logic, Inc.]



Sin embargo, teniendo el mismo subíndice i , indicamos que las longitudes de onda son las mismas para ambas especies. La longitud del paso óptico b también es la misma. Sustituyendo la Ecuación 8-15a,b en la Ecuación 8-14 se obtiene la expresión para la absorbancia total a la longitud de onda λ_i :

$$A(\lambda_i) = \epsilon_{1i}bc_1 + \epsilon_{2i}bc_2 \quad (8-16)$$

En principio no hay diferencias entre las Ecuaciones 8-14 y 8-16.

EJEMPLO 8.8

En una disolución, dos componentes absorben a la misma longitud de onda. Para la longitud de onda λ_i ,

$$\epsilon_{1i} = 500, \quad \epsilon_{2i} = 3000, \quad \text{y} \quad A(\lambda_i) = 0,450$$

Para una segunda longitud de onda λ_j ,

$$\epsilon_{1j} = 2100, \quad \epsilon_{2j} = 160, \quad \text{y} \quad A(\lambda_j) = 0,565$$

Hállese la concentración de cada componente. La longitud de paso óptico de la célula es de 1,000 cm, y las unidades de las absorptividades son $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Solución:

La mezcla comprende dos componentes. Ya que se incluye la información para dos longitudes de onda, se pueden encontrar las concentraciones de cada componente a partir de los datos:

$$(a \lambda_i) \quad 0,450 = 500 c_1 + 3000 c_2 \quad (8-17)$$

$$(a \lambda_j) \quad 0,565 = 2100 c_1 + 160 c_2 \quad (8-18)$$

De este modo tenemos las dos ecuaciones necesarias para encontrar una única solución para las dos incógnitas. Se pueden resolver las Ecuaciones 8-17 y 8-18, de manera sencilla, encontrando una única solución para c_1 y c_2 . El resultado es:

$$c_1 = 2,61 \times 10^{-4} \text{ M}$$

$$c_2 = 1,07 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Los cálculos para mezclas de dos componentes para análisis de emisión y de luminiscencia se solucionan de una manera similar, utilizando niveles de respuesta relativos para cada especie a las longitudes de onda elegidas y las respuestas de las mezclas a las mismas longitudes de onda.

Una extensión de estos cálculos a mezclas de n componentes requiere únicamente medidas a n longitudes de onda elegidas correctamente. Los métodos de matriz se utilizan para calcular los resultados para tales datos. Pero actualmente es más probable que se utilicen todos los puntos del espectro digitalizado. El espectro se ajusta, bien con la suma de un número de espectros conocidos o con picos individuales, asignando a cada pico uno de los espectros más probables. Este proceso se denomina ajuste de curva, ajuste de pico o curva de desconvolución y actualmente es semiautomático (el punto de partida para buscar el mejor algoritmo se lleva a cabo por la persona que maneja la computadora). La precisión de tales ajustes se mejora cuando aumenta el número de características (picos, hombros, valles), conforme aumenta la señal S/R, y cuando disminuye el número de posibles componentes en la mezcla de medida. Cualquier método espectroscópico de rayos- γ a radiofrecuencia es susceptible de tal tratamiento cuando los componentes de la mezcla se añaden independientemente al espectro.

8.11. Interferencias químicas

Aun a riesgo de ser repetitivos, debemos recalcar que las longitudes de onda espectrométricas son características de los analitos y la magnitud de la interacción con la luz es proporcional a la cantidad de especies en la muestra, *siendo constantes todos los otros factores*. Sin embargo, si no todos los otros factores son constantes, entonces se puede introducir un error. En esta sección se considera la variación de la concentración de las especies que se van a medir, denominado este proceso como *interferencia química*. Algunos ejemplos de interferencias químicas se relacionan a continuación.

Primero, consideremos qué pasa si están presentes dos especies iónicas en la disolución, pero el reactivo no forma un compuesto coloreado con cada una individualmente, sino que puede formar un compuesto iónico incoloro con los iones de cada especie. Primero se determinan las absorptividades molares de las dos disoluciones estándar coloreadas. Sin embargo, cuando se añaden las dos para formar una mezcla, la disolución resultante se vuelve prácticamente incolora. No se puede hacer un análisis espectrométrico de la muestra con este reactivo para esta muestra ya que se produce una interferencia química.

Segundo, supongamos que se desea medir la concentración de un indicador de pH para su aplicación en una valoración fotométrica. Se prepara la disolución mezclando el indicador con el disolvente, y una serie de estándares diluyendo sucesivamente esta disolución con el disolvente. Sin embargo, como se diluye la disolución, el pH cambia, y el indicador modifica su forma química y su color. Como consecuencia, no se seguirá la ley de Beer y resultará una curva de trabajo no lineal. Aun cuando todas las especies del indicador estén todavía en la solución, la composición de la solución no será la misma. El cambio en las condiciones produce un error, que es una interferencia química. Este problema se puede solucionar preparando todos los estándares con un tampón de pH y concentración fija para todas las muestras.

Puntos isobésticos

Cuando un espectro cambia debido a una reacción química del **cromóforo** —que es la entidad que produce el espectro— y el espectro se solapa, debe haber al menos una lon-

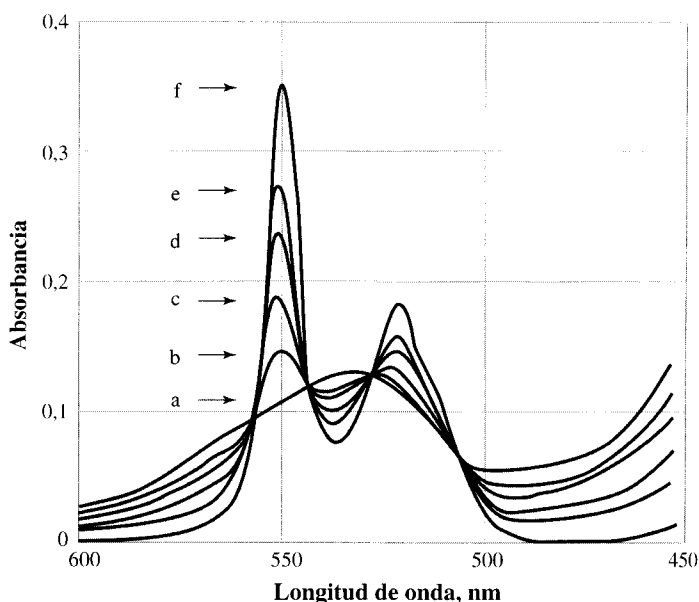


FIGURA 8.20 ► **Cambios espectrales en el citocromo c en un experimento electroquímico.**

Los cambios dependen del potencial electroquímico: En mV versus ECS, los potenciales son: (a) 250,0, (b) 50,0, (c) 30,0, (d) 10,0, (e) -10,0 y (f) -250,0.

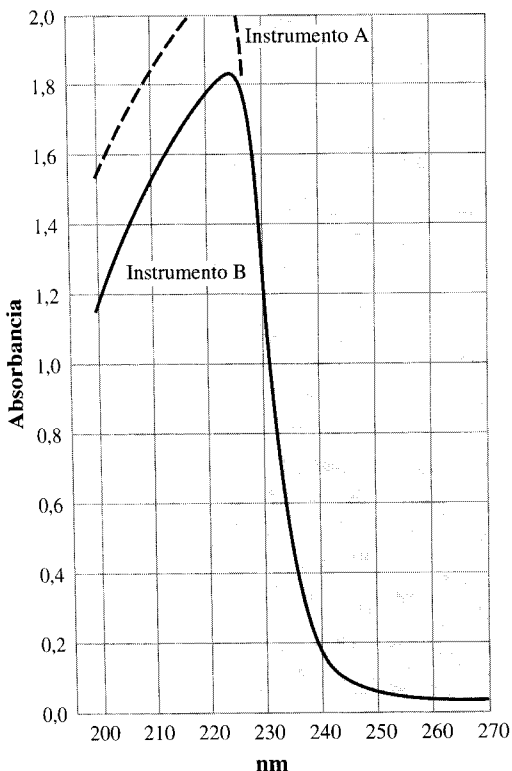
[Ref.: Reimpreso con permiso de W. R. Heineman, *et al.* 1975. *Anal. Chem.* 47,49. Copyright 1975 American Chemical Society.]

gitud de onda en el espectro en la que las absorptividades molares de las dos especies diferentes sean las mismas. Estos puntos se denominan puntos isobécticos. Cuatro de estos aparecen en el espectro mostrado en la Figura 8.20. Estas medidas surgen para un espectro de mezclas de la proteína citocromo *c* en sus formas oxidada y reducida. En este caso, se han interconvertido electroquímicamente en la célula espectral, técnica de medida denominada **espectroelectroquímica**. Si se quiere investigar la conversión entre estas dos formas, se utilizarán medidas a longitudes de onda en las que los cambios en el espectro sean mayores: 550 nm. Sin embargo, si se quiere medir la suma de las dos formas sin preocuparse de las condiciones químicas, se podría, razonablemente, utilizar uno o más puntos isobécticos para la cuantificación. Los puntos isobécticos aparecen cuando la reacción de transformación del cromóforo es o no químicamente reversible.

8.12. Interferencias instrumentales

Las interferencias del instrumento se pueden definir como un exceso de la iluminación que incide en el transductor debido a imperfecciones en el hardware del instrumento. Otro nombre más descriptivo es **radiación parásita**. Cada espectrómetro difiere de los otros en sus características de radiación parásita —incluso aquellos diseñados para el mismo intervalo espectral—. Desafortunadamente, incluso la definición algebraica de radiación parásita puede diferir entre fabricantes.

La Figura 8.21 muestra un ejemplo de interferencias instrumentales. Es un espectro de absorción en la región ultravioleta. En el espectro en el que la absorción de la luz es mayor que la emitida se alcanza un valor de A fuera de escala (próximo a 0% T). Parte de la luz que no pasa a través de la muestra alcanza el fotomultiplicador. Esto puede deberse a la pre-



◀ FIGURA 8.21
Curvas de absorción aparente de disoluciones saturadas de carbonato de litio.

A longitudes de onda menores a 225 nm, el espectro sufre los efectos de la radiación parásita. La absorbancia del carbonato de litio se incrementa rápidamente alrededor de 225 nm. Se dice que la disolución de litio presenta una región de *corte* a 225 nm. La disminución aparente de la absorbancia a longitudes de onda menores a 225 nm se debe a la radiación parásita. Esta radiación parásita es menor en la región del ultravioleta con el instrumento A. [Ref.: Reprinted from West, M. A., Kemp, D. R. 1976. *Intl. Lab.* May/June, 30. Copyright 1976 by International Scientific Communications, Inc.]

Se puede encontrar más acerca de redes holográficas en la Sección 8A.

sencia de polvo en los difractores o simplemente a ligeras fugas del instrumento. Las pérdidas de luz pueden resultar también de imperfecciones en la red, pero esto se ha eliminado con el empleo de **redes holográficas** en los instrumentos más modernos. Cualquiera que sea la causa de la luz perdida, es independiente de la transmitancia de la muestra.

A partir de la figura se verá claramente que el error *relativo* debido a la presencia de radiación parásita puede ser mayor cuando se transmite menos luz a través de la muestra. Este error se puede calcular si se conoce la cantidad relativa de radiación parásita. Supongamos que ζ representa la relación entre la radiación parásita y la luz incidente a una longitud de onda dada. Algebraicamente,

$$\zeta = \frac{P(\text{radiación parásita})}{P_0} \quad (8-19)$$

Así, para la definición de la transmitancia:

$$T_{\text{observada}} = \frac{P + P(\text{radiación parásita})}{P_0 + P(\text{radiación parásita})} \quad (8-20)$$

Pero

$$T_{\text{verdadera}} = \frac{P}{P_0}$$

Por tanto:

$$T_{\text{observada}} = \frac{T_{\text{verdadera}} + \zeta}{1 + \zeta} \quad (8-21)$$

Con el fin de utilizar esta ecuación para determinar el error en la concentración debido a la luz perdida, es más fácil calcular la absorbancia y, a partir de la absorbancia, el error equivalente en la concentración. En otras palabras, utilizar

$$A_{\text{observada}} = -\log T_{\text{observada}} \quad \text{y} \quad A_{\text{verdadera}} = -\log T_{\text{verdadera}}$$

EJEMPLO 8.9

¿Cuál es el error relativo en la determinación de la concentración para una muestra con absorbividad molar $2,0 \times 10^4$ y concentración $1,20 \times 10^{-5}$ M en una célula de 1,000 cm en la que se ha detectado una radiación parásita del 1%?

Solución:

Para los datos dados:

$$A_{\text{verdadera}} = 2,0 \times 10^4 \cdot 1,000 \cdot 1,20 \times 10^{-5} = 0,24$$

Entonces:

$$T_{\text{verdadera}} = 10^{-0,24} = 0,57$$

Añadimos el 1% de radiación parásita (de P_0) para encontrar la $T_{\text{observada}}$ esperada utilizando la Ecuación 8-20.

$$T_{\text{observada}} = \frac{0,575 + 0,01}{1,01} = 0,58$$

Por tanto:

$$A_{\text{observada}} = -\log 0,58 = 0,23_6$$

que corresponde a una concentración de la muestra de $1,18 \times 10^{-5}$ M. El error relativo en la concentración es:

$$\frac{(1,20 - 1,18) \times 10^{-5}}{1,20 \times 10^{-5}} \times 100 = 1,7\%$$

8.13. Reflexión total interna y fibra óptica

Reflexión en espectrometría tiene el mismo significado que coloquialmente: retorno de la radiación de una superficie. Sin embargo, nos encontramos con una pregunta razonable: ¿qué significa de una superficie? Una forma indirecta de hacer esta pregunta es: si tengo un cristal perfectamente claro en aire, ¿por qué puedo ver el final del cristal? La respuesta es que cuando la luz pasa del aire al cristal, parte de ella se refleja y parte pasa a través del cristal. Este efecto se ilustra en la Figura 8.22 mediante flechas que representan el paso de los **rayos de luz** incidente, reflejados y transmitidos. Un rayo de luz es un hipotético y estrecho haz de luz. La ruptura y el cambio de dirección del rayo incidente son debidos a que las velocidades de la luz son diferentes en el cristal y en el aire. La visión en los límites del cristal es el resultado de los cambios en estas velocidades.

Las diferentes velocidades se indican con el índice de refracción n_r , introducido en la Ecuación 8-2 de la página 284. Todos los materiales tienen un $n_r > 1$, pero para una buena aproximación $n_{r, \text{aire}} = 1$. Es decir, la velocidad de la luz en el aire es aproximadamente la misma que en el vacío.

Tal como se representa en la Figura 8.22a, un rayo incide en la superficie con un ángulo θ alejado de la normal. Es parcialmente reflejado y sigue el camino en el mismo ángulo θ pero en el lado opuesto a la perpendicular a la superficie. Esto se suele expresar como «ángulo de incidencia igual al ángulo de reflexión». Además, la luz que entra en el cristal a través de la interfase no viaja en la misma dirección que la luz incidente. Se dice que la luz en el cristal se **refracta**. **Refracción** significa simplemente que la luz es desviada. La refracción funciona de dos formas; la luz que viaja fuera del cristal es parcialmente refractada y parcialmente reflejada. Véase la Figura 8.22b. Los ángulos θ_{cristal} , que están en el cristal, y θ_{aire} están relacionados a través de la ecuación denominada **ley de Snell** que se escribe:

$$n_{r, \text{aire}} \text{ sen } \theta_{\text{aire}} = n_{r, \text{cristal}} \text{ sen } \theta_{\text{cristal}} \quad (8-22)$$

Los ángulos se miden en relación a la normal.

Ahora véase la Figura 8.23 y considérese que la luz llega *dentro* del cristal con un ángulo θ_{cristal} a la normal. Sin embargo, θ_{aire} siempre es mayor que θ_{cristal} . Para un θ_{cristal} mayor, existe un punto en el que θ_{aire} del rayo se extiende a lo largo de la superficie del cristal; la luz ya no escapa del cristal. Se produce la **reflexión total interna**. Probablemente se haya observado el efecto en una superficie de agua que parece un espejo; por ejemplo, una pecera vista por debajo de la superficie. Para que se dé la reflexión total interna, la luz debe viajar en un material con un índice de refracción mayor que el del material del otro lado de la interfase.

El ángulo más pequeño al que se da la reflexión total interna se denomina **ángulo crítico**, representado como θ_{crit} en la Figura 8.23. Su valor se obtiene aplicando el valor $\theta_{\text{aire}} = 90^\circ$ en la Ecuación 8-22, que significa simplemente que la luz refractada viaja paralela a la superficie. Ya que $\text{seno de } 90^\circ = 1$, tenemos:

$$\text{sen } \theta_{\text{aire}} = \frac{n_{r, \text{aire}}}{n_{r, \text{cristal}}} \quad (8-22)$$

para una interfase aire-cristal. La reflexión total interna se produce para todos los ángulos mayores de la normal que el ángulo crítico.

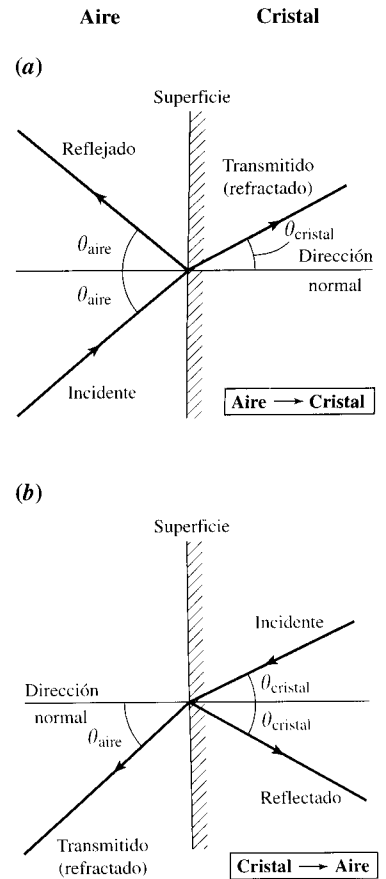


FIGURA 8.22 ▲ **Reflectancia y refracción de un rayo incidente y terminología asociada.**

- (a) El rayo incide en el lado del aire.
(b) El rayo incide en el lado del cristal.

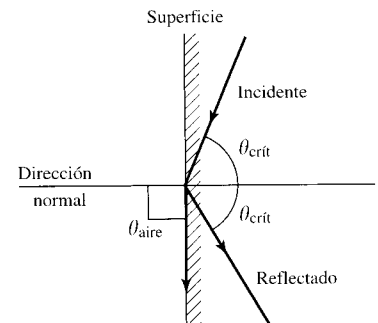


FIGURA 8.23 ▲ **Reflexión total interna.**

La reflexión total interna comienza a aparecer a partir del ángulo crítico —cuando los rayos refractados se propagan paralelos a la superficie.

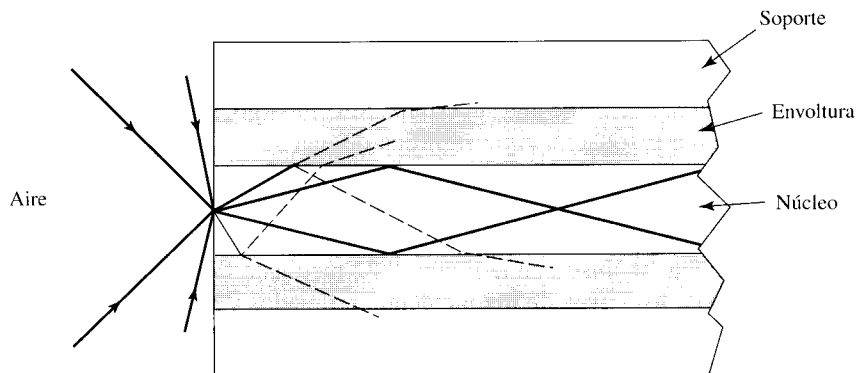
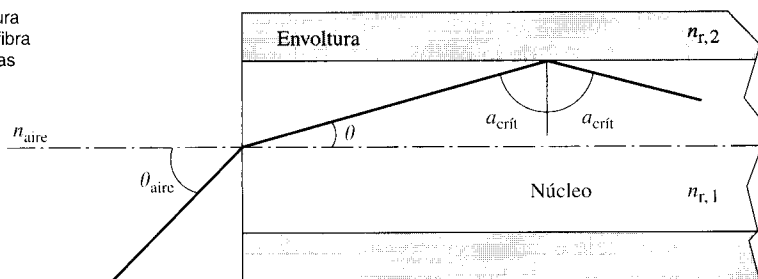


FIGURA 8.24 ► **Fabricación de una fibra óptica.**

(Superior) Geometría y (inferior) nomenclatura asociada con la luz que entra al final de una fibra óptica y se propaga a través de ella. Las líneas discontinuas indican rayos de luz atenuada.



Es esta reflexión total interna la que permite a la luz transmitirse a través de una pequeña fibra de sílice, **fibra óptica**. El índice de refracción del núcleo de la fibra es mayor que el material envolvente, el revestimiento. Las capas de una fibra óptica — núcleo, revestimiento y material que lo contiene— se representan en la Figura 8.24. Las propiedades típicas de una fibra óptica se enumeran en la Tabla 8.7.

Es importante entender dos fenómenos acerca de la reflexión total interna y las fibras ópticas. En primer lugar, no toda la luz que entra al final de la fibra se propaga a lo largo de ésta; que se propague o no, depende del ángulo con el que entre. Este ángulo se caracteriza por un número denominado **apertura numérica**. En segundo lugar, la luz que se refleja internamente penetra en la superficie a una profundidad de μm . La radiación que penetra a través de la superficie se denomina **onda evanescente**. Consideraremos a continuación la apertura numérica y después desarrollaremos los usos analíticos de la onda evanescente.

Obsérvese el dibujo superior de la Figura 8.24, donde se representan cuatro rayos incidentes. Los dos rayos centrales están en el mismo ángulo desde la normal hasta el final de la fibra, y la luz que entra en estas direcciones pasa al núcleo y choca con la superficie entre el núcleo y la envoltura en el ángulo crítico. Cualquier rayo que choque más perpendicular al fin del núcleo que éstos, se propagará también a lo largo de la fibra.

Tabla 8.7. Características de las fibras ópticas

Diámetro del núcleo	0,1-1 mm
Índice de refracción del núcleo	1,4-1,5
Índice de refracción de la envoltura	menor que el núcleo 0,02-0,2
Apertura numérica	0,1-0,5

Sin embargo los rayos que choquen a ángulos mayores que la normal —como los otros dos mostrados— tienen parte de la luz reflejada y parte refractada (líneas discontinuas). Para estos rayos más oblicuos la luz que queda en el núcleo cae rápidamente. Después de unas pocas reflexiones parciales más, prácticamente toda la luz de estos ángulos mayores habrá desaparecido del núcleo. Debe quedar claro que a mayor ángulo, por el cual la luz se puede propagar, se propagará la mayor fracción de luz a lo largo de la fibra. El efecto de la propagación a partir de ángulos mayores es como el de abrir un gran agujero, una *apertura*, al final de la fibra. El ángulo más grande aceptado para que se propague la luz se denomina θ_{aire} , y determina la anchura del **cono de aceptación** para la fibra. La Figura 8.24 representa una sección transversal del cono de aceptación.

Debe quedar claro que θ_{aire} está íntimamente relacionado con el ángulo crítico $\theta_{\text{crít}}$. Exponemos la definición de apertura numérica y, sin demostración, su relación con los índices de refracción $n_{r,1}$ y $n_{r,2}$ de la fibra.

$$\text{N.A.} = n_{r,\text{aire}} \sen \theta_{\text{aire}} = (n_{r,1}^2 - n_{r,2}^2)^{1/2} \quad (8-24)$$

Utilizando esta ecuación, se pueden entender algunas características. Los índices de refracción dependen algo de la longitud de onda y de la temperatura de la fibra. También, si la luz entra en la fibra a partir de un medio diferente al aire, entonces la apertura numérica es diferente: en la Ecuación 8-24 se utiliza $n_{r,\text{sustancia}}$ en lugar de $n_{r,\text{aire}}$. La apertura numérica normalmente se encuentra en el intervalo de 0,1-0,5.

EJEMPLO 8.10

Para una luz con una longitud de onda de 400 nm, ¿cuál es el ángulo crítico para una fibra óptica en el aire que tiene un núcleo de sílice fundida? El valor del índice de refracción de la sílice a 400 nm a temperatura ambiente es de 1,4696, y el índice de refracción de la envoltura a la misma longitud de onda es de 1,453. ¿Cuál es la apertura numérica de la fibra, y cuál la longitud del ángulo del cono de aceptación? ¿Cuál es el valor de $2\theta_{\text{crít}}$, donde $\theta_{\text{crít}}$ es el ángulo crítico de la fibra? ¿Cuál es el ángulo crítico de la interfase núcleo envoltura?

Solución:

Sustituimos los datos en la Ecuación 8-24 para calcular

$$0,22 = (1,4696^2 - 1,453^2)^{1/2}$$

El valor de $\theta_{\text{crít}}$ se encuentra por:

$$\text{arc sen} \left(\frac{0,22}{1} \right) = 12,7^\circ$$

y el ángulo de aceptación es aproximadamente 25° .

El ángulo crítico de la fibra se puede obtener utilizando la ley de Snell de la refracción

$$\sen \theta_{\text{crít}} = \frac{n_{r,\text{fibra}}}{n_{r,\text{vidrio}}} = \frac{1,453}{1,4696} = 0,988$$

y $\theta_{\text{crít}} = 58,1^\circ$.

El cálculo de la apertura numérica (y ángulo de aceptación) es demasiado extenso para hallarlo aquí¹.

Las fibras ópticas funcionan solamente en un limitado intervalo de longitudes de onda. El intervalo en el que puede utilizarse una fibra óptica depende de tres factores: la absorbancia de luz de la fibra, el material de la envoltura y la longitud a lo largo de la cual se necesita la propagación.

¹ Véase, por ejemplo, la referencia Cancellieri y Ravaoli.

La fibra óptica que se ha descrito anteriormente y que se representa en la Figura 8.24 es de tipo **índice en un paso**, donde el índice de refracción cambia en un único paso. Por otro lado, se puede hacer que el índice de refracción del núcleo cambie continuamente con la distancia al centro. Estas últimas fibras se denominan fibras de **índice en gradiente**.

Uno de los mayores usos en análisis de las fibras ópticas es para llevar luz de un lugar a otro y para realizar medidas en ambientes que son, por ejemplo, demasiado severos para introducir en ellos el espectrómetro. Por ejemplo, los sistemas de fibra óptica se utilizan para el seguimiento de aceros fundidos, en los que se puede meter directamente una sonda fría. Otros ambientes menos rigurosos son, por ejemplo, dentro de biorreactores, en plásticos fundidos preparados para la extrusión, y en líneas de cracking petrolífero, es decir, en cualquier proceso de control *on-line*. Otro proceso común es conducir la luz a pequeñas muestras o depósitos, por ejemplo, detectores de electroforesis capilar o HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento) capilar. Las fibras ópticas permiten la fabricación de sondas móviles, tales como para las muestras de acero mencionadas anteriormente, y están disponibles unidades comerciales en las que un grupo de fibras ópticas llevan luz al final de una varilla que se puede insertar en un cilindro de reactivos en polvo para determinar el espectro en varios lugares de la superficie, con el fin de determinar su homogeneidad y pureza química. También, se utilizan las fibras ópticas para el seguimiento de materiales termocrómicos (el espectro cambia con la temperatura) sirviendo como un termómetro remoto que no es sensible a las interferencias eléctricas. El espectro termocrómico está relacionado con la temperatura de localización de los materiales y la del otro extremo de la fibra. Una segunda clase de termómetros ópticos actúa detectando los cambios en el índice de refracción del cristal con la temperatura.

HPLC capilar, Capítulo 14; electroforesis capilar, Capítulo 16.



Sonda de fibra óptica.
Un espejo a través de cuya puerta de entrada se refleja el rayo de luz.

Reflexión total atenuada

La onda evanescente que alcanza el exterior de la superficie donde se produce la reflexión total interna, interacciona con el material en el lado exterior de la superficie. Si el lado exterior de la superficie absorbe luz a la longitud de onda que se está propagando, la luz que viaja internamente a través del material está atenuada, y se puede registrar el espectro del material inferior. Este tipo de muestreo es muy efectivo para sólidos y líquidos, especialmente en las regiones del infrarrojo medio y del infrarrojo cercano. El instrumento utilizado para esta espectrometría de **reflexión total atenuada (ATR)** se representa en la Figura 8.25.

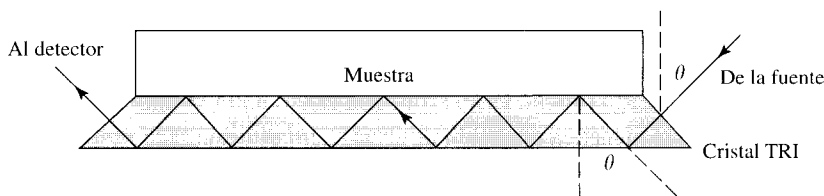


FIGURA 8.25 ▲ Geometría de una unidad de muestra de reflexión total atenuada (ATR)

La luz incidente choca con la superficie de la muestra al ángulo elegido que es el mismo que el ángulo que corta el final del cristal. La luz se sitúa para que el rayo incidente choque perpendicularmente al final del cristal (una geometría que minimiza la luz reflejada o cambia sus propiedades de polarización). La luz se propaga por reflexión total interna (TRI). La muestra podría colocarse también en la superficie inferior. Los cristales cilíndricos y las fibras ópticas pueden tener muestras en sus alrededores.

La cantidad de muestra que se analiza mediante onda evanescente depende de cuatro parámetros:

- La geometría óptica,
- La longitud de onda de la luz,
- El índice de refracción de la muestra,
- El índice de refracción del material a través del cual viaja la luz (el **crystal ATR**).

Una medida de la cantidad de muestra es la **profundidad efectiva de penetración** de la onda evanescente. Esta profundidad efectiva se puede calcular a partir de la siguiente ecuación, que no se demuestra.

$$d_p = \frac{\lambda_{\text{aire}}}{2\pi n_c \left[\sin^2 \theta - \left(\frac{n_{r, \text{muestra}}}{n_{r, c}} \right)^2 \right]^{1/2}} \quad (8-25)$$

Aquí,

$n_{r, c}$ y $n_{r, \text{muestra}}$ son los índices de refracción del cristal y de la muestra, respectivamente;

θ es el ángulo de incidencia en la superficie del cristal; y

λ_{aire} es la longitud de onda (dentro del cristal $\lambda_c = \lambda_{\text{aire}}/n_{r, c}$).

En la Tabla 8.8 se dan algunos números representativos para los índices de refracción. Obsérvese, que no se puede cuantificar el espectro si $n_{r, c} < n_{r, \text{muestra}}$ ya que no se produce reflexión total interna.

En la Figura 8.26 se muestra un gráfico de d_p para dos disolventes bien conocidos *versus* la longitud de onda. Una regla general a seguir es que $d_p \sim 0,1 \lambda_{\text{aire}}$. En la Ecuación 8-25, λ se encuentra sólo en el numerador. Además, no hay mucha dependencia con el disolvente, ya que el intervalo de índices de refracción para casi todos, excepto algunos líquidos especiales, varía aproximadamente en un factor de dos.

Tabla 8.8. Índices de refracción a 20°C

Sustancia	Intervalo	n
ZnS	Infrarrojo	2,2
	Visible	2,4
Agua	Visible	1,335
CCl ₄	Visible	1,460
Diamante	Visible	2,417

EJEMPLO 8.11

¿Cuál es la profundidad de la penetración efectiva a 2000 cm^{-1} de una muestra en la que el ángulo de incidencia del cristal es 45° , el cristal ATR es ZnS, y la muestra tiene un índice de refracción de 1,3?

Solución:

Conviértase el número de onda en longitud de onda. 2000 cm^{-1} equivale a $5 \times 10^{-4} \text{ cm}$. (La frecuencia es la misma, por lo que la absorción permanece a la misma $E = hv$.)

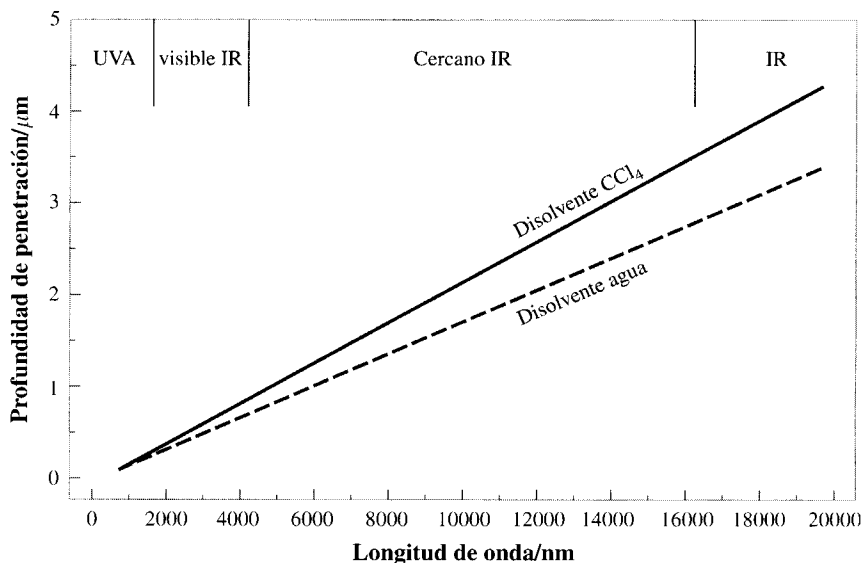


FIGURA 8.26 ►
Gráfico del cálculo
de la profundidad de penetración
de la luz para dos disolventes
diferentes.

El cristal TIR es ZnS. La luz choca con un ángulo de 45° . La profundidad es del orden de micras.

En la Tabla 8.8 podemos ver que $n_{r,c}$ es 2,2. Colocando los valores apropiados en la Ecuación 8-25 da

$$\begin{aligned}
 d_p &= \frac{5 \times 10^{-4}}{2 \cdot 3,14 \cdot 2,2 \left[\sin^2 45^\circ - \left(\frac{1,3}{2,2} \right)^2 \right]^{1/2}} & (8-25) \\
 &= \frac{5 \times 10^{-4}}{13,8[0,5 - 0,35]^{1/2}} \\
 &= \frac{5 \times 10^{-4}}{5,3} = 0,9 \times 10^{-4} \text{ cm} = 9 \mu\text{m}
 \end{aligned}$$

Nuestro cálculo sugiere que $d_p = 0,2 \lambda_{\text{airey}}$, que es el intervalo que sugiere la norma general.

La absorbancia medida mediante el ATR depende, por supuesto, del volumen total de muestra en la onda evanescente. El volumen total depende del área cubierta y de la fracción de volumen que es, en efecto, el material de la muestra. Por ejemplo, el polvo puede estar poco o muy compactado, y la fracción de volumen sólida es mayor en el material compacto. Como cabe imaginar, el trabajo cuantitativo es extremadamente difícil con muestras pulverizadas. Sin embargo, el trabajo cuantitativo con líquidos es más fácil. Además, muestras como tejidos, hilos, trozos de carne, o geles y líquidos viscosos, se pueden colocar directamente en la superficie de un cristal ATR y medir su espectro. Un reciente descubrimiento de cristal ATR es el diamante, que elimina los problemas de escamas y la reactividad química presente en otros materiales ATR.

Los métodos de ATR se han adoptado para uso con fibra óptica, en los que se coloca un espejo al final de la fibra para reflejar la luz, y se elimina la envoltura del extremo para alguna longitud. La superficie libre de envoltura se puede recubrir con un pequeño espesor μm de un polímero poroso solvatado que contiene un reactivo coloreado, o el reactivo se une covalentemente a él. Ya que la geometría y los índices de refracción son



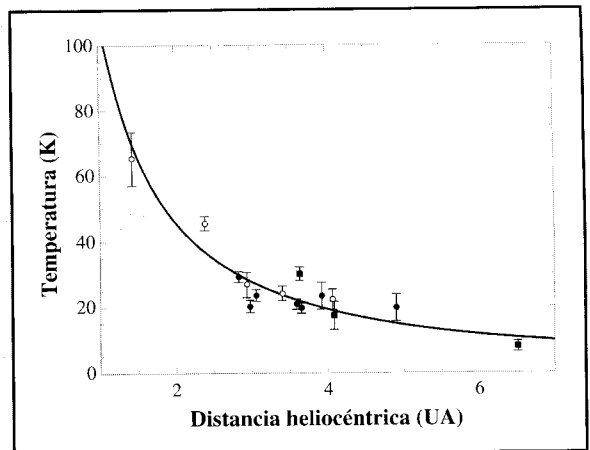
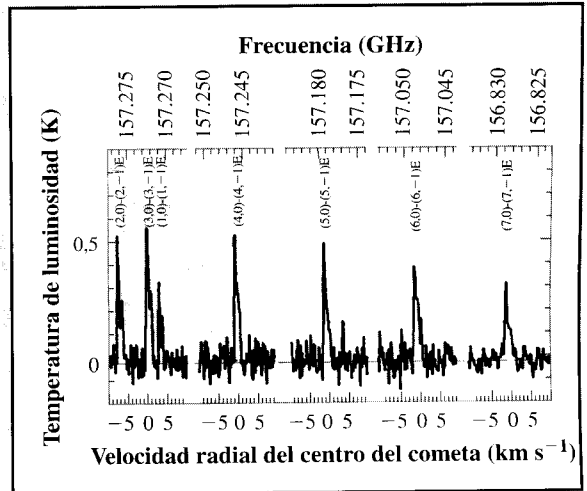
CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 8-3

Presentación de un coma (sensor realmente remoto)

En la primavera de 1977, Hale-Bopp, el cometa más brillante del siglo, pasó a través del sistema solar y ofreció una extraordinaria oportunidad para el estudio de la química del coma, la región más turbia del núcleo del cometa. Los datos para la caracterización química se obtuvieron mediante espectrometría de emisión molecular, en el intervalo de las microondas. Las emisiones producidas por las rotaciones moleculares y sus frecuencias permiten identificar moléculas y fragmentos moleculares específicos. Un ejemplo del espectro de líneas para el metanol se muestra en la figura superior. Otras moléculas identificadas incluyen CO, HCN, OH, H₂S, H₂CO, CS, CH₃CN, HNC, NH₃, OCS y HNCO. Registrando la intensidad de estas líneas se puede calcular la concentración de las moléculas. El estudio de estos datos espectrales y el conocimiento de la química de los materiales permiten establecer un modelo químico de los procesos químicos que tienen lugar cuando el cometa está próximo al sol. Se ha encontrado que el comportamiento espectral es consistente con la presencia de H₂O y CH₃OH que subliman a partir de granos congelados y moléculas de CO que salen en forma de gas, en su mayoría del núcleo del cometa, cuando estaba lejos del sol. Cuando el cometa está más cerca del sol el agua reemplaza al CO como la principal especie del coma.

Además, las intensidades *relativas* de las líneas rotacionales de las mismas especies moleculares nos llevan a calcular la temperatura molecular. La temperatura del cometa aumenta si se aproxima al sol (su distancia heliocéntrica), tal como se representa en la figura inferior. La abreviatura UA significa unidad astronómica, que es el significado de la distancia tierra-sol.

Se obtiene más información del desplazamiento Doppler de las líneas, que depende de la velocidad de la fuente espectral (el cometa) relativa al observador. (El cambio se da mediante la fórmula $-v/\lambda$ Hz.) La mayoría de las líneas espectra-



les se desdoblán hacia el azul, lo que indica que los materiales vaporizados fluyen principalmente a partir de las zonas de sol próximas al cometa.

[Ref.: N. BIVER, D. BOCKELÉE-MORVAN, P. COLOM, J. CROVIER, J. K. DAVIES, W. R. F. DENT, D. DESPOIS, E. GÉRARD, E. LELLOUCH, H. RAUER, R. MORENO, G. PAUBERT. 1997. «Evolution of the outgassing of comet Hale-Bopp (C/199501) from radio observations.» *Science* 275:1915-1928.] ■

constantes, los cambios espectroscópicos se pueden medir de nuevo cuantitativamente. El espectro se puede registrar para indicar los cambios químicos en un volumen de nanolitros en los alrededores del extremo de la fibra. Por ejemplo, si se utiliza un indicador de pH, se puede utilizar el espectro para medir el pH. Tales sondas ópticas ATR se utilizan para hacer medidas de procesos *on-line*. Para medidas de pH, esta sonda no da lugar al ruido eléctrico, que es el problema mayor con electrodos de vidrio en presencia de motores y otros equipos eléctricos.

8.14. Espectrometría de reflectancia difusa

Antes de describir brevemente otra **espectrometría reflectante** común, vamos a exponer de forma general las propiedades de la luz reflejada. La luz reflejada se puede clasificar en dos categorías. La primera es la luz que vuelve de una superficie lisa. Esta luz se denomina reflexión **especular**, y se ve cuando se refleja la luz de un espejo o, más generalmente, cuando en una superficie plana se produce un cambio en el índice de refracción. Los pasos de luz para la reflexión especular se muestran en la Figura 8.27. La reflexión total interna —descrita en secciones previas— es otro ejemplo de reflexión especular.

La segunda clase de luz reflejada es cuando la luz se dispersa en todas las direcciones debido a interfases rugosas entre, por ejemplo, un sólido y un gas, o un sólido y las interfases cristalinas. (Véase la Figura 8.27.) Esta dispersión se denomina reflexión **difusa**. La cantidad de luz reflejada se cuantifica como **reflectancia**, que es la *relación* entre el flujo de luz total reflejado y el flujo incidente total. Sin embargo, la medida exacta y precisa de esta relación no es tan simple como parece. Después de esto, si la reflexión es difusa —se extiende en todas direcciones— se puede detectar la luz a los distintos ángulos. Las medidas más precisas de la reflectancia difusa se hacen utilizando una **esfera integrada**. En la Figura 8.28 se muestra un diagrama del dispositivo. La esfera integrada recoge toda la luz que vuelve hacia la superficie: correctamente expuesta, su dirección de propagación es la parte del hemisferio supe-

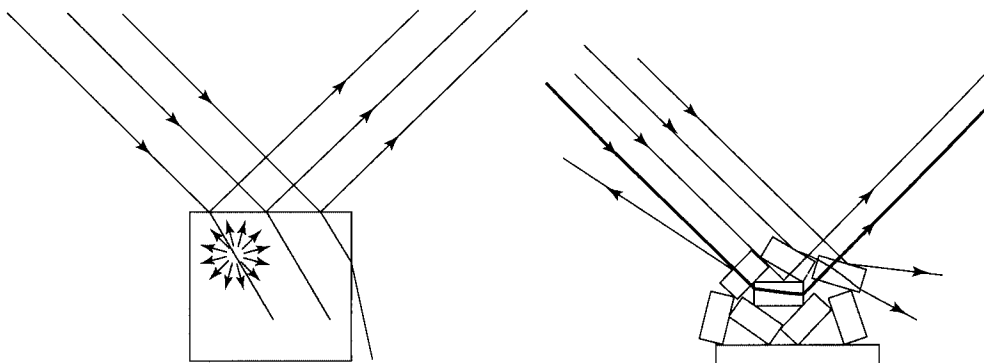


FIGURA 8.27 ▲ **Interacción de la luz con un gran cristal imperfecto y un grupo de pequeños cristales, tal como ocurriría con muestras reflectadas.**

La luz que retorna hacia arriba tiene la misma longitud de onda que la de la fuente. El cristal grande tiene una gran cantidad de reflexión especular, junto con la dispersión de la luz por las imperfecciones del cristal. Los cristales pequeños actúan como las imperfecciones del cristal grande, pero debido a las orientaciones aleatorias de las superficies, la luz que retorna hacia arriba es más aleatoria en su distribución angular. Además, la luz no penetra a través de toda la masa de cristales pequeños debido a las múltiples reflexiones y refracciones de las superficies.

rior. De la luz recogida en la esfera integrada, una fracción constante de la radiación alcanza el detector.

Experimentalmente, la relación de reflectancia se encuentra comparando el espectro de la luz reflejada por las muestras con el espectro de la luz reflejada por los estándares, los cuales tienen altas **reflectividades**, en un amplio intervalo de longitudes de onda. En la Figura 8.29 se muestra el espectro de reflectancia de los tres estándares más comúnmente utilizados. (Los mismos materiales se utilizan también para cubrir la superficie interna de la esfera integrada). Sin embargo, la muestra no debe proporcionar una absorbancia elevada, con el objeto de hacer medidas cuantitativas. La razón se explica a continuación.

Vamos a considerar cómo se difracta y absorbe la luz cuando aumenta la absorbancia, para una partícula representativa grande y una pequeña. Véase la Figura 8.30. Cuando se produce una pequeña o nula absorción, la luz se dispersa en las superficies y en las imperfecciones de los cristales. Si la muestra es el fondo de una esfera integrada, se pierde, aproximadamente, la mitad de la luz —la mitad de la que queda pasa al interior de la esfera—. La otra mitad se recoge. No hay grandes diferencias entre partículas grandes y pequeñas.

Ahora, vamos a suponer que las partículas contengan, a baja concentración, especies que absorben luz. La definición de «baja» es que la luz se dispersa como antes, pero la absorbancia para la longitud de paso óptico a través de la muestra es menor que apro-

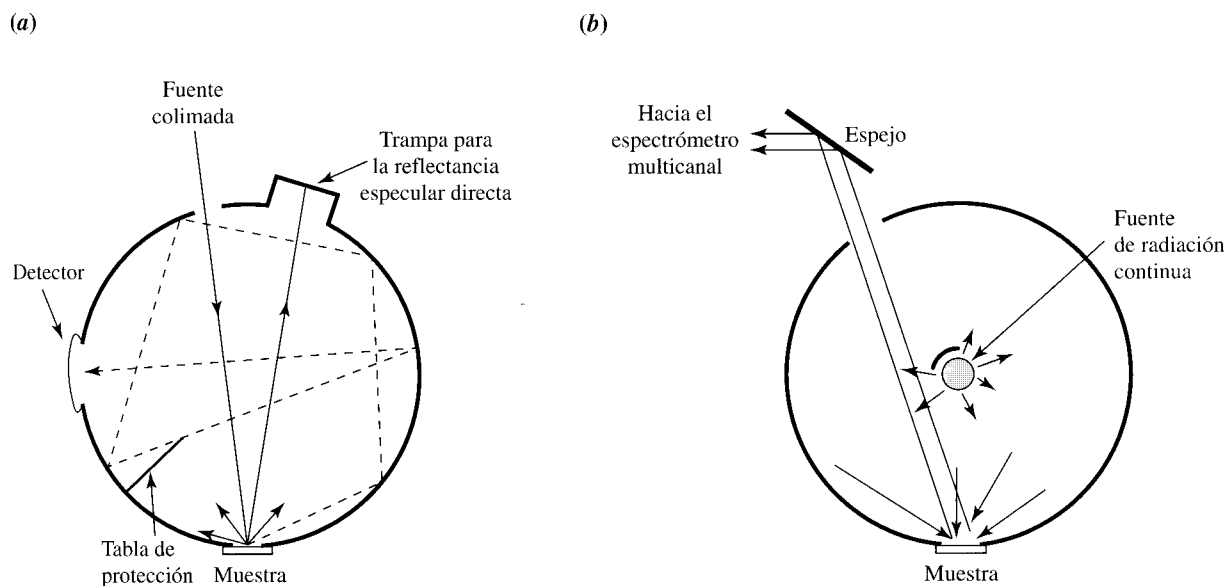


FIGURA 8.28 ▲
Esferas integradas.

(a) Un tipo de diseño de esfera integrada se coloca en el compartimento de la muestra de un espectrómetro. La superficie interior se recubre con un material altamente reflectante en la región de longitudes de onda de interés. El espectro de algunos materiales se muestra en la Figura 8.29. La tabla de protección protege de la radiación directa reflejada de la muestra del paso hacia el detector, mientras que la geometría asegura que el detector responda a fracciones fijas de luz reflejada por la muestra. La media de luz total reflejada se produce debido a la aleatoriedad de la dirección de la luz de las múltiples reflexiones en la superficie de la esfera, tal como se indica mediante el único rayo de luz de líneas discontinuas. Otros diseños recogen la luz reflejada en sólo una parte de la esfera. En este caso, una pequeña fracción de la luz difusa reflejada se recoge, pero la calidad de la medida puede no ser tan buena como en la esfera completa. (b) Una esfera integrada para uso con un espectrómetro multicanal. Aquí, la luz irradiada de forma difusa de la muestra y en direcciones aleatorias junto con la luz que se refleja directamente de la muestra se recoge y detectan.

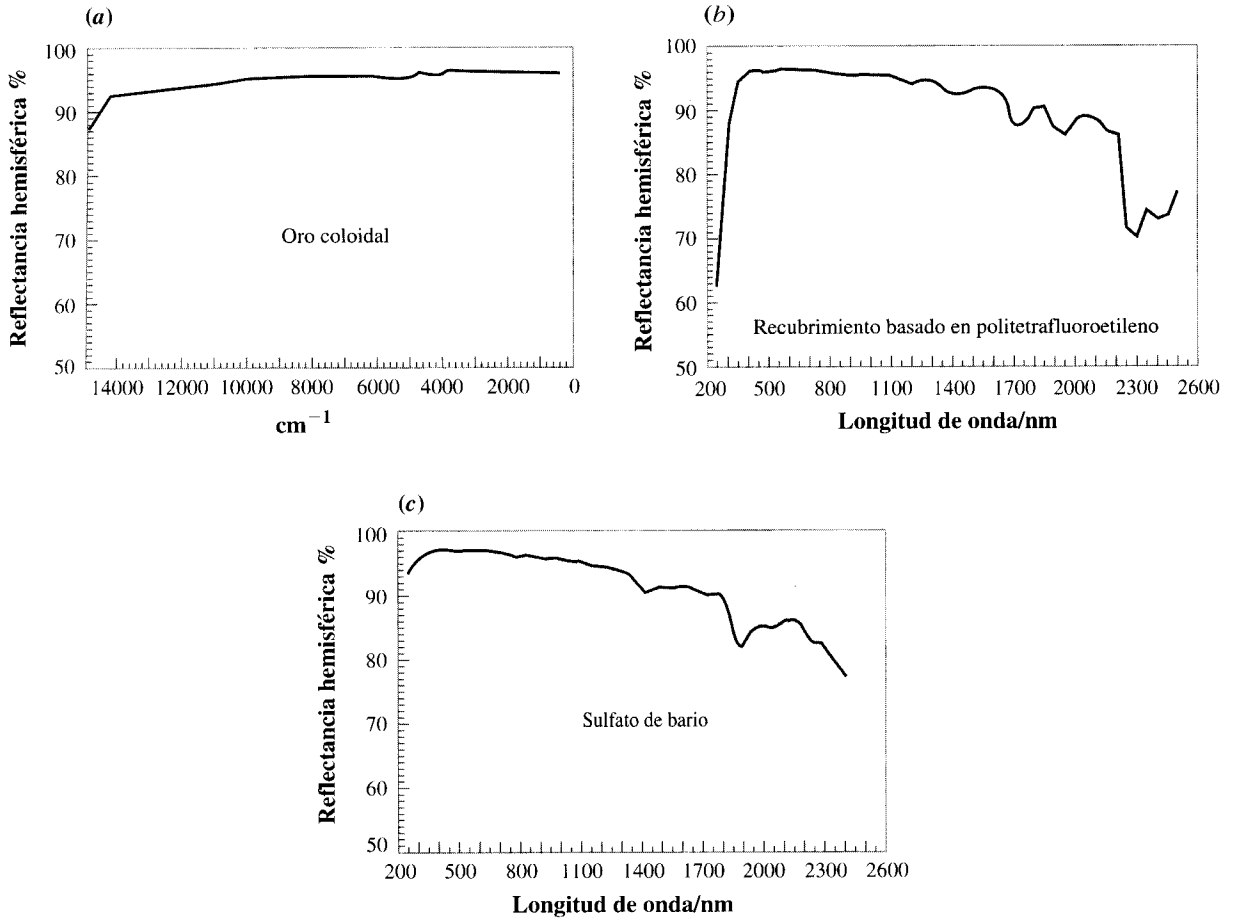


FIGURA 8.29 ▲
Espectros de tres estándares para espectrometría de reflectancia.

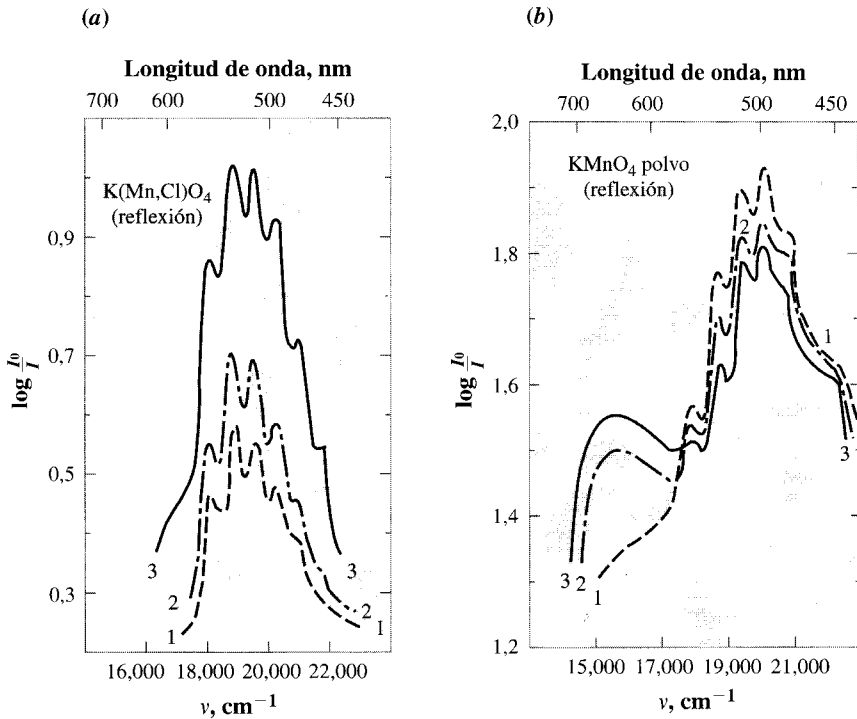
(a) oro coloidal, (b) microgotas de politetrafluoroetileno y (c) sulfato de bario.

El oro coloidal se utiliza corrientemente en el infrarrojo, mientras que BaSO₄ y PTFE (Teflón) se utilizan en el visible—infrarrojo cercano.

ximadamente 1. En este caso, el espectro que se mide puede aproximarse al espectro que obtendríamos en un espectro de transmisión.

Ahora, vamos a aumentar la concentración para que la Absorbancia ≈ 3 para una trayectoria media a través de la partícula mayor y a *algunas longitudes de onda del espectro*. En este caso, se encontrarán dos efectos diferentes.

Primero, para la partícula grande, en el pico del espectro, la luz se absorbe solamente en una distancia pequeña dentro de la superficie, y la partícula es opaca a esa longitud de onda. Sin embargo, en la región en la que la absorbancia en el espectro es baja, la luz actúa todavía como en el caso de la menor concentración. En otras palabras, para medidas de reflectancia en estos intervalos de mayor absorbancia, *la longitud de paso efectivo por el que pasa la luz depende de la absorbancia*. Un efecto práctico de esta diferencia en el paso es distorsionar la escala de absorbancia. Los picos se hacen más llanos en las regiones altas, pero el espectro a las longitudes de onda de baja absorbancia permanece inalterado.



◀ FIGURA 8.30
Cambios en un espectro de reflectancia con la concentración.

Ambos espectros son para KMnO_4 . El espectro en (a), con la escala vertical de 0,3-1, es para KMnO_4 al 0,17%. El espectro en (b) con la escala vertical de 1,2-2,0, es para KMnO_4 puro. Los tres diferentes espectros se recogen para muestras con tamaños de partículas diferentes. Estos tamaños son (1) $1 \mu\text{m}$, (2) $5 \mu\text{m}$, y (3) $50 \mu\text{m}$. Nótese especialmente lo siguiente. El orden en la posición está invertido entre las muestras concentradas y diluidas a $450\text{-}600 \text{ nm}$, lo que se explica en la Figura 8.31. Las curvas de reflectancia cortan la muestra más concentrada a aproximadamente a 570 nm . Los picos de estructura vibracional fina están distorsionados en la muestra concentrada. La distorsión se produce por los picos de las longitudes de onda de la muestra de menos volumen que las que absorben menos longitudes de onda. [Reimpreso de *International Lab.*, Vol. 29-38. Copyright 1975 by International Scientific Communications, Inc.]

Otro efecto es que a la longitud de onda en la que se produce la mayor absorbancia, las partículas más pequeñas contribuyen relativamente más al espectro que las partículas más grandes. ¿Por qué ocurre esto? La razón es doble.

1. Una fracción diferente del volumen de distintas partículas contribuye a la absorción. Véase la Figura 8.31. Los lados internos y alejados de las partículas grandes no son muestreados por la luz, ya que se absorbe antes de alcanzarlos. Mientras tanto, las partículas pequeñas son muestreadas en su volumen total.
2. Las partículas pequeñas contribuyen al espectro en una proporción mayor que su contenido inherente ya que la reflectancia difusa es proporcional a la sección geométrica transversal de las partículas, y la sección transversal no aumenta tanto como el volumen. Por ejemplo, suponemos que las partículas son esferas. El volumen de una esfera es $(4/3)\pi r^3$, mientras que su sección transversal es un disco con área πr^2 . Si, se dice, una muestra tiene partículas mayores y menores de la misma densidad, y el peso de las partículas mayores es ocho veces el de las pequeñas presentes, las partículas mayores tienen un radio que es el doble del radio de las pequeñas. Pero las partículas mayores tienen un disco de sección sólo cuatro veces el de las pequeñas. El área presentada al haz, y, por tanto, su reflectancia difusa, no es proporcional a la masa.

De estas dos propiedades, podemos deducir un resultado general: *excepto en la región del espectro en la que la absorbancia es baja, las partículas pequeñas contribuyen más al espectro que las partículas grandes dentro de un mismo material*. Este efecto sugiere que para obtener resultados cuantitativos, se puede trabajar a bajas concentraciones y, si es posible, trabajar con tamaños de partícula homogéneos. Si el material es muy absor-

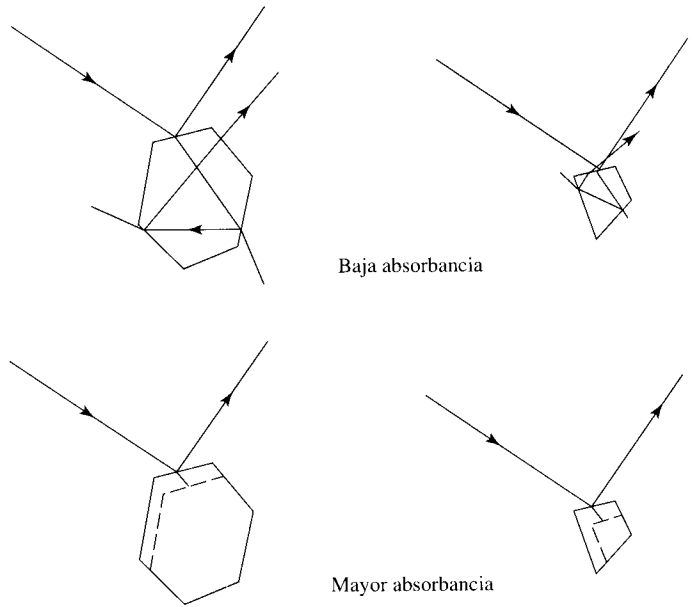


FIGURA 8.31 ► **Representación de las diferencias en la reflectancia difusa entre partículas de absorbancia alta y baja con diferentes tamaños de partícula.**

(Superior) Con baja absorbancia, la cantidad de luz dispersa en la dirección superior depende sobre todo del índice de refracción. **(Inferior)** Cuando la absorbancia es alta (en algún intervalo de longitudes de onda), la dispersión y la absorción alcanzan la mayor parte de la región de la superficie. La luz que llega al detector no muestrea más allá de la línea de puntos en la figura. Una fracción mayor de partículas más grandes contribuye al espectro, y el espectro se distorsiona. Además, el volumen muestreado depende de la absorbancia. Es decir, si se absorbe a longitudes de onda menores se muestrean mayores fracciones de volumen.

bente, entonces se prefieren tamaños de partícula más pequeños para alcanzar la absorción de todo el volumen de las partículas. Se deben evitar los materiales en capas.

Si seguimos el argumento anterior, la calidad física del sólido afecta también al espectro. Por ejemplo, si existen huecos en el material, éstos proporcionan una superficie interior que difracta la luz. En efecto, hacen que el espectro de reflectancia surja a partir de partículas más pequeña que su verdadero tamaño, ya que antes de llegar al lado opuesto alcanza una interfase aire-sólido. También las muestras en polvo de tamaño muy pequeño pueden causar problemas; véase la Figura 8.31.

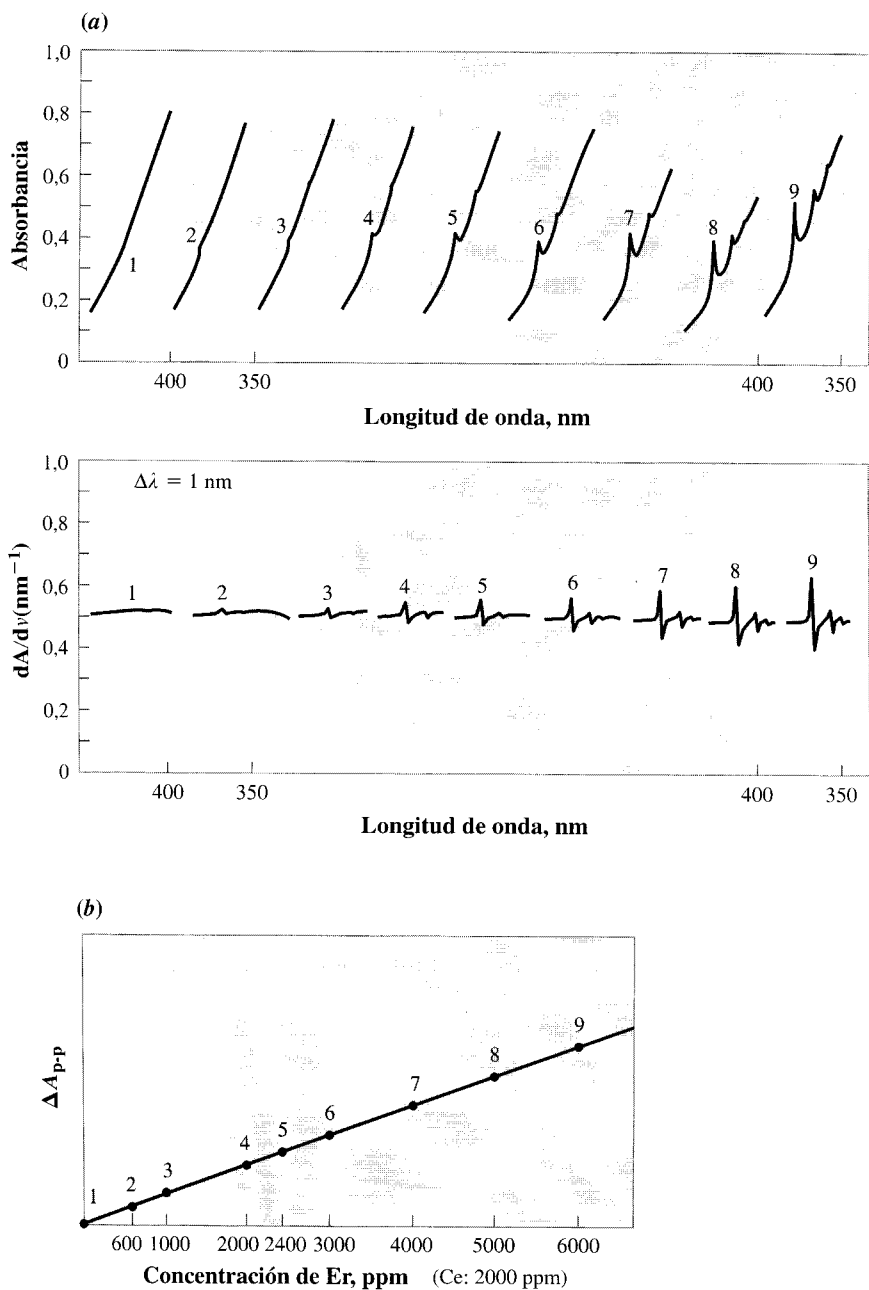
Conviene señalar aquí una advertencia final. Los análisis del espectro de reflectancia difusa mediante valores de reflectancia generalmente utilizan la **función de Kubelka-Munk**,

$$\frac{(1 - R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = \frac{k}{s}$$

donde k es el coeficiente de absorción, s es el coeficiente de dispersión y R_{∞} es la reflectancia de una capa opaca infinitamente delgada. Esta ecuación ha sido útil pero incorrectamente formulada. Hapke describe minuciosamente, los detalles de la misformulación y la forma correcta del análisis matemático, en la Sección 11 de su libro, citado en la bibliografía recomendada en este capítulo.

8.15. Espectrometría derivada

Espectrometría derivada hace referencia a una representación en forma de gradiente de la absorbancia *versus* la longitud de onda (o energía), es decir, $dA/d\lambda$ *versus* longitud de onda en lugar de A *versus* longitud de onda. La ventaja de este tipo de representaciones es que se enfatizan pequeños cambios relativamente rápidos en el espectro en comparación con un fondo que cambia más lentamente sobre el intervalo de longitud de onda. En la Figura 8.32 se muestra el espectro de absorbancia y de absorbancia derivada de la misma muestra. Obsérvese que la altura del pico del espectro derivado es proporcional a la concentración. La prueba de esta afirmación se muestra en el Ejercicio 8.26.



◀ Figura 8.32
Espectro de absorción y su derivado.

Espectro de absorción y espectro derivado de una disolución de una sal de erbio (que consiste en líneas estrechas) en presencia de una sal de cerio (que proporciona una amplia absorción de fondo). Haciendo un espectro derivado se suprime el fondo ancho, de forma que se acentúan las características agudas. La cuantificación se puede hacer mediante la medida de la altura de pico a pico del espectro derivado, tal como se muestra en la figura ΔA versus concentración de Er. La concentración de Ce es 2000 ppm y constante. Las concentraciones de erbio (1-9) son, respectivamente, 0, 600, 1000, 2000, 2400, 3000, 4000, 5000 y 6000 ppm. [Ref.: Reimpresión con permiso de Porro, T. J. 1972. *Anal. Chem.* 44(4), 93A-103A. Copyright 1972 American Chemical Society.]

8A. Profundizando: Separación de la longitud de onda: interferencia, difracción, redes y filtros

En esta sección se describen las ideas básicas de las interferencias de las ondas. El objetivo es mostrar los fundamentos de cómo trabajan las **redes de difracción** e interferómetros para aislar bandas estrechas de un amplio intervalo de luz. Una red espectroscópica es un dispositivo que puede **dispersar** la radiación electromagnética. Dispersar significa expandir las diferentes longitudes de onda en diferentes ángulos. Se dispone de

numerosos tipos de redes para dispersar la luz en los diferentes intervalos de longitudes de onda desde el infrarrojo a los rayos X. (Un prisma también dispersa la luz blanca en sus diferentes componentes coloreados.)

A diferencia de las redes y prismas, los interferómetros no dispersan la luz sino que sólo permiten pasar estrechas bandas a través de ellos. Los interferómetros se utilizan para la luz en la región de UV-visible-infrarrojo-infrarrojo lejano. Se seleccionan bandas estrechas de radiación a longitudes de onda mayores mediante filtros de radiofrecuencia de diversos tipos, que no se tratan aquí. Las longitudes de onda más cortas que los rayos X no se pueden separar en estos pasos.

Interferencia constructiva y destructiva de dos ondas estacionarias

Supongamos, tal como se representa en la Figura 8A.1, que se encuentran dos ondas en el mismo espacio, ambas con la misma amplitud A_0 y frecuencia ν . Sin embargo, los picos (y los valles) no coinciden. La onda A_1 se puede describir así:

$$A_1 = A_0 \text{ sen } 2\pi\nu t \tag{8A-1}$$

Una ecuación general para la onda A_2 que describe cualquier posición relativa a A_1 es:

$$A_2 = A_0 \text{ sen } (2\pi\nu t + \Phi) \tag{8A-2}$$

donde Φ es el **cambio de fase**. En el ejemplo representado en la Figura 8A.1, Φ es igual a $\lambda/4$, o, equivalentemente, 90° , o $\pi/2$ radianes.

Para las ondas dibujadas en la Figura 8A.2, A_1 está de nuevo definida por la Ecuación 8A-1. La onda A_2 se describe como:

$$A_2 = A_0 \text{ sen } \left(2\pi\nu t + \frac{\lambda}{2} \right) = -A_0 \text{ sen } (2\pi\nu t) \tag{8A-3}$$

La suma de las dos, $A_1 + A_2$, es igual a cero siempre —el límite de la **interferencia destructiva** por dos ondas idénticas *fuera de fase* exactamente $\lambda/2$ —. Este límite de interferencia destructiva se presenta cuando las fases difieren cualquier múltiplo *impar* de $\lambda/2$, tales como $\lambda/2, 3\lambda/2, 5\lambda/2, \dots, (2m + 1)\lambda/2$.

Se puede ver en la Figura 8A.3 qué pasa cuando las diferencias entre las posiciones de las ondas es *igual* a la longitud de onda. Los picos añadidos a los picos y los valles a los valles. Entonces,

$$A_1 + A_2 = 2 A_0 \text{ sen } (2\pi\nu t)$$



FIGURA 8A.1 ▲
Representación de los senos de ondas de igual amplitud y longitud de onda (o frecuencia) en la misma región del espacio.

Están fuera de fase (o *fases desplazadas*) en $\lambda/4$ o cualquier valor de $(4m + 1)\lambda/4$, donde m es un número entero.

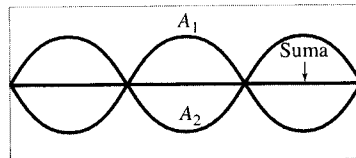


FIGURA 8A.2 ▲
Representación de los senos de ondas de A_1 y A_2 que están en la misma región del espacio e iguales en frecuencia y amplitud.

Están desplazadas las fases en $\lambda/2$ o cualquier valor de $(2m + 1)\lambda/2$, donde m es un número entero. Su suma en cualquier punto es cero. Esta es la explicación para la interferencia destructiva.

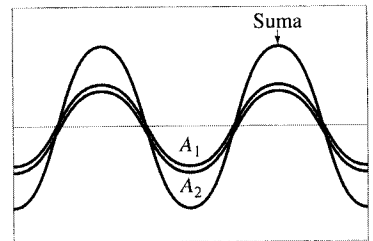


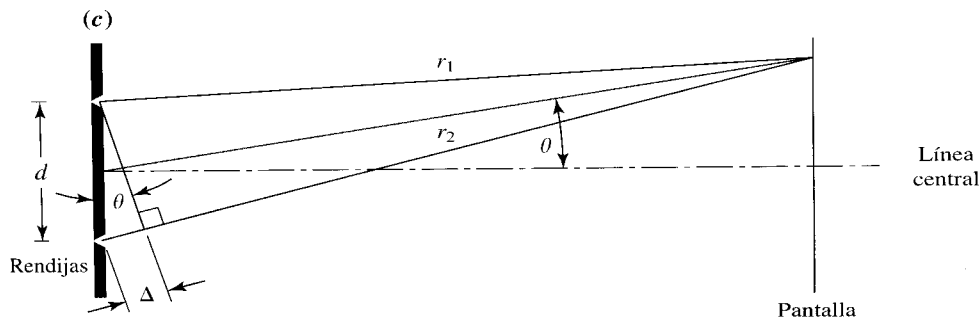
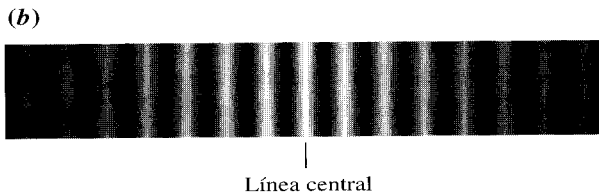
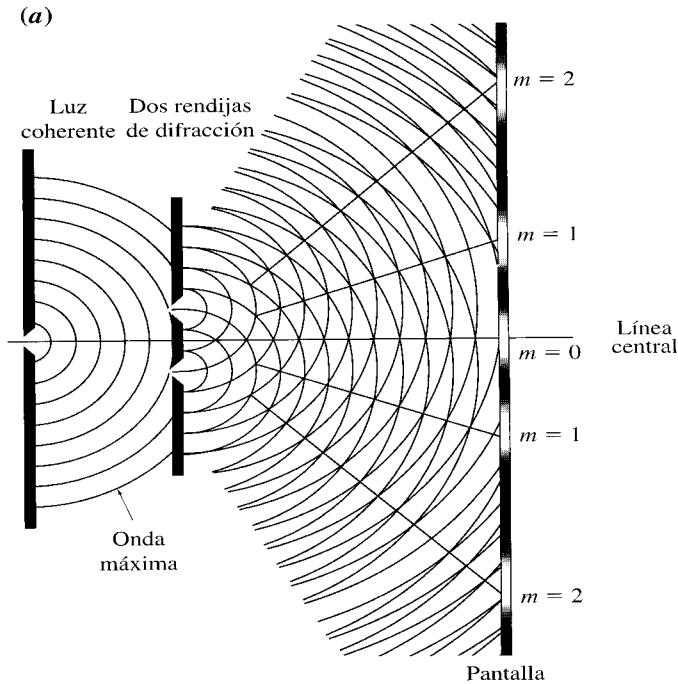
FIGURA 8A.3 ▲
Representación de los senos de ondas de A_1 y A_2 que están en la misma región del espacio e iguales en frecuencia y amplitud.

Están desplazadas las fases en λ o cualquier valor de $m\lambda$. La suma de sus amplitudes es en todos los puntos el doble de su amplitud individual. Ésta es la explicación para la interferencia constructiva. (Las dos ondas están fuera ligeramente para permitir que aparezcan en la figura.)

La suma de las ondas tiene una amplitud igual a la suma de las ondas originales —límite de la **interferencia constructiva**—. La máxima interferencia constructiva, aparece cuando la diferencia en Φ es algún múltiplo de λ , es decir, $2\lambda, 3\lambda, \dots, m\lambda$.

Difracción con doble rendija

Este fenómeno y la geometría de dos rendijas de difracción se representa en la Figura 8A.4. Cuando la luz brilla sobre un pantalla a una distancia a través de dos rendijas idénticas paralelas, que están muy próximas en un material opaco, se observa un patrón de bandas de luz y sombras sobre la pantalla. Si la luz simplemente brillara a través de las



◀ FIGURA 8A.4
Representación del resultado de dos rendijas de difracción de luz.

(a) La luz pasa a través de una única rendija que hace que actúe como si todas las longitudes estuvieran en fase (**coherente**). (Se puede utilizar un láser.) Esta luz pasa entonces a través de dos rendijas finas perpendiculares a la página y cae sobre la pantalla representada a la derecha. Cada rendija actúa como una fuente de luz. La radiación tiene picos y valles de campo eléctrico, como ondas en el agua.

(b) Aparece una imagen en la pantalla: una serie de líneas de luz y de sombra que se extienden a ambos lados a partir de la línea que depende del ángulo. Estas regiones de luz y de sombra se extienden como regiones en las que alternan las interferencias constructivas y destructivas. Las regiones de luz aparecen cuando el paso de diferencia entre las dos rendijas a la pantalla ($r_1 - r_2$) es equivalente a la diferencia de $m\lambda$. La diferencia en la longitud se muestra mediante Δ en (c). Esta diferencia en la distancia está relacionada con el ángulo al que la banda de luz aparece; algebraicamente $m\lambda = d \sin \theta$. La línea brillante central es en la que $m = 0$ y se denomina línea de orden cero. Las dos líneas a ambos lados de ésta aparecen cuando $m = 1$ y se denominan de primer orden. Esta nomenclatura continúa: segundo orden, tercer orden, y cuarto. Para más detalles véase cualquier libro o texto de introducción a la física.

rendijas, se podría esperar ver una sombra con dos líneas brillantes, no el patrón que se ve. La aparición de estas numerosas bandas de luz distribuidas sobre un amplio ángulo muestra que los rayos de luz se están torciendo. Esto se denomina **difracción** de la luz.

Como se puede observar, la intensidad de la luz varía con el ángulo. (Podemos llamarlo ángulo θ , tal como se muestra en la figura. Su origen se encuentra entre las rendijas.) El espacio entre las bandas depende de la distancia entre las rendijas, d . El centro de una banda de luz (iluminada) ocurre a

$$d \sin \theta = m\lambda; \quad m = 0, 1, 2, 3, \dots \quad (8A-4)$$

El centro de una banda oscura ocurre a

$$2d \sin \theta = m\lambda \quad \text{o} \quad d \sin \theta = \frac{m\lambda}{2}; \quad m = 1, 2, 3, \dots \quad (8A-5)$$

La difracción y la aparición de bandas de brillo y oscuridad resulta de las diferencias en la interferencia, que dependen del ángulo. Las ondas de luz interfieren constructivamente para formar bandas de luz o destructivamente para originar áreas oscuras. Se proporcionan más detalles en la Figura 8A.4.

Se numeran las bandas brillantes a partir de la del medio que es el nivel cero. A partir de aquí, las bandas a *ambos* lados del medio se numeran mediante valores de números enteros que aumentan $-1, 2, 3, \dots$ a partir del centro. Los niveles de las bandas $1, 2, 3, \dots$ se refieren a **primer orden, segundo orden, tercer orden**, y así sucesivamente. Además, los valores numéricos de los órdenes se igualan al valor de m en la Ecuación 8A-4.

Difracción multirrendijas

Si, en lugar de tener sólo dos rendijas en una hoja opaca, hay algunos cientos de rendijas igualmente espaciadas, los *centros* de luz y las áreas oscuras en la pantalla muestran la misma dependencia angular que para sólo dos rendijas. Los centros de las bandas oscuras permanecen a $m\lambda = d \sin \theta$. Sin embargo, tal como se representa en la Figura 8A.5, las regiones de luz tienen picos más agudos.

Ahora, suponemos que la luz que ilumina las rendijas está limitada a una sola longitud de onda —un único color si la radiación es visible—. Entonces, cada una de las bandas estrechas de luz será del mismo color.

¿Cuál es, entonces, la ubicación de las bandas en la pantalla cuando la luz de dos longitudes de onda diferentes ilumina simultáneamente las rendijas? Los colores son azul y rojo: la luz azul tiene longitud de onda más corta que la roja.

$$\lambda_{\text{rojo}} > \lambda_{\text{azul}}$$

A partir de la Ecuación 8A-5, se puede ver que para cada valor de m , cada ángulo θ para la luz azul es más pequeño que el ángulo asociado para la luz roja ($\theta < 90^\circ$).

$$\theta_{\text{rojo}} > \theta_{\text{azul}}$$

Los dos colores están separados uno del otro en la pantalla. Así, se puede utilizar una difracción multirrendijas para separar colores.

Si se hace pasar luz blanca a través de las rendijas, se puede mostrar un número de pequeños arco iris sobre la pantalla. Cada uno de estos arco iris se puede numerar en un orden: primero, segundo, tercero, y así sucesivamente, como se hizo para las bandas individuales de oscuridad y brillo. La luz blanca se dispersa en su espectro correspondiente.

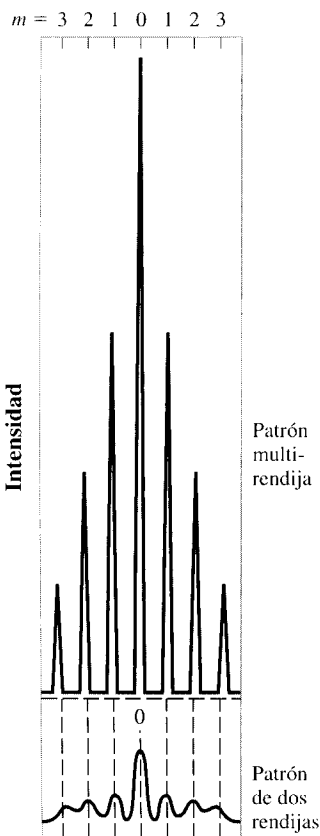


FIGURA 8A.5 ▲
Diferencias en la distribución de la intensidad de la luz entre dos rendijas de difracción y una difracción multirrendija.

Los picos son más agudos para una difracción multirrendija. Por tanto, si el rayo que ilumina presenta luz roja y azul, se separa más limpiamente mediante difracción multirrendija que con un sistema de dos rendijas. En otras palabras, el sistema multirrendija proporciona mejor resolución de colores.

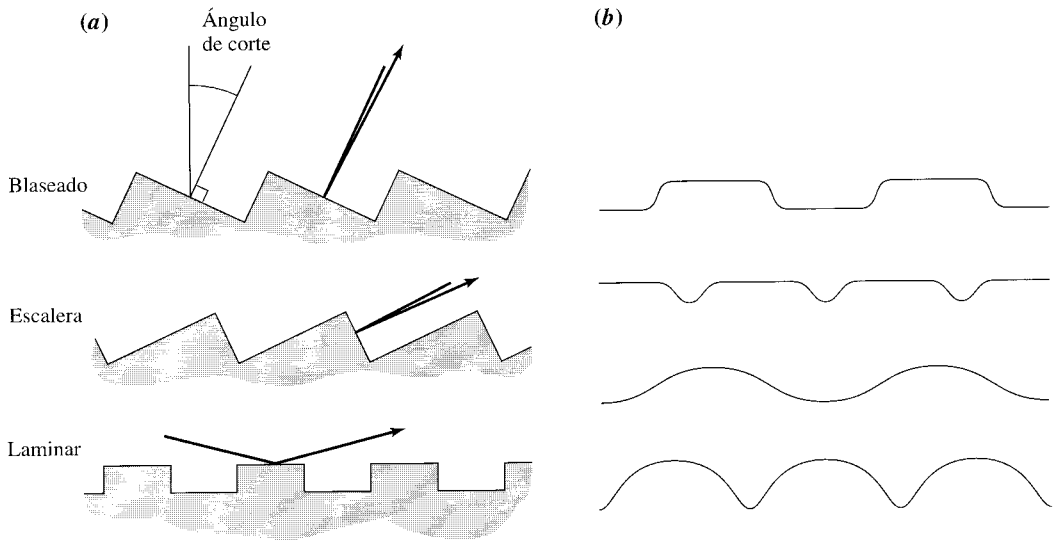


FIGURA 8A.6 ▲
Perfiles de redes planas.

(a) Superficie grabada con un instrumento de diamante. (b) Superficie con grabado holográfico.
[Ref.: Horne, D. F. 1983. *Photomasks, Scales, and Gratings*. Bristol: Adam Hilger, Ltd. Courtesy of Adam Hilger.]

Redes

Uno se puede preguntar: ¿cómo se puede hacer un sistema de difracción múltiple que tenga rendijas que están muy próximas? La respuesta es tan simple como los dispositivos de **redes de difracción**, que *actúan* como si tuvieran muchas rendijas. Las redes están estrechamente espaciadas, con ranuras paralelas en sus superficies, y estas ranuras actúan como rendijas. La Figura 8A.6 representa estas superficies.

Para las redes utilizadas en la región espectral visible, las ranuras están espaciadas aproximadamente $3 \mu\text{m}$. El número de ranuras en mm^{-1} se denomina **constante de la red** y las redes con $300\text{-}1200$ ranuras mm^{-1} son las más comunes.

Otra característica que mencionar en las redes es la **dispersión**, una medida cuantitativa de su capacidad para esparcir las longitudes de onda de la luz. Para la **dispersión angular**, la ecuación que la define es la 8A-6, donde el signo diferencial (δ) se utiliza para evitar la confusión con el espaciado de las ranuras d .

$$D = \frac{\delta\theta}{\delta\lambda} = \frac{m}{d \cos \theta} \quad (8A-6)$$

donde:

θ es el ángulo a partir de la normal de la rejilla

d es el espaciado de las ranuras

m es el orden del espectro

Como se desprende de la ecuación, a mayor orden, corresponde mayor dispersión angular. Ésta es la razón de la alta resolución del espectro que se obtiene, es decir, de orden 27.

EJEMPLO 8A.1

¿Cuál es la dispersión angular a $632,8 \text{ nm}$ de un láser de helio-neón de tercer orden, que incide perpendicularmente en una red con 8000 líneas pulgada $^{-1}$?

Los instrumentos que incluyen redes en su diseño se describen en las Secciones 9C y 10D.

Indíquese la respuesta en grados nm longitud de onda⁻¹.

Solución:

Se necesita el valor del espaciado de la ranura d en nm.

$$\frac{1 \text{ pulgada}}{8000 \text{ líneas}} \times 2,54 \text{ cm pulgada}^{-1} \times 10^7 \text{ nm cm}^{-1} = 3,18 \times 10^3 \text{ nm línea}^{-1}$$

El ángulo θ es:

$$\theta = \text{sen}^{-1} \frac{m\lambda}{d} = \text{sen}^{-1} \frac{3 \cdot 632,8 \text{ nm}}{3,18 \times 10^3 \text{ nm}} = 36,65^\circ$$

Así se puede calcular la dispersión angular.

$$D = \frac{3}{(3,18 \times 10^3 \text{ nm})(\cos 36,65^\circ)} = 1,176 \times 10^{-3} \text{ grados nm-longitud de onda}^{-1}$$

Nota: La potencia resuelta $\lambda/\Delta\lambda$ depende del número total de líneas y no de su espaciado. Esto se representa en la Figura 8A.5.

Hay dos clases generales de redes de difracción. La luz se puede refractar cuando pasa a través de las **redes de transmisión**, tal como se representa en la Figura 8A.4. Por otro lado, la red puede ser un espejo con reflectancia alternada y líneas no reflectantes. Las redes que reflejan la luz se denominan **red de reflexión**. Hace aproximadamente un siglo, las redes se construían con ranuras cortadas con una máquina en un cristal; las así fabricadas se denominaban **redes grabadas**.

Tal como muestra la ecuación que define la dispersión angular (8A-6), los espectros de mayor orden tienen mayor dispersión que los de menor orden. (En efecto, las líneas de la red aparecen más juntas cuando se ven a partir de esos ángulos mayores.) Cuando se desea una resolución mayor, se pueden utilizar órdenes mayores. Además, se puede reflejar una fracción mayor de luz en el orden mayor; la reflexión especular de la red se puede hacer para aparecer a un ángulo mayor apropiado. Esto mejora la **eficiencia de la red** en el orden específico. Para redes, la *eficiencia* cuantifica la fracción de luz transmitida que entra en el detector. ¿Cómo se da este incremento en la eficiencia? Cortando las ranuras con sus lados inclinados en el ángulo correcto. (Véase la Figura 8A.6.) Tal red se dice que está **blaseada**, y el ángulo es el **ángulo de corte**. La eficiencia de las redes rayadas al ángulo de corte puede ser tan grande como del 80%, pero disminuye rápidamente a otros ángulos. Las redes sin corte son eficientes solamente alrededor del 10%. Se pierde una gran cantidad de luz antes de alcanzar el detector.

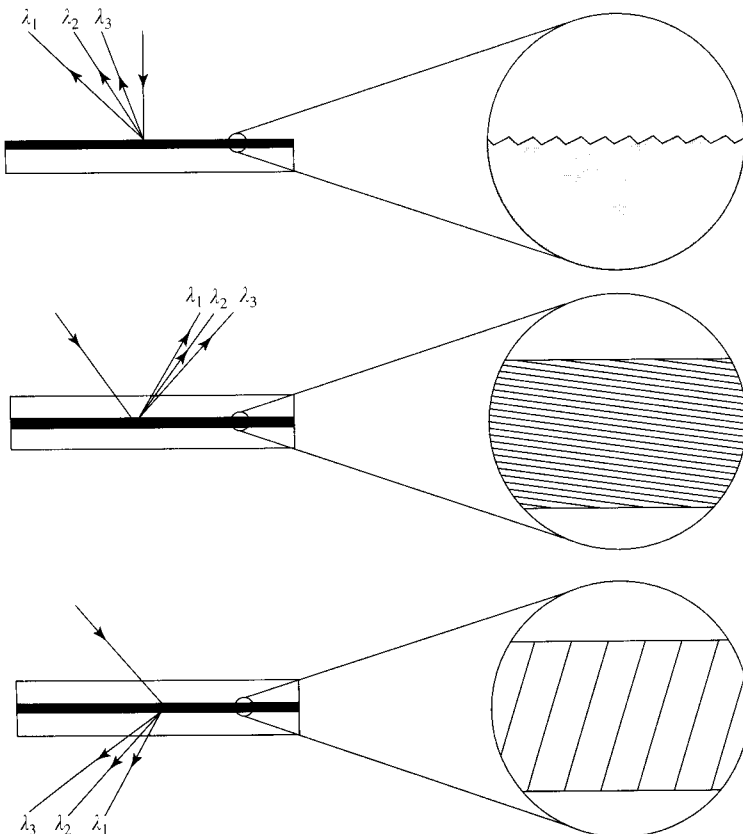
Sólo unas pocas redes para espectrómetros de laboratorio están hechas con máquinas para fabricar rejillas. Los originales se utilizan como molde, y se sacaron **redes réplica** de plástico del original. La réplica de lámina de plástico se puede utilizar directamente en transmisión. Sin embargo, se han preparado réplicas de mayor calidad sobre placas de sílice y, adicionalmente, se han recubierto con una fina capa de aluminio para utilizarlas en reflexión. Se han desarrollado redes rayadas con un alto grado de sofisticación antes de que las reemplazara otro tipo de tecnología.

Sin embargo, las redes no son perfectas. Por ejemplo, el espaciado de las ranuras varía a lo largo de la placa de la red. Estas imperfecciones producen espectros con líneas falsas llamadas **fantasmas**. Estos fantasmas son más reguladores que (y desplazados de) la intensidad de las líneas que fueron su fuente. Además, ligeras imperfecciones en la superficie reflejan y dispersan la luz en zonas en las que no se producirían si la red fuera perfecta. Es la *radiación parásita*, cuyos efectos se vieron en la Sección 8.12.

Algunos de estos problemas de las redes se compensan con **redes holográficas**. Otro nombre para estas es redes holográficas de **superficie en relieve**. Estas redes tienen

ranuras producidas en un polímero que se recubre con una capa fina de aluminio. El nombre *holográfico* viene de su significado, que produce en paralelo ranuras uniformemente espaciadas. Las ranuras se forman utilizando la interferencia **periférica** (alternancia de luz y bandas oscuras) producida por dos rayos a partir del mismo láser y su intersección. La alternancia de luz y bandas oscuras origina diferentes cantidades de entrecruzamientos del recubrimiento polimérico especial, denominado **fotorresistencia**. El polímero que no se entrecruza se lava de nuevo, dejando un área muy fina en la película. Véase la Figura 8A.6b. Debido a la mejora del espaciado de las líneas, estas redes planas holográficas están virtualmente libres de fantasmas y de extrañas dispersiones de la luz de las rejillas rayadas. El inconveniente de las rejillas de superficies holográficas es que hay menos control del ángulo de corte, aunque se pueda obtener algún ajuste cambiando el paso del relieve de las ranuras. Como consecuencia, las redes de superficie holográfica tienden a ser menos eficientes que las redes rayadas, a pesar de sus características superiores.

Más recientemente, las redes rayadas y las de superficie holográfica se han reemplazado por **volúmenes ópticos holográficos** que pueden controlar y dispersar la luz. Las redes de volumen holográfico reciben su nombre porque el volumen total de material actúa como una red, debido a la existencia de planos con distintos índices de refracción. Véase la Figura 8A.7. El material utilizado es una película fina de (generalmente menos de $60\ \mu\text{m}$) gelatina como si fuera un sandwich entre dos láminas o prismas de vidrio. La gelatina se hace permeable con dicromato amónico y se expone a hilos de interferencias de dos rayos de láser coherentes. Durante la exposición, esta **gelatina con dicromato** se entrecruza en las regiones brillantes, y el entrecruzamiento la hace más densa. El tener una densidad



◀ FIGURA 8A.7
Comparación de la superficie de una red de difracción y de volumen holográfico.

(Superior) Representación de la superficie baseada de una red metálica. Se muestra en mayor detalle en la Figura 8A.6a. Redes de volumen holográfico de reflexión (Centro) y transmisión (Inferior) contenidos entre placas de vidrio. El espesor de la gelatina es de alrededor $1,5\ \mu\text{m}$, y las líneas de la derecha muestran un detalle de los planos de máxima densidad (o equivalentemente, de índice de refracción máximo). La variación de la densidad es sinusoidal. Variando la orientación y la distancia entre planos, se producen las diferentes propiedades ópticas. Tanto la red de reflexión como la de transmisión son transparentes. [Adaptado de Tedesco, J. M., Owen, H., Pallister, D. M., Morris, M. D. 1993. *Anal. Chem.* 65, 441A-449A.]

mayor significa que el índice de refracción se eleva (hasta 0,2 unidades sobre el intervalo normal de $\sim 1,5$). Las variaciones en el índice de refracción son sinusoidales, con períodos de más de 5000 períodos mm^{-1} . Como se muestra en la figura, mediante cambios en la inclinación de los planos de variaciones de densidad se pueden hacer redes de volumen holográficas para reflexión y transmisión. De forma interesante, si las variaciones de la densidad son paralelas a la superficie, las hojas de gelatina *clara* pueden *reflejarse* ampliamente a una longitud de onda (reflectividad $> 99,99\%$). Un inconveniente de las redes de volumen holográfico es que hay absorción UV: el % de T cae a 440 nm de partida y rechaza el 20% de T a 320 nm. Sin embargo, con su elevada transparencia y eficiencia se ha encontrado que los volúmenes ópticos holográficos son aceptables en espectrometría Raman. Además, las redes holográficas algunas veces pueden reemplazar elementos tales como lentes, lo que simplifica el diseño óptico de los monocromadores de alta eficiencia.

Pruebas de espectrometría Raman, espectro vibracional con luz visible. Véase el Capítulo 10.

Monocromadores

Los monocromadores representados en la Figura 8A.8 utilizan una red de reflexión como elemento dispersante, y son un tipo diseñado para longitudes de onda comprendidas en el UV-VIS. Esta disposición de rendijas, espejos y redes se denomina montaje **Czerny-Turner**. El funcionamiento es el siguiente. La luz penetra a través de la rendija de entrada y se refleja en un espejo fijo cóncavo, que colima y focaliza la luz en la red plana de reflexión. La luz difractada se colima y se focaliza mediante un segundo espejo cóncavo, se refleja en un espejo plano y sale a través de la rendija de salida. Tal como se indica, se barre la longitud de onda rotando la red sobre su centro. La pureza del espectro de salida depende de la anchura de ambas rendijas, la relación geométrica entre las rendijas y la red, el ángulo de la red al eje, y el espaciado de las líneas de la red.

En otras figuras se muestran otros dos diseños de monocromadores. La Figura 9.18 en (página 394) muestra una figura esquemática de un montaje **Ebert**. Un único espejo reemplaza los dos espejos que focalizan en el montaje Czerny-Turner. La Figura 10A.1 (página 473) representa un **monocromador doble** que tiene dos redes. La luz dispersada mediante la primera red atraviesa una rendija media y se dispersa de nuevo mediante

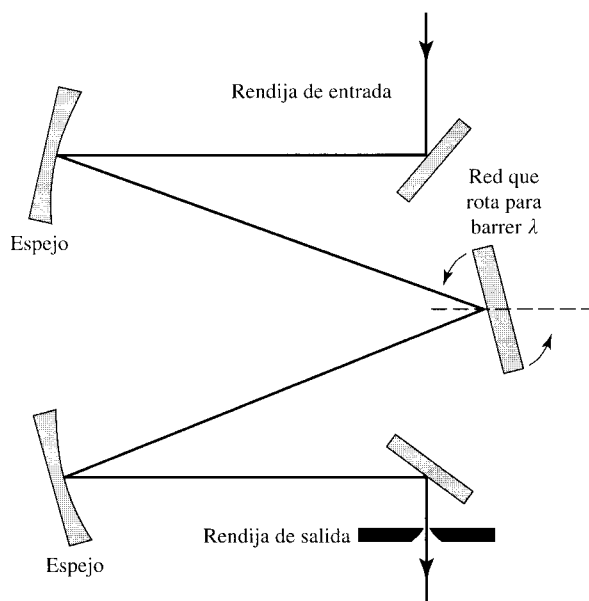


FIGURA 8A.8 ►
Diseño general de un monocromador Czerny-Turner.

Se barre la longitud de onda rotando la rejilla, como se representa mediante flechas.

una segunda red. La dispersión es mucho mayor, y así la resolución de un monocromador doble es mayor que la de uno sencillo.

Interferómetros

Los interferómetros, tal como su nombre indica, dependen de la interferencia para separar la longitud de onda de la luz. Quizás, el interferómetro más sencillo se muestra en la Figura 8A.9. El dispositivo consiste en dos espejos planos semitransparentes, con una distancia muy próxima, exactamente paralelos. Esta construcción se denomina, de manera más precisa, **filtro Fabry-Perot**. La luz que entra (se muestran cinco rayos de ejemplo) se refleja sucesivamente entre los espejos. Sólo la luz de longitud de onda que interfiere de forma constructiva pasa hacia el lado opuesto. Por ejemplo, consideremos el rayo incidente superior. Solamente cuando interfiere constructivamente con el rayo de encima después de dos reflexiones pasará al lado opuesto. Al mismo tiempo, el rayo inferior interfiere constructivamente con el rayo dos veces por encima de él después de cuatro reflexiones, y así sucesivamente.

La interferencia constructiva ocurre a $\lambda = 2nd \cos \theta$, donde n es el índice de refracción en el interior del espacio entre los espejos. Las longitudes de onda que no satisfacen esta condición interfieren destructivamente. Incluso aunque los espejos sean altamente reflectantes, el filtro deja pasar casi toda la luz de longitud de onda que interfiere constructivamente. La razón de que la salida pueda ser demasiado alta es debido a la interferencia constructiva de un gran número de ondas ligeramente transmitidas. Las líneas de puntos a la izquierda representan rayos fuertemente atenuados. Si la luz monocromática pasa a través de un filtro, en el otro lado se ven anillos concéntricos de luz y oscuridad. Para un filtro plano, los anillos corresponden a las bandas alternas de luz y oscuridad de dos rendijas de difracción.

Un interferómetro fijo es también un **filtro de interferencia**. Se construye de manera muy precisa con capas finas de sólidos con diferentes índices de refracción. Como se muestra en la Figura 8A.10, un tipo es multicapa, compuesto de dos grupos dieléctricos separados que alternan las capas de alta y baja constante dieléctrica. Cada una tiene un espesor de $\lambda/4$, excepto la capa espaciadora, que tiene $\lambda/2$ de espesor. Ya que las constantes dieléctricas son proporcionales a los índices de refracción, las capas varían en sus índices de refracción, y en cada interfase de las capas se produce una reflexión parcial. Un material típico de índice alto es ZnS , y un material típico de índice bajo es Na_3AlF_6 —también llamado criolita—. La capa espaciadora funciona como la capa de aire del

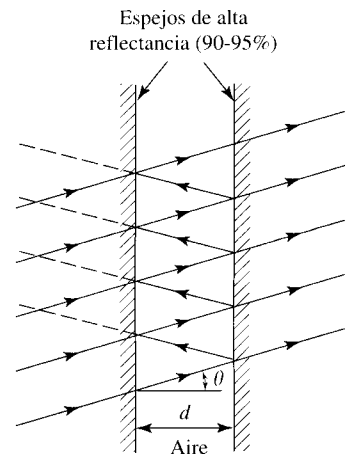
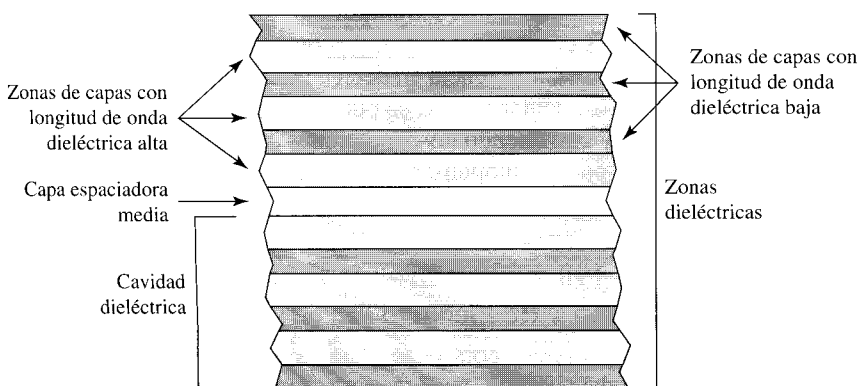


FIGURA 8A.9 ▲ Bases de operación de un interferómetro sencillo.

Si pasa luz monocromática a través de este dispositivo, aparecen una serie de anillos concéntricos de luz y de oscuridad en transmisión. Es equivalente a las bandas de luz y oscuridad de dos rendijas de difracción.



◀ FIGURA 8A.10 Esquema de una sección transversal a través de parte de un filtro de interferencia para la región óptica.

Los filtros de interferencia con esta estructura se construyen para pasar una estrecha banda de luz. [Elaborado según datos de Melles Griot Optics Guide 5.]

Fabry-Perot (representada en la Figura 8A.9). Las reflexiones múltiples en las interfases entre las capas alcanzan solamente las longitudes que pasan a través de ella.

También se construyen interferómetros de longitud de onda variable, pero el desarrollo de su estructura y su función se reserva para el Capítulo 17, ya que tales interferómetros son la característica principal de los espectrómetros de transformada de Fourier, en el intervalo infrarrojo cercano-infrarrojo.

8B. Profundizando: Fuentes de radiación electromagnética: de 190 nm a 50 μm

La radiación electromagnética utilizada en los análisis químicos se encuentra en el intervalo desde la radiofrecuencia de la Resonancia Magnético Nuclear a la radiación gamma de la Radiactividad. La fuente de radiación puede ser el analito en sí mismo o una fuente externa. El uso de emisión del analito por sí mismo es más común en espectrometría de emisión atómica, y tales fuentes se describen en el Capítulo 9.

En esta sección se describen las fuentes más comunes de radiación desde el ultravioleta hasta regiones del infrarrojo. Las fuentes continuas son aquellas que emiten en un amplio intervalo de longitudes de onda. Por otro lado, las fuentes que producen radiación solamente fija en intervalos estrechos, se denominan fuentes de línea.

Láseres y seguridad de láser

Cada vez más, los láseres están siendo la fuente de luz elegida, debido a su alta intensidad de emisión y su estrecha anchura de banda. Sin embargo, al mismo tiempo, los láseres no pueden barrer automáticamente un ancho intervalo de longitud de onda, con el fin de reemplazar la combinación de fuentes continuas y monocromadores en los espectrómetros. La sintonización se alcanza normalmente mediante una de estas dos formas: utilizando un láser de longitud de onda sencilla para excitar una disolución de un colorante en un interferómetro sintonizable, y mediante cambios de temperatura de un láser de diodos en estado sólido. Los intervalos de sintonización son normalmente sólo un pequeño porcentaje de longitud de onda. Además, los láseres todavía son algo más ruidosos, y su potencia de salida tiende a derivar más que las fuentes continuas descritas aquí. Las longitudes de onda de algunos láseres disponibles comercialmente se muestran en la Figura 8B.1.

La espectrometría Raman, el uso más común de los láseres en Química Analítica, emplea láseres en el intervalo de 50-500 mW. Estos niveles de potencia son extremadamente dañinos para la vista y pueden producir quemaduras en la piel. Como se señala en la Tabla 8B.1, los láseres se clasifican por su nivel de peligrosidad, que es proporcional a su potencia. Se dispone de protectores para los ojos, pero para proteger los ojos contra la exposición de la alta potencia de una única longitud de onda. Es decir, cada tipo de láser requiere de uno o más juegos de protección para los ojos.

Se pueden utilizar láseres de menor potencia en detección de fluorescencia para cromatografía o electroforesis. Para aumentar la S/R, se puede estabilizar la salida del láser monitorizando el nivel de salida y corrigiendo las condiciones del láser para dar una salida estable. Alternativamente, se puede compensar la detección para estas fluctuaciones mediante sistemas de detección multicanal.

La región ultravioleta, de 190 a 320 nm: lámparas de deuterio, xenón y de mercurio

El resto de esta sección describe fuentes continuas. Para espectrometría de absorción, una lámpara de arco rellena de deuterio $^2\text{H}_2$ produce un espectro continuo con algunas

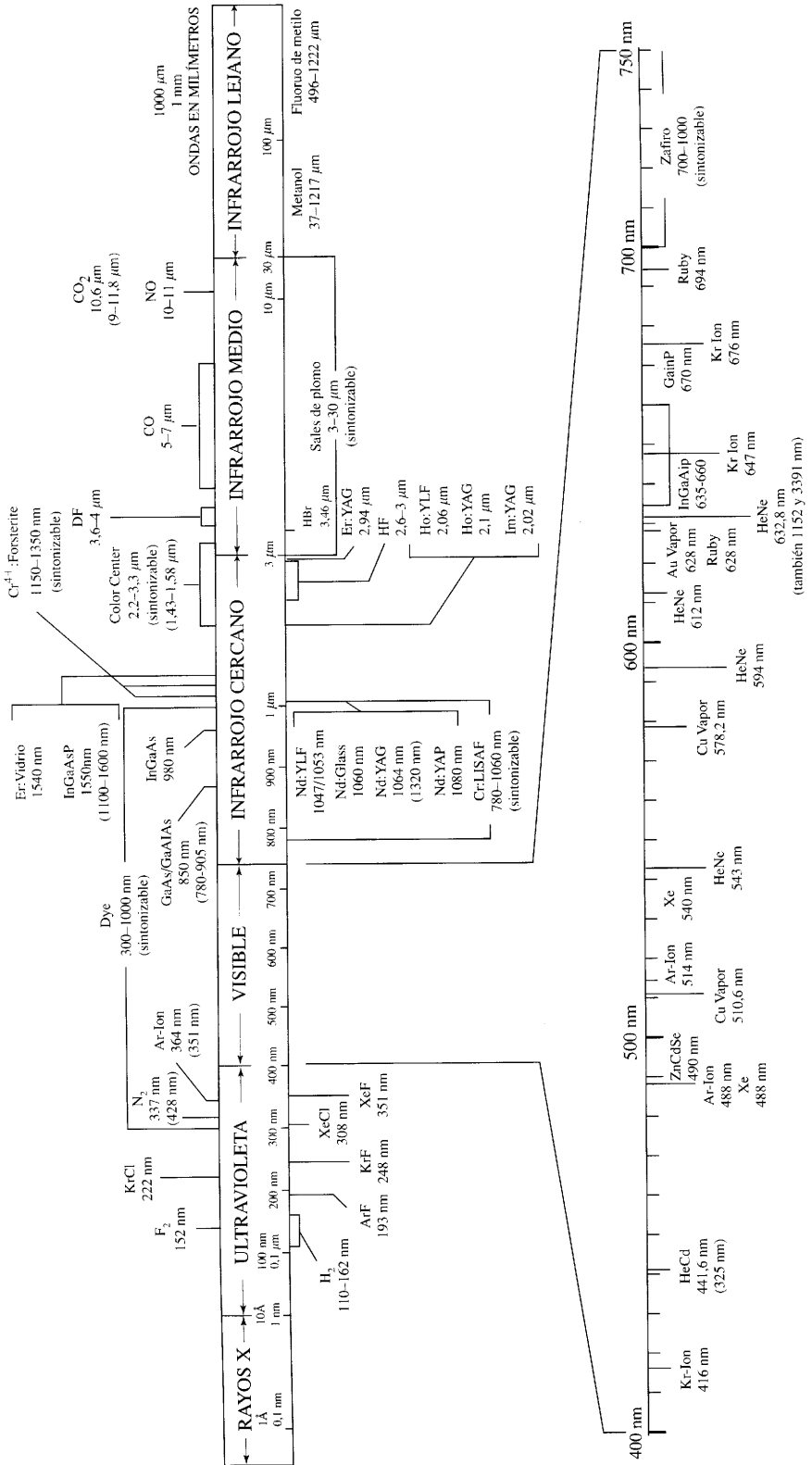


FIGURA 8B.1 ▲ Líneas de láser desde el ultravioleta de vacío hasta el infrarrojo lejano. [Ref.: Reimpresión de the Photonics Designs and Applications Handbook, p. H20, 1996 con permiso de Laurin Publishing Co.]

Tabla 8B.1. Clasificación de los láseres de líneas visibles

Clase	Potencia (intervalo 400-700 nm)	Nivel de peligro
Clase I	< 0,4 mW	Normalmente no presenta peligro
Clase IIa	0,4 a 1mW	Normalmente no presenta peligro
Clase IIIa	1 mW a 5 mW	Normalmente no perjudicial, pero peligroso si se mira utilizando componentes ópticos
Clase IIIb	5 mW a 500 mW	Peligroso para los ojos y la piel si se mira directamente o mediante reflexión especular. Reflexión difusa peligrosa sólo cerca de la fuente
Clase IV	>500 mW	Peligro potencial para los ojos para ambas reflexiones directa y difusa. También puede causar quemaduras en la piel.

líneas de emisión superpuestas. Véase la Figura 8B.2. La intensidad de emisión es adecuada para llevar a cabo espectrometría de absorción en el intervalo de 190 a aproximadamente 320 nm. (Las longitudes de onda más cortas no se utilizan en este trabajo, ya que absorben por sí mismas en este intervalo.) La estructura general de una lámpara de arco se representa en la Figura 8B.3.

Para medidas de fluorescencia puede ser útil una lámpara de mayor intensidad, ya que la señal fluorescente es proporcional a la potencia de la fuente. Para producir esta potencia mayor, se pueden utilizar lámparas rellenas con xenón o vapor de mercurio a alta presión. El arco se excita mediante un regulador de corriente continua que pasa a través de él. Hay dos limitaciones para la potencia que se puede utilizar. Primero, al aumentar de potencia, la lámpara y el lugar en el que se encuentra deben ser grandes y no ajustarse convenientemente en el espectrómetro. A menudo se requiere aire a presión o agua helada. Segundo, una muestra fluorescente puede ser descompuesta mediante la luz, y si la potencia es demasiado alta, la muestra se descompondrá durante el tiempo de medida.

La región visible, de 320 a ~750 nm: lámparas de filamentos de tungsteno

La fuente común elegida para espectrometría de absorción en la región visible es una lámpara incandescente. Su espectro de radiación es un espectro continuo, de

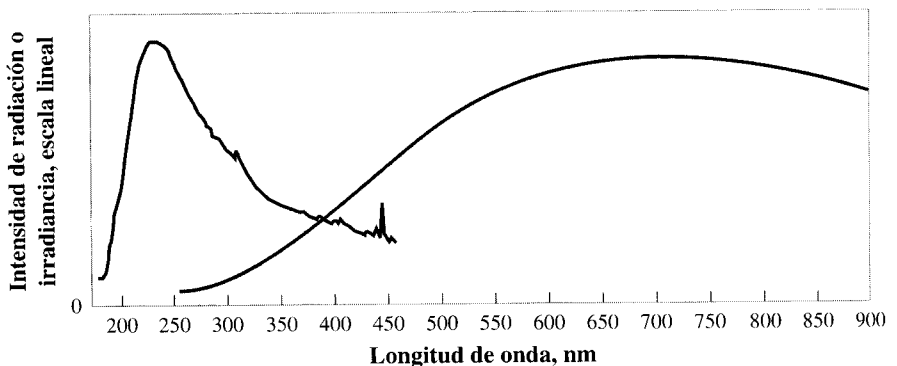
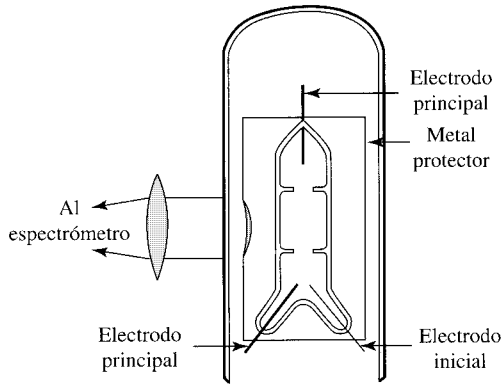


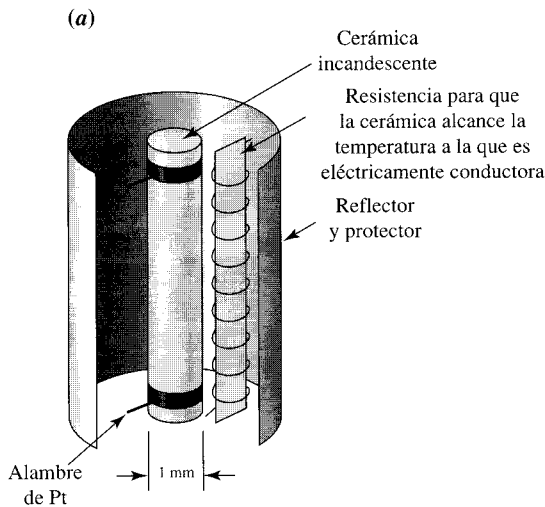
FIGURA 8B.2 ► Espectro de la intensidad de radiación de una lámpara de arco de deuterio (izquierda) y una fuente incandescente con una temperatura de 4200 K, tal como una lámpara de filamento de tungsteno (derecha).

intervalo del ultravioleta al infrarrojo cercano (aproximadamente longitud de onda de $4000\text{ cm}^{-1} = 2,5\ \mu\text{m}$). El espectro se representa en la Figura 8B.2 para una lámpara con un filamento a 4200 K de temperatura.

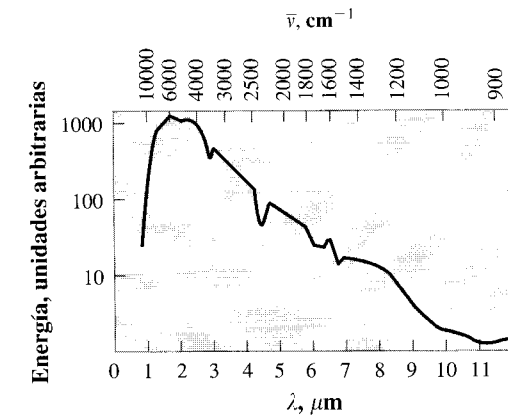


◀ FIGURA 8B.3
Diseño general de una lámpara de arco.

Inicialmente el gas no ionizado que rellena el tubo tiene una resistencia alta. Se coloca un arco entre el estrecho espacio de partida y los electrodos principales. La resistencia del plasma resultante es mucho más baja que el gas no ionizado, y el arco se sostiene con potenciales entre 40 y 300 V DC, entre los dos electrodos principales. La corriente a través del plasma de baja resistencia está limitada mediante un inductor externo, pero el calor generado es suficiente para mantener el gas ionizado como plasma.



(a)



(b)

◀ FIGURA 8B.4
El emisor incandescente de Nernst.

(a) Diseño general de un emisor incandescente de Nernst. Se calienta la cerámica hasta que alcanza la temperatura que la hace eléctricamente conductora. (b) Representación logarítmica de un espectro de intensidad de radiación de un emisor incandescente de Nernst a 2100 K [Ref.: Olsenm E. D. 1975. *Modern Optical Methods of Analysis*. New York: McGraw-Hill Companies.]

La región infrarroja, de 2,5 a 50 μm : cuerpo incandescente de Nernst

El vidrio y la sílice son opacos a la radiación en la región del infrarrojo. Como consecuencia, no se puede trabajar con fuentes que engloben vidrio. La fuente de radiación más comúnmente utilizada para el espectro de infrarrojo es el emisor de Nernst, una varilla caliente de aproximadamente 1 mm de diámetro y unos pocos centímetros de longitud. El material de la varilla es de circonio itrio estabilizado, un material cerámico compuesto de un óxido de circonio con itrio. Las propiedades de la cerámica la hacen relativamente estable a altas temperaturas; resiste el aire muy caliente. Calentando la varilla con un calentador aislado, la cerámica se vuelve eléctricamente conductora. Entonces se mantiene a su temperatura operativa de aproximadamente 1800 K, pasando simplemente una corriente a través de ella. Debido a la alta temperatura operativa los alambres de conexión deben ser de platino. En la Figura 8B.4 se muestra un diagrama de la construcción de un emisor de Nernst y su espectro de emisión. El carburo de silicio, otra cerámica conductora, también puede funcionar como fuente de infrarrojo.

8C. Profundizando: Transductores representativos para radiación electromagnética

Rectificadores para radiofrecuencia

En las regiones de la radiofrecuencia y las microondas, se utilizan dos aproximaciones para que se produzca la señal de salida deseada, dependiendo de si se va a emplear un barrido del espectro o si se utiliza un instrumento con transformador de Fourier. Para un instrumento de barrido, se convierte la radiación electromagnética en corriente DC mediante rectificación. Se coloca un alambre para que el campo eléctrico de la onda de radio provoque una corriente de flujo a lo largo de él. Unidos al alambre se colocan una serie de circuitos que pueden **rectificar** la corriente. Todos los circuitos contienen diodos, que son dispositivos que tienen una resistencia baja al flujo de corriente en una dirección (derecho) y una alta resistencia al flujo de corriente en el otro lado (revés). Si se utiliza un único diodo, la corriente rectificada aparece tal como se muestra en la Figura 8C.1. Los instrumentos de transformada de Fourier almacenan la señal AC des-

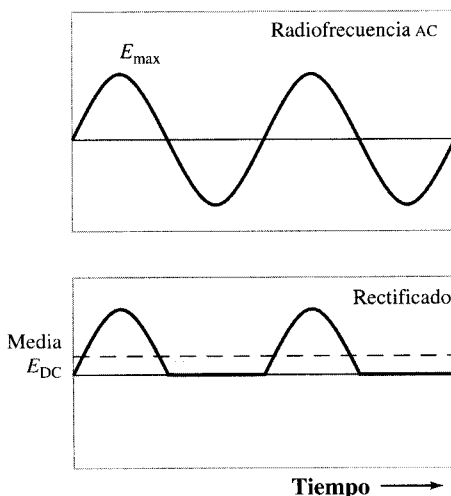


FIGURA 8C.1 ►
Rectificación.

La rectificación convierte la corriente AC en una corriente que fluye en una dirección. El valor medio se muestra mediante la línea de puntos. En los espectrómetros, el campo eléctrico de la radiación de radiofrecuencia que oscila, induce la corriente AC en un alambre con la orientación paralela correcta. En la región de las microondas, su campo eléctrico cae directamente a lo largo de un diodo semiconductor.

pués de la amplificación apropiada. Si el intervalo de frecuencia de la señal es bajo, la señal se graba directamente. Si el intervalo de frecuencia es demasiado alto para registrarse directamente, las señales de frecuencia se hacen menores para restar una frecuencia específica de la **mezcla** de radiofrecuencia. La conversión funciona de la siguiente forma. Si el experimento produce frecuencias f_{expt} , éstas se pueden mezclar con una frecuencia fija f_0 . La mezcla proporciona las frecuencias suma y diferencia de las dos: $(f_{\text{expt}} + f_0)$ y $(f_{\text{expt}} - f_0)$. Se registra la señal de la diferencia que consiste en el intervalo adecuado para el equipo. Tal como se muestra en el Capítulo 17, estas señales grabadas se manipulan matemáticamente para producir las amplitudes como una función de la frecuencia: el espectro de salida.

Dispositivos de infrarrojo

En las regiones del infrarrojo lejano al infrarrojo medio los cambios en el calentamiento y enfriamiento de una pequeña masa son la base de algunos transductores. Su modo de operación está basado en la medida de alguna característica eléctrica del transductor que varía con la temperatura. Se une un **termopar** a dos alambres —cada uno compuesto de un metal diferente o una mezcla de metales— que generan un potencial que depende de la temperatura de unión. Para una respuesta óptima, la unión del termopar se oscurece para que no se refleje la luz. Cuando la radiación infrarroja incide en la unión, el cambio de la temperatura muestra un cambio en el potencial. Los termopares son un tipo de detectores incluidos en una clase general denominada **bolómetros** (de la palabra griega que significa *potencia*). Otros dos bolómetros que responden a la radiación infrarroja son los **termistores** y los **cristales piroeléctricos**. Los termistores se construyen con una capa de metal semiconductor y conductor, ambos con una resistencia DC que cambia con la temperatura. Se miden y amplifican los cambios con la temperatura.

Algunos instrumentos IR contemporáneos utilizan detectores piroeléctricos que generan un cambio a lo largo de ellos cuando se calientan. Una superficie de cristal se vuelve positiva y la opuesta negativa. Para hacer un transductor, se fabrica un pequeño condensador con un cristal de **sulfato de triglicina deuterado** (DTGS) como el cristal de relleno del condensador sandwich. La radiación IR que incide calienta el cristal DTGS, aparece un potencial a lo largo del condensador. A mayor calentamiento, mayor potencial. Los detectores DTGS trabajan bien en el intervalo de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

Un cristal compuesto de una aleación de mercurio, cadmio y telurio —escrito normalmente como **HgCdTe** o abreviado como MCT— forma un detector semiconductor. Éstos normalmente se enfrían a temperaturas de nitrógeno líquido para reducir el ruido, ya que hay aproximadamente un orden de magnitud más ruidoso que los DTGS. Se acepta la complejidad de los detectores enfriados ya que responden más rápidamente a los cambios en la energía de infrarrojo.

En la región del infrarrojo cercano, se utilizan detectores semiconductores. Los detectores semiconductores son equivalentes a los resistores sensibles a la luz; la conductividad es baja en la oscuridad y alta cuando la luz incide en el detector y promueve un electrón en la banda de conducción del semiconductor. El sulfuro de cadmio, sulfuro de plomo y antimonio de indio son tres materiales que presentan este efecto. Los semiconductores de silicio responden desde el infrarrojo dentro de la región del visible. Los semiconductores basados en silicio se fusionan en disposiciones denominadas **dispositivos de transferencia de carga (CCD)**, que son apropiados para ser elegidos como detectores en la región del infrarrojo cercano al UV. Más adelante se dará más información sobre el modo de operación de los CCD.

Véase la respuesta a la longitud de onda de un CCD de silicio en la Figura 8C.5.

Fototubos y fotomultiplicadores

El proceso fotoeléctrico es el proceso representado en la Figura 8.2.

Aunque están siendo reemplazados por los CCD, los **detectores fotoeléctricos** han sido el puntal de la espectrometría UV-visible durante más de 50 años. Para operar, estos detectores utilizan el efecto fotoeléctrico, que es la eyección de un electrón de un material cuando se irradia con luz. El transductor más simple es el **fototubo**. La estructura de un fototubo se muestra en la Figura 8C.2.

Los aparatos se encapsulan en un tubo de vidrio al vacío. El cátodo se forma mediante un semicilindro de metal cubierto en la superficie interior con sucesivas capas de plata, un metal alcalino, y un óxido de un metal alcalino u otro contra ion. Son ejemplos Cs_3SbO y KNaCsSb . El ánodo es un alambre cargado positivamente en el eje del cilindro. El potencial a lo largo del tubo normalmente está en el intervalo de aproximadamente 100 mV. Cuando la luz choca con la superficie del cátodo, se liberan electrones transversales al gap, entre el cilindro y el alambre del ánodo, y se recogen en el ánodo. EL flujo de electrones es, por supuesto, una corriente eléctrica. La corriente se encuentra en el intervalo de los μA para los fototubos. Véase la Figura 8C.3.

Se puede alcanzar mayor sensibilidad colocando una cascada de superficies similares en un **tubo fotomultiplicador (PMT)**. La Figura 8C.4 representa la operación de un fotomultiplicador. Los electrones del fotocátodo se enfocan en una segunda superficie metálica (un **dinodo**) recubierto con BeO , GaP o CsSb . Los electrones iniciales que están acelerados aproximadamente en 100 eV por el potencial, inciden en el dinodo y producen más electrones (electrones secundarios) que están acelerados 100 V hacia un segundo dinodo, y así sucesivamente.

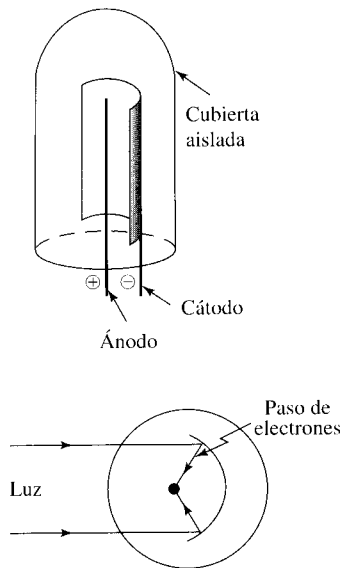


FIGURA 8C.2 ▲
Construcción de un fototubo simple con un fotocátodo opaco.

[Reimpresión con permiso de John Wiley & Sons, Inc.]

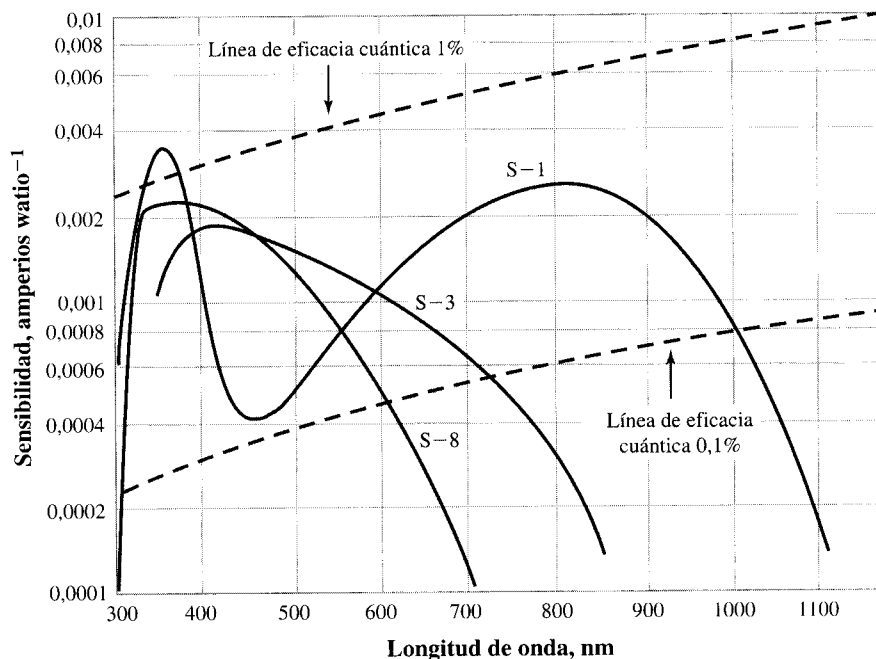
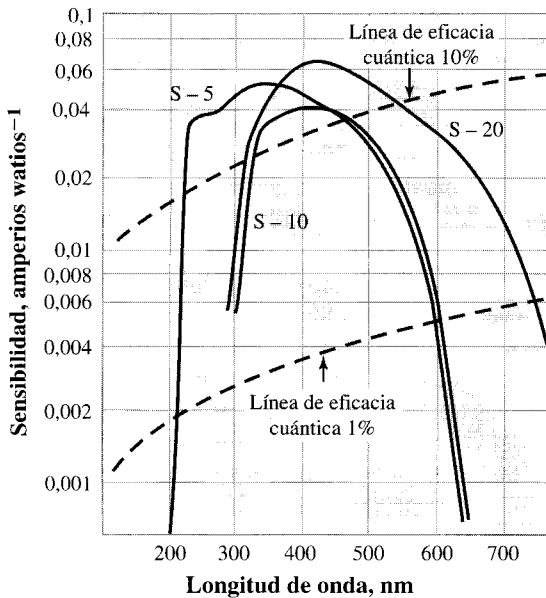
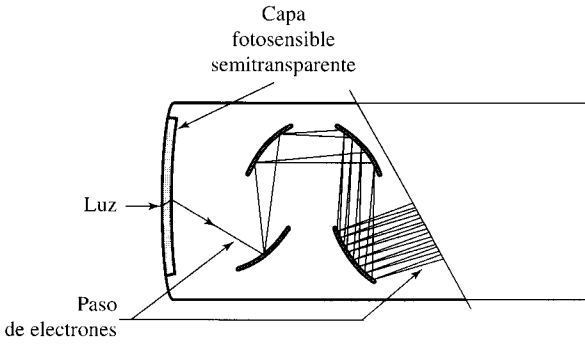


FIGURA 8C.3 ►
Respuesta de fototubos representativos a luz de diversas longitudes de onda.

La escala de salida es logarítmica en amperios/watios. El nivel de *eficiencia cuántica* significa la fracción media (o porcentaje) de fotones que llegan y producen fotoelectrones del fotocátodo. [Ref.: Gumm, F. 1972. In *Physical Methods of Chemistry*. Vol. 1, Pt. IIIB; A. Weissberger and B. W. Rossiter, eds. New York: Wiley-Interscience. Copyright 1972. Reimpresión con permiso de John Wiley & Sons, Inc.]



◀ FIGURA 8C.4
Una forma de fotomultiplicador.

Este tipo tiene un fotocátodo semitransparente. La luz incide sobre el lado «posterior» y los electrones salen de la parte «anterior». Los electrones se amplifican mediante la generación de más electrones en cada dinodo. La respuesta de los fotomultiplicadores representativos se muestra también con la misma escala en la Figura 8C.3. Obsérvese cómo aumenta la eficiencia cuántica sobre la de los fototubos. [Ref.: Gumm, F. 1972. In *Physical Methods of Chemistry*. Vol. 1, Pt. IIIB; A. Weissberger and B. W. Rossiter, eds. New York: Wiley-Interscience. Copyright 1972. Reimpresión con permiso de John Wiley & Sons, Inc.]

Esta operación produce un aumento en la sensibilidad de hasta 10^8 comparada con un fototubo simple. Las respuestas típicas se representan en la Figura 8C.4. Sin embargo, el fotomultiplicador también amplifica el ruido. Ya que el ruido es una propiedad inevitable y común de todos los detectores, haremos un inciso para una visión más profunda.

Cuando se trata la salida de un transductor, se utiliza un lenguaje que implica que la señal de salida simplemente sube y baja con la cantidad de luz que cae en su superficie. Sin embargo el continuo cambio en el nivel de señal es solamente una aproximación, y cuando la intensidad de la luz es baja, la corriente refleja la llegada de fotones individuales: una serie de pulsos aleatorios. Cuando la luz es más intensa, los pulsos comienzan a coalescer. Con más luz todavía, la corriente se puede caracterizar entonces por un nivel medio de DC con ruido aleatorio. Cuando la luz aumenta más, el ruido aleatorio y el nivel medio de DC se vuelven más pequeños. Las características de este ruido le dan el nombre de **ruido de impacto**.

El nivel de DC es proporcional a la relación de fotones que caen en la parte activa del transductor. Llamamos n al número medio de fotones por segundo. La relación señal-ruido del ruido de impacto para el nivel DC se puede escribir como:

$$\frac{S}{N} \propto n^{1/2}$$

Se trata más sobre S/R como función de n en la Sección 17.6.

Se puede entender la dependencia en forma de raíz cuadrada ya que el ruido es un hecho aleatorio. El error, entonces, como para todos los errores aleatorios, aumenta solamente con la raíz cuadrada del número de fotones (pruebas), mientras que el nivel DC aumenta linealmente con el número de fotones. La relación señal-ruido de $(n/n^{1/2})$ da el resultado de la ecuación.

Los movimientos atómicos y moleculares por agitación térmica son, por supuesto, una parte de todos los materiales. Este movimiento térmico ocasionalmente acelera un electrón provocando que salte de la superficie al fototubo. Como resultado, incluso cuando la luz no brilla en la superficie, los electrones se desprenden aleatoriamente, provocando la **corriente oscura**. *El ruido de la corriente oscura establece el límite de detección de los métodos que implican fotomultiplicadores.*

CCD y CID

Se ha producido una importante revolución en los detectores con la llegada de los **dispositivos de silicio sólido de transferencia de carga** (CTD), que incluyen **dispositivos de unión de carga** (CCD) y **dispositivos de inyección de carga** (CID). Vamos a centrarnos en los CCD, que se describen brevemente a continuación. Ahora se entenderá que los CCD contemporáneos sustituyan a los tubos fotomultiplicadores en aplicaciones cada vez más recientes.

La respuesta espectral de los CCD para la espectrometría óptica se extiende en el intervalo desde el IR-cercano al UV (véase la Figura 8C.5) e incluso en la región de los rayos X, donde los fotodetectores de silicio forman la base de los análisis dispersivos de energía de rayos X (EDAX). Cada fotón que cae en el CCD produce uno (en el intervalo del infrarrojo cercano al visible) o más (en el intervalo del UV a los rayos X) pares de electrones, que se almacenan dentro del volumen donde los fotones chocan con el detector. Los tamaños del **pixel** generalmente en el intervalo de 15-30 μm cuadrados, se colocan en una matriz, o en una fila en una geometría parecida a un peine, con 15-30 $\mu\text{m} \times$ algunas líneas-mm. El mayor número de electrones que pueden almacenarse en un pixel está en el intervalo de 50000–500000, dependiendo de la construcción.

Los cambios generados por la luz se acumulan tanto como se desea, y entonces los paquetes de carga de cada pixel se leen y amplifican. En otras palabras, un CCD integra automáticamente la cantidad de luz que cae en él. Mientras el máximo número de cargas

Análisis dispersivo de energía de rayos X; Sección 9.12.

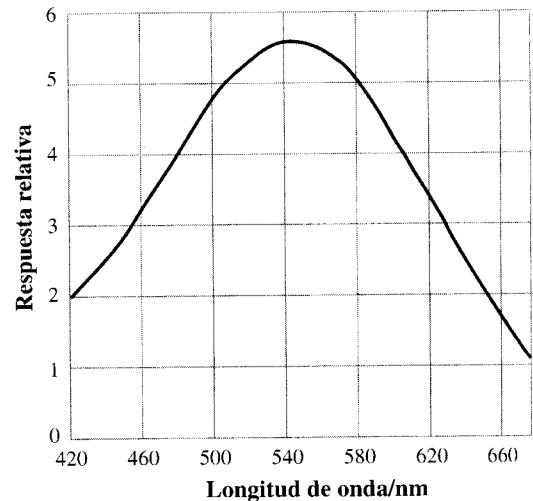


FIGURA 8C.5 ►
Respuesta espectral típica
de un CCD de silicio.

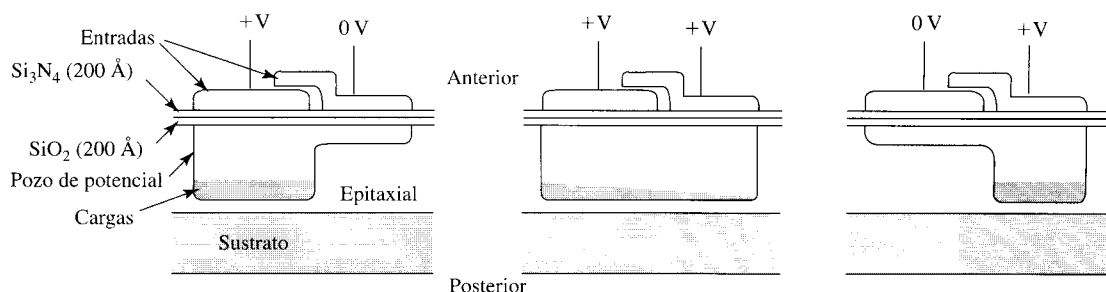


FIGURA 8C.6 ▲
Representación de la estructura de un dispositivo CCD y la transferencia de carga de un pixel.

Aunque se utiliza comúnmente, la secuencia del dibujo puede resultar confusa. La figura tiene incluidos dos tipos diferentes de representación. Se esboza una estructura física para las entradas, para capas finas (200 Å) aisladas, la capa epitaxial y la capa de sustrato. Sin embargo el potencial del pozo presenta un significado confuso. La posición en el eje x muestra la localización bajo las puertas, y el eje y la energía del pozo. Cuanto más profundo es el fondo del pozo, menor es la energía en la región epitaxial. En otras palabras, la profundidad del pozo no representa una extensión espacial. Aunque la carga se muestra rellenando el pozo (área sombreada), en realidad la región cargada más negativamente es la próxima a la superficie del aislante, donde se atraen las cargas positivas de la entrada.

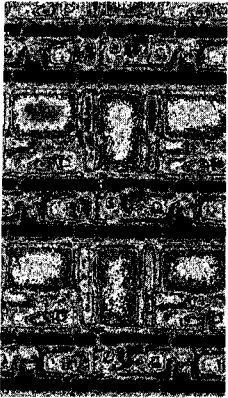
Los electrones aparecen en el volumen ya que la luz que incide en el semiconductor provoca una separación de electrones y cargas positivas (agujeros). Las regiones cargadas positivamente atraen las cargas negativas hacia la superficie y reducen los agujeros en la capa del eje epitaxial. Los paquetes de carga se transfieren, tal como se muestra variando el potencial en las entradas de izquierda a derecha en el tiempo. Dependiendo del diseño, los pixels pueden tener hasta cuatro entradas; por tanto, la transferencia pixel a pixel es más complicada.

Los CCD pueden tener luz que afecte bien a las superficies anteriores, bien a las posteriores, dependiendo del diseño y la región de longitud de onda a la que se construyan.

no exceda en cualquier pixel, el CCD puede continuar permitiendo guardar cargas. Después de terminar el tiempo de recogida, las cargas en los pixels de los CCD se cambian a una fila simple a través de la matriz del pixel, una cada vez, donde los cambios para cada pixel se alcanzan cargando el condensador y amplificando el potencial a lo largo del condensador.

Los movimientos de los paquetes de carga de un pixel al siguiente y finalmente a la sección de lectura se pueden visualizar como una agrupación de cubos —pasando cubos de agua de una persona a otra—. Esta idea general se representa en la Figura 8C.6. Los cambios (cubos de agua) se transfieren al pixel adyacente (persona), y así sucesivamente, hasta que haya pasado todo al lector (donde se vierte el cubo y se mide la cantidad de agua). La diferencia entre un CCD y un CID es que el pixel CID se puede leer independientemente; no se tienen que mover a lo largo de la matriz o leerse fuera.

Ya que el modo de operación de los CCD es diferente al de los fotomultiplicadores, no nos sorprenderá que las fuentes de ruido sean diferentes, así como las expresiones que lo describen. El ruido se expresa como la raíz cuadrada (rms) en e^- . Así una aclaración que se puede ver mientras se investigan los CCD es que el ruido leído es $\sim 4e^-$ rms (raíz cuadrada de la media de los cuadrados). Esta aclaración alcanza a los tres tipos principales de ruido: **ruido de lectura**, **ruido de impacto** y **patrón de ruido fijo**. Para los niveles más bajos de intensidad de luz, el *ruido leído* es la aleatoriedad del potencial a la salida del condensador. El ruido de lectura resulta de las diferencias térmicas inducidas pixel a pixel en la sensibilidad de la salida. En el intervalo medio de intensidad de luz, el ruido dominante es el *ruido de impacto*. En este caso, manifiesta por sí mismo variaciones en el número de electrones generados por fotón en los pixels individuales. En el intervalo alto de intensidad de luz, el ruido pixel a pixel alcanza la heterogeneidad de la respuesta en las regiones de los pixels: éste es el *patrón de ruido fijo*. En otras palabras, el dispositivo no es perfecto e idéntico en todos los pixels. Sin embargo, ya que el patrón de ruido fijo es la mayor parte del error determinado, se puede corregir calibrando los



Microfotografía de pixels de un CCD.

pixels individualmente. La calibración se lleva a cabo iluminando el dispositivo en su totalidad al mismo nivel. La respuesta resultante de todos los pixels se almacena, y cuando se lleva a cabo un experimento, los niveles de lectura a la salida de cada uno de los pixels se multiplican por el inverso de su respuesta homogénea. Sin embargo, esta corrección se obtendrá solamente para la longitud de onda calibrada. Se produce el límite de calibración de la longitud de onda ya que los CCD tienen respuestas de salida que dependen de la longitud de onda, tal como se ve en la Figura 8C.5.

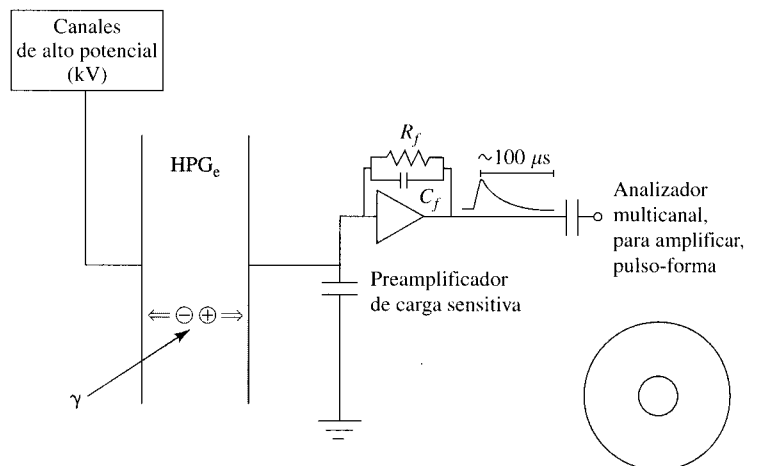
Detectores de rayos X y gamma

La manera en que trabajan los detectores de rayos X y los semiconductores γ es similar, así que las explicaciones para los detectores γ que se dan aquí se pueden aplicar a los dos. La principal diferencia entre los dos es que los semiconductores de rayos X utilizan cristales de **litio silicio** Si(Li), que se usan a temperatura ambiente, mientras que los detectores γ están compuestos de **germanio de alta pureza**, que debe enfriarse a la temperatura del N_2 líquido, 77 K. El detector de germanio se abrevia como HPGe, que también se presenta con el nombre alternativo, **germanio hiperpuro**. En una nomenclatura más antigua el término utilizado era *detector intrínseco de germanio* (IGD).

Se debe convertir la radiación en una señal eléctrica. Esta radiación resulta de la radiación generada por un par de agujeros de electrones, recogiendo estas cargas como pulsos de corriente. Para hacer este proceso más eficaz se utilizan átomos pesados, ya que el proceso de formación de electrones es más probable con mayor densidad; con un espesor dado de material, se puede detener más radiación. Se elige HPGe por su alta masa y su baja recombinación de agujeros con electrones, comparada con sus tiempos de tránsito a través del volumen. Como resultado, las cargas se pueden barrer en la superficie mediante el potencial (unos pocos kV) colocado a lo largo del detector, tal como se muestra en la Figura 8C.7. Estas corrientes primero se amplifican mediante un estado preamplificador, que es sensible a la carga producida. EL circuito *feedback*, que consiste en R_f y C_f , establece la forma de salida en el amplificador principal.

La energía de la radiación se mide directamente por la magnitud de la carga en el pulso generado cuando la radiación pasa al material del detector. El número de pares agujeros-electrones generado depende linealmente de la energía de la radiación. Estos pulsos se forman y amplifican y se clasifican en canales separados por su amplitud. La

FIGURA 8C.7 ► Operación de un detector HPGe para radiación gamma.



clasificación se da mediante un **analizador multicanal (MCA)**. Después de calibrar el MCA, los canales se pueden asociar con las energías gamma específicas.

Se utilizan dos geometrías diferentes de material semiconductor, un disco y un cilindro coaxial. Éstos se muestran a lo largo de la sección de la Figura 8C.7. Para más información, se recomienda el texto de Gilmore y Hemingway.

8D. Profundizando: Deducción de la ley de Lambert-Beer

La ley de Lambert-Beer (comúnmente abreviada como ley de Beer) indicada algebraicamente en la Ecuación 8-12a, tiene su origen en la experimentación. Su forma normalmente aceptada se postuló en 1852, antes de disponer de la teoría y los equipos de espectroscopía molecular. En el efecto descrito por la ecuación están implicadas tres magnitudes.

1. La cantidad de luz incidente en la muestra y que pasa a través de ella.
2. El espesor de la muestra.
3. La cantidad de analito en la muestra: su concentración.

La forma general de la ley de Beer se puede racionalizar como se muestra en la Figura 8D.1a. Empezamos con un bloque fino de material de espesor Δx con luz de potencia incidente P_0 . Alguna fracción de luz incidente pasa a través del bloque. Sin importar las condiciones del mecanismo molecular de atenuación de luz, la cantidad de luz que pasa a través P_1 , se puede expresar como un número, k , de veces P_0 ; para $0 \leq k \leq 1$.

Ahora juntamos dos bloques. Si se ignora la posibilidad de tener cualquier luz reflejada de la superficie (no del todo cierto), entonces el resultado será el mismo que si se colocaran dos bloques aparte, como en la Figura 8D.1b. La cantidad de luz que entra a través del primer bloque es la luz incidente en el segundo bloque. Así:

$$P_2 = kP_1 = k \cdot kP_0 = k^2P_0; \quad k < 1$$

Si ahora pensamos en una muestra utilizada en un análisis que tiene una longitud de paso óptico b , entonces el número de muestras que ajustaremos en esta longitud es:

$$n = \frac{b}{\Delta x}$$

y

$$P_n = k^n P_0 = k^{b/\Delta x} P_0$$

Organizando esta ecuación y tomando logaritmos en ambos lados, encontramos:

$$\log \left(\frac{P_n}{P_0} \right) = \frac{b \log k}{\Delta x}$$

o como el logaritmo de k y Δx son constantes

$$-\log \frac{P_n}{P_0} = \alpha b$$

donde α es una constante positiva y b es la longitud de paso óptico total. Ésta es la razón por la que se define la Absorbancia como $-\log (P/P_0)$. Esta ecuación indica que la absorbancia cambia linealmente con la longitud de paso óptico.

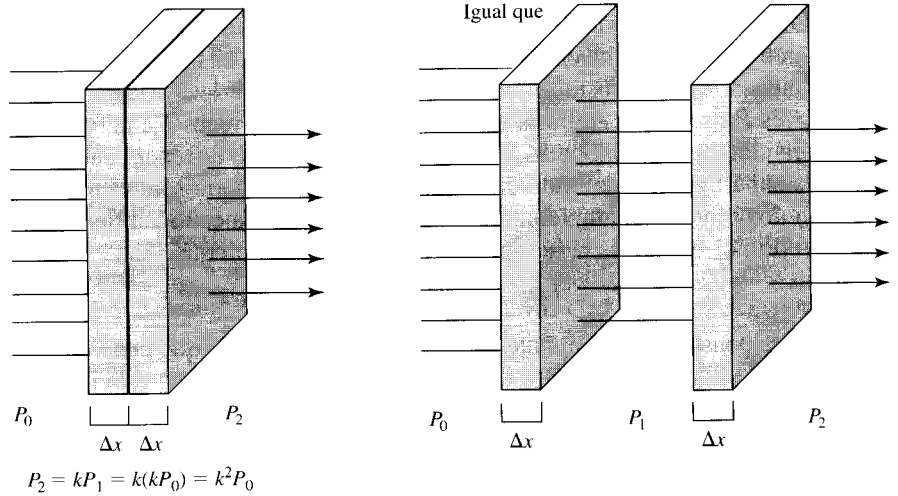
La constante α se puede expresar como el producto de una concentración del material que absorbe la luz y una nueva constante que es propiedad del material. Hay dos maneras de expresar esto:

$$\alpha = ac$$

(a)



(b)



(c)

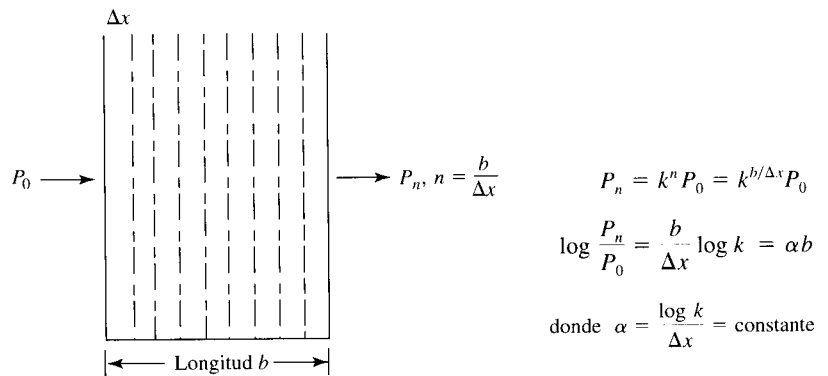


FIGURA 8D.1 ▲ Representación de la deducción de la ley de Beer.

donde a es una constante con unidades $\text{cm}^{-1} (\text{g/L})^{-1} = \text{L g}^{-1}\text{cm}^{-1}$. La constante a se denomina *absortividad*. En la literatura más antigua también se llama *coeficiente de absorción*. Las unidades de la ecuación son:

$$A(\text{adimensional}) = a (\text{L g}^{-1}\text{cm}^{-1}) b (\text{cm}) c (\text{g L}^{-1})$$

En los análisis químicos es más común utilizar

$$\alpha = \epsilon c$$

ϵ tiene unidades de $\text{cm}^{-1} (\text{mol/L})^{-1}$, y c en mol L^{-1} . ϵ se denomina *absortividad molar* (actualmente se prefiere) o *coeficiente de extinción molar*. La ecuación para la absorbancia es entonces:

$$A (\text{adimensional}) = \epsilon (\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}) b (\text{cm}) c (\text{mol L}^{-1})$$

como se indica en la Ecuación 8-12c.

Luminiscencia y su dependencia con la concentración

¿Dónde se pierde la radiación absorbida por la disolución? Normalmente la pérdida se produce en la matriz mediante las transiciones no radiativas y, al final, en el calentamiento de las muestras. Sin embargo, se puede reemitir algo de intensidad como luminiscencia. La fracción que se reemite se denomina **eficiencia cuántica**, abreviada como Φ . Así, la intensidad de luminiscencia radiada sobre 4π esterorradianes, denominada P_L , se puede escribir como:

$$P_L = \Phi (P_0 - P); \quad \text{sobre } 4\pi \text{ esterorradianes}$$

Sin embargo, la ley de Lambert-Beer muestra que $A = -\log (P/P_0) = \epsilon bc$. Se puede hacer una afirmación alternativa de este resultado tomando la exponencial en ambos lados y reagrupando la ecuación:

$$P = P_0 e^{-\epsilon bc}$$

Sustituyendo esta expresión por P en la ecuación de la intensidad de luminiscencia, encontramos:

$$P_L = \Phi P_0 (1 - e^{-\epsilon bc}); \quad \text{sobre } 4\pi \text{ esterorradianes}$$

Ya que la absorbancia depende de la longitud de onda, y por tanto la luminiscencia vamos a considerar que se utiliza una longitud de onda fija. Esta ecuación muestra entonces que la dependencia de la concentración con la luminiscencia no es la forma lineal preferida. Sin embargo, la respuesta se puede hacer lineal si se desea, trabajando con bajas concentraciones.

Coloquemos un límite a la desviación de la linealidad de 0,005, es decir, la mitad del porcentaje. Reorganizando la exponencial se puede escribir una serie de potencias:

$$e^{-\epsilon bc} = 1 - \epsilon bc + (\epsilon bc)^2 - \dots$$

Si $\epsilon bc < 0,07$, entonces la mayor desviación de la linealidad $(\epsilon bc)^2 < 0,005$, el límite impuesto. Así, si la absorbancia de la disolución dentro del paso de luz permanece por debajo de 0,07, se puede utilizar la ecuación

$$P_L = \Phi P_0 \epsilon bc; \quad \text{sobre } 4\pi \text{ esterorradianes}$$

Como se entenderá, el detector solamente recoge algunas fracciones de luminiscencia total, y responde de manera diferente a distintas longitudes de onda. Como resultado, para una longitud de onda fija y una geometría fija,

$$\text{La luminiscencia detectada} \propto c; \quad A < 0,07$$

que muestra los límites de aplicabilidad de la Ecuación 8-13.

8E. Profundizando: Nomenclatura de absorción molecular y luminiscencia

Como se sabe, las moléculas sólo pueden existir en niveles de energía moleculares cuantizados específicos. Las energías están cuantizadas de manera similar a la cuantización de la energía atómica. Sin embargo, no sólo los niveles de energía electrónicos están cuantizados, sino que las moléculas presentan estados de energía vibracionales y rotacionales cuantizados. Como resultado, incluso a partir del espectro de moléculas simples aparecen varias líneas en la fase gaseosa. Tal juego de líneas —debido a transiciones entre niveles rotacionales individuales— se muestra en la Figura 8E.1. El espectro está en la región visible. Nótese que las líneas de emisión individuales están separadas aproximadamente 0,03 nm. En un sólido o disolución, estas líneas individuales se ensanchan y se vuelven **bandas** sin resolver. Como resultado, aunque las líneas individuales se pueden utilizar para análisis de moléculas en fase gaseosa, cualquier espectro que se use para análisis en medio condensado (líquidos y sólidos) tiene, a lo más, bandas sin resolver debido a un gran número de transiciones espectrales. Véanse ejemplos en las Figuras 8.18 y 8E.2.

Se utilizan dos convenios diferentes para representar los orígenes del espectro molecular. El primero, en la Figura 8E.3, muestra una representación de energía frente a la distancia entre los átomos en una molécula diatómica. La curva muestra cómo cambia la energía de la molécula con la distancia interatómica. Las líneas de flechas individuales indican las energías cuánticas vibracionales permitidas. Figuras como éstas se utilizan sólo para moléculas sencillas, ya que para moléculas más complejas hay algunas distancias interatómicas diferentes.

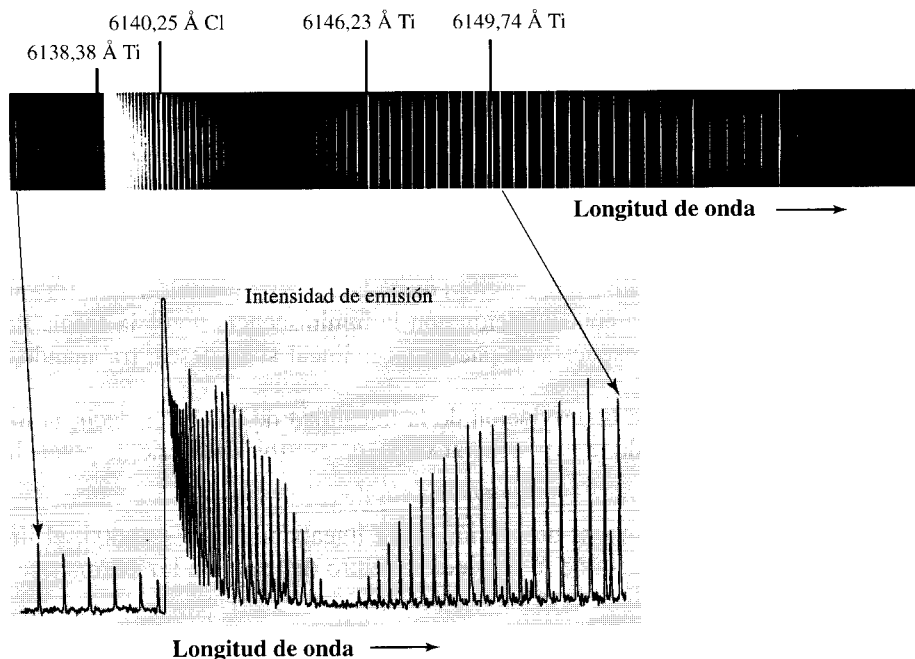
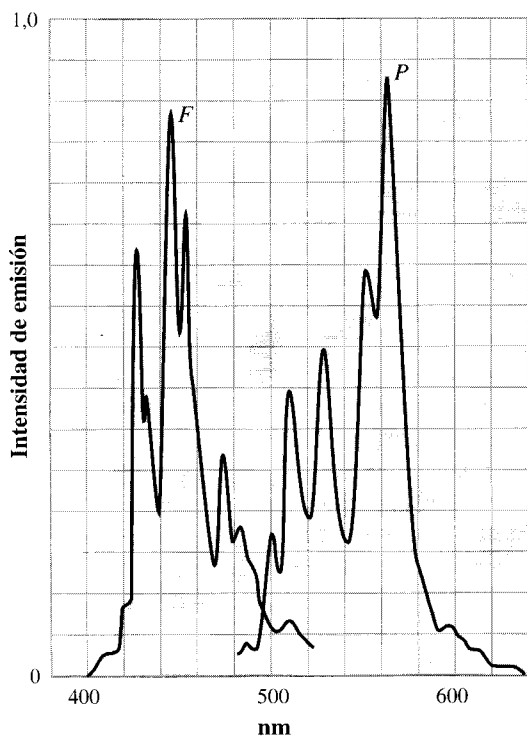


FIGURA 8E.1 ▲

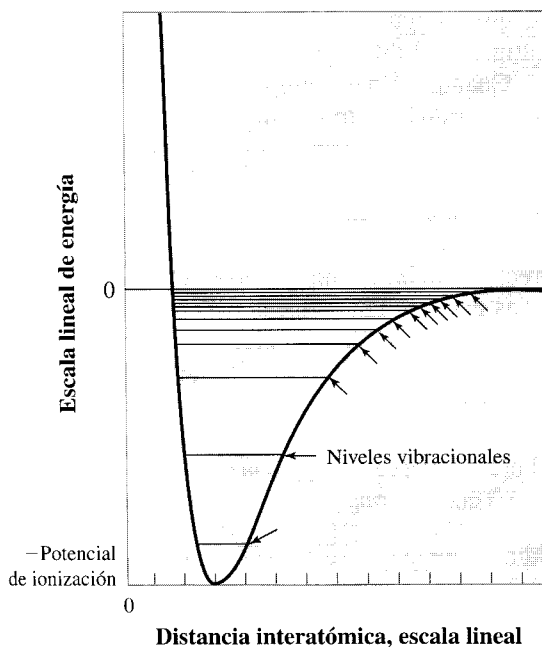
Espectro de banda vibracional en el espectro de emisión de nitruro de titanio, TiN, en fase gaseosa.

Las líneas de emisión son luz y si la figura fuera en color, serían rojas. Las líneas son debidas a las transiciones entre niveles rotacionales cuantizados de la molécula. En la parte superior aparecen también cuatro líneas de emisión de átomos que estaban presentes. Debajo se muestra una representación gráfica típica. El intervalo de longitud de onda total de la gráfica es aproximadamente de 1 nm. [Reproducido con permiso de the National Research Council of Canada from *Canadian J. Phys.* 1970, 48, 1657-1663.]



◀ FIGURA 8E.2
Espectro de emisión
de coroneno disuelto
en un polímero.

F indica emisión de fluorescencia y *P* indica fosforescencia. Temperatura ambiente; la emisión de fluorescencia se multiplica por 5 [Ref.: Reimpresión de West, M. A. Kemp, D. R. 1976. *Intl. Lab. May/June*, 39. Copyright 1976 por International Scientific Communications, Inc.]



◀ FIGURA 8E.3
Representación calculada
de la energía potencial
intramolecular de una
molécula diatómica cuando
varía con la distancia
interatómica.

La molécula puede estar en cualquiera de los niveles vibracionales cuantizados de energía, que se indican mediante líneas horizontales. Las transiciones entre los niveles vibracionales tienen niveles de energía en la región del infrarrojo.

El segundo convenio se ejemplifica en el diagrama de energías de los átomos y moléculas, en la Figura 8E.4. En este caso, hay dos grupos separados, mostrando cada uno las energías de los estados con un espín específico. Los estados con los espines apareados $\uparrow\downarrow$ estados singlete— están a la izquierda. Los estados con los espines

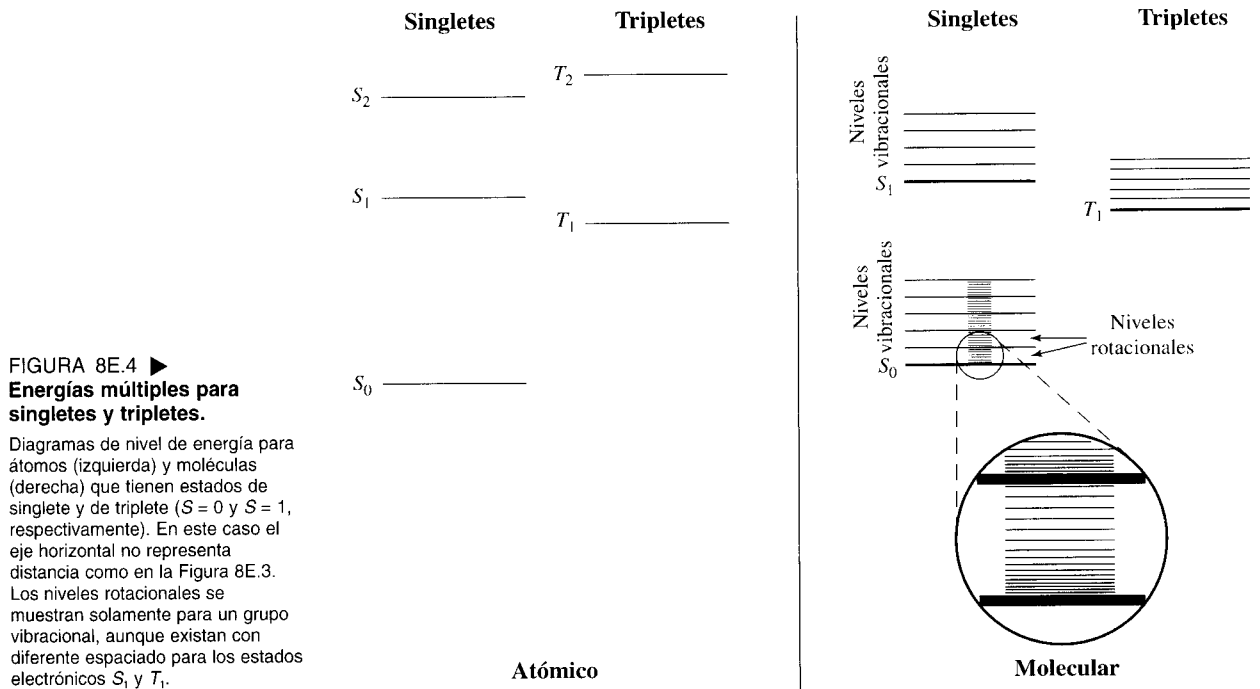


FIGURA 8E.4 ► **Energías múltiples para singletes y tripletes.**

Diagramas de nivel de energía para átomos (izquierda) y moléculas (derecha) que tienen estados de singlete y de triplete ($S = 0$ y $S = 1$, respectivamente). En este caso el eje horizontal no representa distancia como en la Figura 8E.3. Los niveles rotacionales se muestran solamente para un grupo vibracional, aunque existen con diferente espaciado para los estados electrónicos S_1 y T_1 .

paralelos —↑↑ estados triplete— están a la derecha. *Singlete* y *triplete* son dos casos especiales de diferente **multiplicidad**, que es igual a $(2S + 1)$, número de estados cuantizados. Cada grupo tiene una multiplicidad diferente: singletes para niveles con $S = 0$, y tripletes para niveles con $S = 1$. Cuando sólo están implicados fotones (absorción o emisión), las moléculas pocas veces transforman un singlete en triplete o viceversa. Esto se denomina **reglas de selección**: $\Delta S = 0$, generalmente. Sin embargo, las reglas de selección no son absolutas. *Algunas* transiciones tienen $\Delta S \neq 0$, tal como se muestra en la Figura 8E.5. Otra regla que se conoce es que las transiciones del dipolo eléctrico tienen $\Delta l = 1$.

Para las moléculas, cada línea estrecha, que indica un estado electrónico, tiene un grupo de líneas estrechamente espaciadas encima. Estas líneas más estrechas indican los niveles de energía vibracional asociada con cada estado electrónico, exactamente como se ve en los grupos de líneas de la Figura 83.E. Los niveles de energía rotacional más estrechamente espaciados se indican solamente para evitar tener una figura completamente negra.

Los párrafos anteriores presentan el prelude necesario para la corrección de las definiciones simples de fluorescencia y fosforescencia —dos formas de luminiscencia.

Fluorescencia es una transición radiativa en la que se emite un fotón, pero no cambia la multiplicidad. Esto se representa en la Figura 8E.5.

Fosforescencia es una transición radiativa en la que se emite un fotón, y cambia la multiplicidad.

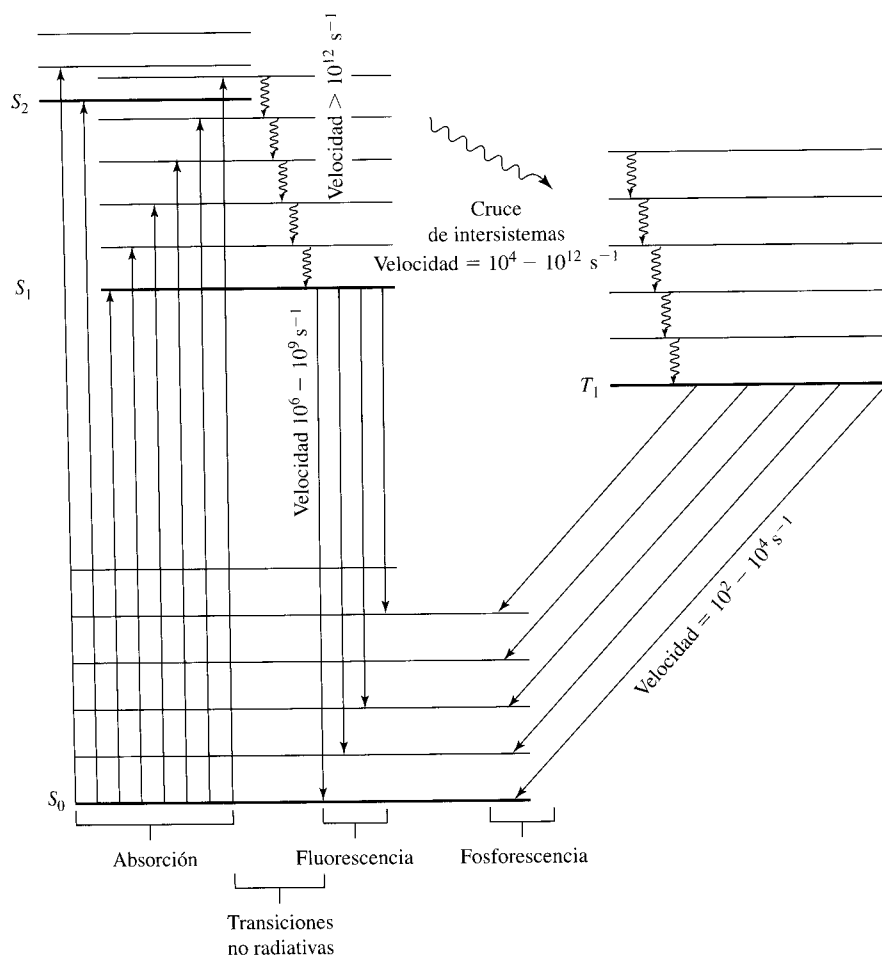
En general, la emisión de fosforescencia dura más tiempo que la fluorescencia. Ésta es la razón de la separación original de la luminiscencia en dos fenómenos separados. Indicaremos que para que tome parte la fosforescencia debe ocurrir un **entrecruzamiento de sistemas** (singlete a triplete). El cruce de sistemas puede competir con la

emisión de fluorescencia y sus velocidades relativas determinan si ocurre o no fosforescencia.

Los cambios de energía producidos por transiciones entre niveles de energía moleculares pueden ocurrir tanto por procesos radiativos (flechas sólidas) —que emiten un fotón— o por procesos no radiativos (flechas onduladas) —que producen calor—. Las flechas se dan entre niveles de energía. (Si la transición ocurre solamente entre los niveles más bajos de cada uno de los estados electrónicos, el espectro de la Figura 8E.1 podrá tener una línea; el espectro molecular puede ser como un espectro atómico «sencillo», tal como el que se muestra en las Figuras 9.1 y 9.3, en las páginas 372 y 375.)

Es importante reconocer que las transiciones de diferentes tipos tienen lugar a diferentes velocidades. Por ejemplo, la transición no radiativa entre niveles vibracionales ocurre en menos de 10^{-12} s. Otras velocidades se representan en la Figura 8E.5. Ya que la transición no radiativa es demasiado rápida, una molécula excitada para cualquier nivel vibracional o rotacional cae rápidamente en el nivel más bajo de energía del estado. Así, las emisiones de fluorescencia y de fosforescencia tienden a originarse desde los niveles más bajos, tal como se representa en la Figura 8E.5.

Veamos otra característica general de interés. Como se muestra en la Figura 8E.5, el estado triplete excitado es más bajo energéticamente que el estado singlete excitado



◀ FIGURA 8E.5
Transiciones representativas y velocidades de transición entre estados de una molécula que tiene ambos estados singlete y triplete.

Los tipos de transición están representados con flechas desde el nivel original hasta el nivel final de la transición.

más bajo. Como resultado, se dan más a menudo transiciones fosforescentes a menores energías (mayores longitudes de onda) que fluorescentes, tal como se ve en el espectro mostrado en la Figura 8E.2.

Además, algunas moléculas se pueden almacenar en estados que no originan transiciones al nivel fundamental sin violar la regla de selección. Son ejemplos los estados excitados de tripletes ($\Delta S \neq 0$) o estados atómicos tales como el estado $2S$ en el que $1S$ es un estado base $1S \rightarrow 2S$ tiene $\Delta l \neq 1$. La energía sólo se libera lentamente como emisión espontánea. Sin embargo, la transición se produce mucho más deprisa si se estimula la molécula a la longitud de onda de fosforescencia. Esto es **emisión estimulada**: La transición al menor estado ocurrirá rápidamente —se estimulará— si la partícula se ilumina a la misma longitud de onda que la transición lenta. El resultado es la amplificación de la luz mediante emisión estimulada de radiación, que se reconocerá por sus iniciales como **láser**.

Tanto la emisión atómica como la molecular se utilizan para producir luz de láser. Tres sistemas gaseosos de láser son Ar^+ , CO_2 y una mezcla de He-Ne. Es común un lingote de granate sólido —de fórmula general $\text{M}_2^{3+}\text{M}_3^{2+}(\text{SiO}_4)_3$ — con iones metálicos de itrio y aluminio dopado con neodimio. Se abrevia como Nd:YAG para granate de neodimio itrio aluminio. Otra clase comprende colorantes que contienen rodio —colorantes rodíados— en disolución, como dispositivos sólidos —la luz que emite diodos—. Éstos y otras longitudes de onda de láseres se recogen en la Figura 8B.1.

Bibliografía recomendada

THOMAS, M. J. K., ANDO, D. J. 1996. *Ultraviolet and Visible Spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons.

Este libro se caracteriza por un estilo fácil e informal, y trata la mayoría de los aspectos de la espectrometría de absorción aplicados al análisis. Fácil de leer y recomendado. Este libro cambia un poco con respecto a la 1.^a edición de Denney y Sinclair.

INGLE, J. D. J., CROUCH, S. R. 1988. *Spectrochemical Analysis*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

Un buen lugar donde buscar un tratamiento más avanzado de los temas mencionados en este capítulo. En el Capítulo 5 se encuentra un tratamiento especialmente fino de S/R espectroscópica.

SOMMER, L. 1989. *Analytical Absorption Spectrophotometry in the Visible and Ultraviolet: The Principles*. Amsterdam: Elsevier.

Estudia de manera comprensiva y detallada algunas técnicas que implican la espectrometría UV-Vis. Es una buena lectura si se buscan soluciones precisas para espectrometría.

ANDREWS, D. L. 1992. *Applied Laser Spectroscopy: Techniques, Instrumentation, and Applications*. New York: VCH Publishers.

Una gran cantidad de información interesante de cómo se dan los experimentos de espectroscopía con láser. Algunos capítulos tienen secciones de aplicaciones en análisis químicos. Especialmente bueno en la parte analítica es el capítulo de las técnicas Raman.

RENDELL, D. 1987. *Fluorescence and Phosphorescence*. Chichester: John Wiley & Sons.

Un libro de fácil lectura sobre la fluorescencia y fosforescencia, y sus aplicaciones analíticas. Incluye aplicaciones actualizadas.

MILLER, J. N., ed. 1981. *Standards in Fluorescence Spectrometry*. London and New York: Chapman and Hall.

Este breve monográfico contiene detalles sobre los procedimientos para calcular y obtener espectros de fluorescencia cuantitativos. Trata algunos aspectos de absorción. Sobresaliente y conciso, a pesar de su época.

WARNER, I. M., MCGOWN, L. B. 1982. «Recent Advances in Multicomponent Fluorescence Analysis.» *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* 13, 155-222.

Un informe de análisis de fluorescencia escrito para un nivel moderadamente avanzado.

KODAMA, K. 1963. *Methods of Quantitative Inorganic Analysis*. New York: Wiley/Interscience.

Una enciclopedia de un solo volumen que contiene métodos colorimétricos para todos los elementos. Contiene una enorme cantidad de información. Se podría leer, quizás, como un libro de historia.

SHARPE, M. R. 1984. «Stray Light in UV-VIS Spectrometers.» *Anal. Chem.* 56, 339A-356A.

Un informe excelente de los efectos de las fuentes de luz directa. Muy recomendado.

HAGER, R. N., Jr. 1973. «Derivative Spectroscopy with Emphasis on Trace Gas Analysis.» *Anal. Chem.* 45, 1131A.

Una descripción matemática corta de espectrometría derivada. Merece la pena su lectura a pesar de su época.

URBAN, M. W. 1996. *Attenuated Total Reflectance Spectroscopy of Polymers*. Washington, D.C.: American Chemical Society.

Trata detalladamente el tema del título. El lector debe estar familiarizado con el análisis armónico antes de leerlo (ej., relación Kronig-Kramers).

A Guide to Integrating Sphere Photometry and Radiometry. North Sutton, NH: Labsphere, Inc.

Una guía elemental para espectrometría de reflectancia con esferas integradas.

MARSHALL, A. G., COMISARO, M. B. 1978. *Multichannel Methods in Spectroscopy*. Transform Techniques in Chemistry. P. R. Griffiths, ed. New York: Plenum. Capítulo 3.

Un capítulo excelente de transmisión simultánea en espectrometría.

HAPKE, B. 1993. *Theory of Reflectance and Emittance Spectroscopy*. Cambridge: Cambridge University Press.

Cubre de manera sistemática y descriptiva y claramente escrito, pero matemáticamente completo, la reflexión especular y la dis-

persión, así como un capítulo adicional de espectroscopía de reflectancia. No alcanza el análisis químico aunque lo trata levemente.

Melles Griot Optics Guides. Irvine, CA: Mellers Griot.

Es un catálogo de una compañía que tiene una gran cantidad de información práctica acerca de componentes ópticos; escrito e ilustrado de manera clara.

CHAMBERLAIN, J. 1979. *The principles of Interferometric spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons.

Una demostración rigurosamente matemática de los factores que implican las medidas del espectro con interferómetros y que presentan después una transformada de Fourier.

Fibras ópticas

KROHN, D. A. *Fiber Optics Sensors: fundamentals and Applications*. Research Triangle Park, NC: Instrument Society of America.

Este libro contiene una gran cantidad de información sobre el título, de fácil lectura. El texto incluye no sólo los sensores químicos, sino también los físicos.

WOLFBEIS O. S. 1991. *Fiber Optic Chemical Sensors and biosensors*, Vols. I & II. Boca Raton: CRC Press.

Dos volúmenes de información sobre sensores de fibra óptica. El nivel varía desde óptica física matemática a aplicaciones descriptivas. Algunas cuestiones son difíciles de encontrar. Aplicación en todas las áreas de análisis químico.

CANCELLIERI, G., RAVAIOLI, U. 1984. *Measurements of Optical Fibers and Devices: Theory and Experiments*. Dedham, MA: Artech House.

Contiene todo lo referente a óptica de fibras ópticas. Escrito para ingeniería eléctrica.

KRICKA, L. J., THORPE, H. G. 1983. «Chemiluminescent and Bioluminescent Methods in Analytical Chemistry.» *Analyst*. 108, 1274-1296.

MILLER, J. N. 1984. «Recent Developments in Fluorescence and Chemiluminescence Analysis.» *Analyst*. 109, 191-198.

Dos artículos antiguos pero interesantes en el área de la quimoluminiscencia.

Detectores

RIEKE, G. H. 1994. *Detection of light: from the ultraviolet to the submillimeter*. New York: Cambridge University Press.

Texto único y relativamente reciente sobre detectores espectrométricos. La mejor continuación para leer.

SWEEDLER, J. V., RATZLAFF, K. L., DENTON, M. B. 1994. *Charge-Transfer Devices in Spectroscopy*. New York: VCH Publishers.

Un libro único en el uso de CCD y CID para detectores multicanal. El Capítulo 2 sobre los principios de CCD y los capítulos de aplicaciones, son quizás, los más útiles.

BILHORN, R. B., SWEEDLER, J. V., EPPERSON, P. M., DENTON, M. B. 1987. «Charge Transfer Device Detectors for Analytical Optical Spectroscopy-Operation and Characteristics.» *Appl Spect.* 41:1114-1124.

Un excelente artículo que incluye una comparación de las señales mínimas detectables de diversos detectores ópticos.

BILHORN, R. B., EPPERSON, P. M., SWEEDLER, J. V., DENTON, M. B. 1987. Spectrochemical Measurements with Multichannel Intergrating Detectors. *Applied Spectroscopy*. 41:1125-1136.

Un artículo breve, no matemático, de los beneficios y las limitaciones de los detectores multicanal CCD/CID para diversos tipos de experimentos espectroscópicos.

JANESICK, J. R., ELLIOT, T., COLLINS, S., MARSH, H., BLOUKE, M. M., FREEMAN, J. 1984. «The future scientific CCD.» *SPIE Vol 501 State-of-the-Art Imaging Arrays and Their Applications*. 2-31.

A pesar de su época, es un valioso artículo sobre las fuentes de ruido en las CCD. Unas pocas secciones son para un nivel avanzado, pero la mayoría son bastante claras.

Ejercicios

- 8.1. En un instrumento de absorción, una muestra proporcionó una Absorbancia de 0,335 cuando la línea base es $A = 0,0$. De algún modo, entró alguna mota en el paso de luz, y la línea base se incrementó a 0,120. ¿Qué lectura de Absorbancia se obtendrá para la muestra?
- 8.2. Un pico en la parte del espectro UV-Visible tiene un máximo a 582 nm y una anchura media máxima de 100 nm.
- (a) ¿Cuál es la energía de la transmisión basada en su λ_{\max} ?
- (b) ¿A qué posición en número de onda corresponden 532 y 632 nm (límites atnm)?
- (c) ¿Cuál es la anchura de banda del pico en cm^{-1} ?
- (d) ¿Cuál es el proceso más probable que dé origen a esta transición?
- (e) ¿Cuál es la frecuencia de luz que corresponde a la máxima absorbancia?

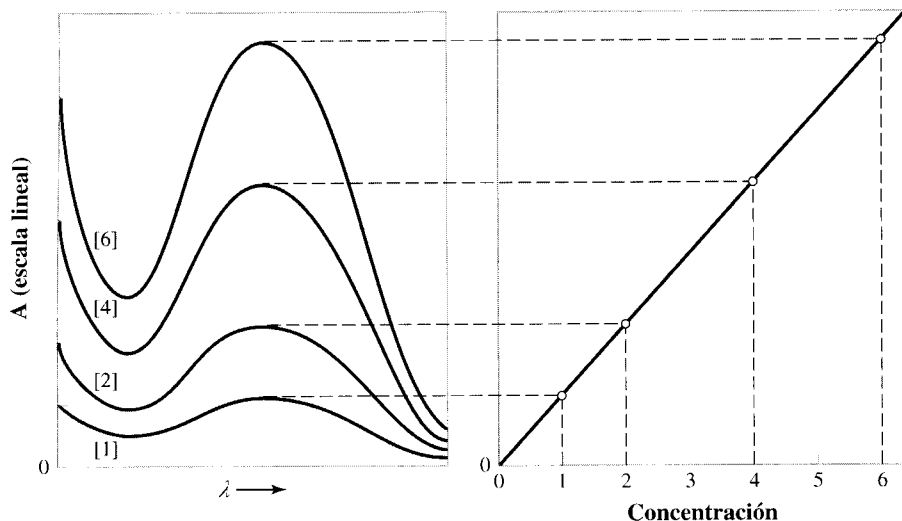


FIGURA 8.3.1 ▲

8.3. Este ejercicio está relacionado con la Figura 8.3.1. Supóngase que las concentraciones son en mM y el máximo de Absorbancia de la disolución menos concentrada es $A = 0,120$. El peso molecular del compuesto es de 320,4 y la célula donde se coloca la muestra tiene una longitud de paso óptico de 2,000 cm.

- ¿Cuál es el valor de la absorptividad molar?
- ¿Cuál es la absorptividad en $\mu\text{g}^{-1}\text{L cm}^{-1}$?
- ¿Cuál es la sensibilidad del ensayo en unidades de absorbancia mol^{-1}L ?

8.4. Para una transición con un máximo a 1600 cm^{-1} y una anchura de línea de 20 cm^{-1} :

- ¿Cuál es la anchura de banda espectral máxima?
- ¿Cuál debería ser la anchura de banda espectral máxima para la cuantificación empleando el pico?
- ¿Cuál es la longitud de onda que corresponde al máximo?
- ¿En qué región del espectro electromagnético aparece el pico y a qué clase de transición corresponde?

8.5. La Figura 8.5.1 muestra la salida de un analizador de flujo continuo que trabaja a $120\text{ muestras h}^{-1}$ y analiza nitrito. Las muestras se separan con burbujas de aire para prevenir la contaminación transversal. Cada muestra se hace reaccionar con sulfanilimida, y el nitrito presente forma un compuesto coloreado que se registra cuando fluye a través del detector espectrométrico. La respuesta para cada una de las disoluciones estudiadas alcanza el nivel de medida que se desprende de las muestras que pasan a través de ellas. La figura incluye las señales de los estándares de nitrito 2-, 6-, 10-, 14- y $18\text{-}\mu\text{M}$ (NO_2^-), un test de contaminación intermuestra y un ensayo de repetibilidad. ¿Cuál es la sensibilidad del instrumento en (unidades de absorbancia) ($\mu\text{g NaNO}_2$) ^{-1}L ? Supóngase que las muestras fueron cada una de $100\text{ }\mu\text{L}$. [Figura reimpresa con permiso de Patton, C. J., et al. 1984. *Anal. Chem.* 54:1113. Copyright 1982, American Chemical Society.]

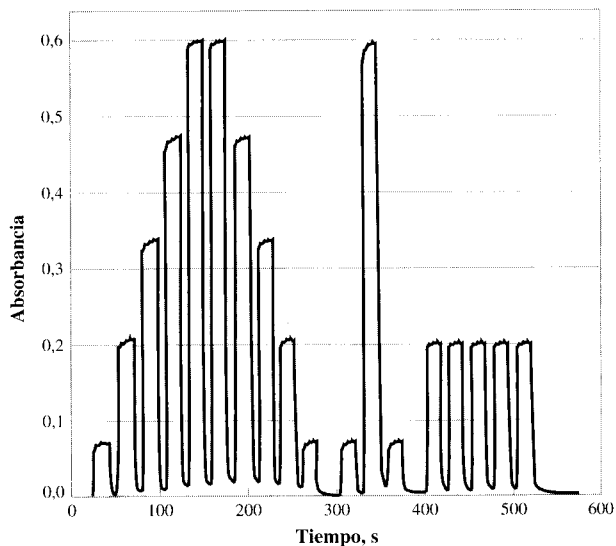


FIGURA 8.5.1 ▲

[Reimpresa con permiso de *Analytical Chemistry*. Copyright 1982 American Chemical Society.]

8.6. Indíquese qué temperatura es equivalente a:

- 17000 cm^{-1} .
- 1 eV.
- $1,25\text{ }\text{Å}$.

8.7. En la Figura 8.7 se muestran la señal en % T proporcionada por 2 muestras. El analito es el mismo y las condiciones de la muestra son las mismas para ambas. Se comprobaron los valores de 0% y de 100% T , se encontró que coincidían y se corrigieron los análisis. ¿Cuál es la concentración relativa de las dos muestras, $[A]/[B]$?

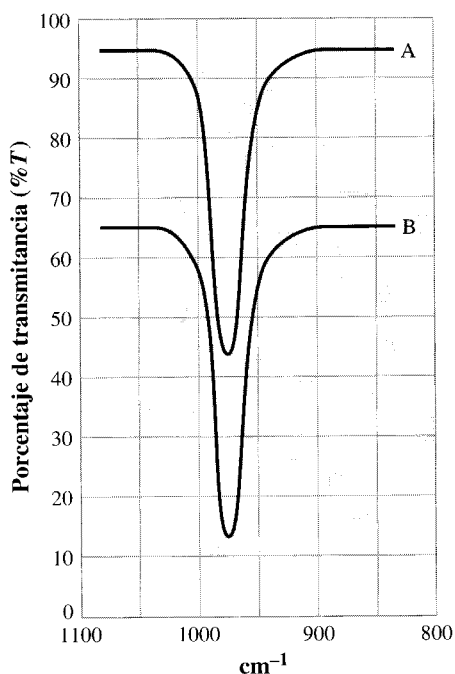


FIGURA 8.7.1 ▲

- 8.8. Se realizó el análisis por Absorción Atómica con llama de una serie de muestras de aguas de río y estuario, que se recogieron y almacenaron al 1% de HNO_3 . Los datos de la determinación de magnesio se muestran en la Tabla 8.8.1. Las medidas se hicieron por triplicado y se grabaron. Las condiciones de trabajo fueron: longitud de onda 202,5 nm, corriente de la lámpara 10 mA, y paso de la banda espectral 10 nm. [Datos de Liddell, P. R. 1983. *Am. Lab.* (March), 15:111.]
- Complétese la tabla.
 - Calcúlese el RSD medio para los tres estándares dados a partir de sus RSD individuales.
 - Las muestras 1, 5 y 6 se sacaron del mismo punto del río. Se incluyeron para evaluar los errores de la reco-

gida de muestras y de almacenamiento. ¿Cuál es el RSD debido a la colección de muestras y sólo al almacenamiento?

- Se diseñó un ensayo espectrométrico para determinar nicotina con una concentración final de 0,005 a 0,020 mg L^{-1} . Si se utiliza una muestra de orina de 500 mL y se concentra toda la nicotina presente durante la preparación de la muestra en una disolución final de 10,00 mL de volumen, ¿cuál es la mínima concentración (mg L^{-1}) de nicotina que se puede detectar en la orina utilizando este procedimiento?
- Se llevó a cabo un análisis espectrométrico de un compuesto con $\epsilon = 5000$. La disolución patrón tenía una concentración de 0,0203 M. Si la longitud de paso óptico es de 1,000 cm y la absorbancia final de alrededor 0,4 a 0,5, ¿en qué factor podría diluirse la disolución patrón?
- En un ensayo de emisión atómica, las líneas para dos analitos aparecen a 220,7 y 221,2 nm. Hay un 90% de valle entre los dos picos cuando el instrumento se encuentra trabajando en condiciones óptimas. ¿Cuál es el poder de resolución del instrumento ($\lambda/\Delta\lambda$)?
- A partir de los datos mostrados en la Figura 8.18.
 - ¿Cuál es la absortividad molar de Co-AEDT y Ni-AEDT en su pico máximo?
 - ¿Cuál es la concentración, en gramos de metal L^{-1} , de Co y Ni en la mezcla?
- La Figura 8.13.1 muestra los resultados de los datos preliminares obtenidos durante el desarrollo de un ensayo fluorométrico para el aminoácido glicina. La glicina reacciona con un reactivo, fluorescamina, que forma un producto fluorescente con aminas. Los tres barridos mostrados son: (a) la intensidad relativa de emisión en función de la longitud de onda de excitación barrida —espectro de excitación a una longitud de onda de emisión fija—; (b) el espectro de emisión encontrado a una longitud de onda de excitación fija; y (c) un gráfico de la intensidad de fluorescencia relativa con ambas longitudes de onda excitación y emisión fijas pero variando el pH. Supóngase que la forma del espectro no varía con el pH.

Tabla 8.8.1

Disolución	Concentración (mg/L)	Lecturas de absorbancia			Desviación estandar relativa (%)
Blanco	0,000	0,001	0,001	0,001	0,0
Estándar 1	6,000	0,351	0,357	0,361	1,4
Estándar 2	15,000	0,714	0,711	0,712	0,1
Estándar 3	30,000	1,252	1,264	1,268	0,6
Muestra 1	—	0,558	0,566	0,563	—
Muestra 2	—	0,364	0,369	0,372	—
Muestra 3	—	0,385	0,388	0,385	—
Muestra 4	—	1,008	1,020	1,011	—
Muestra 5	—	0,555	0,563	0,565	—
Muestra 6	—	0,590	0,598	0,595	—

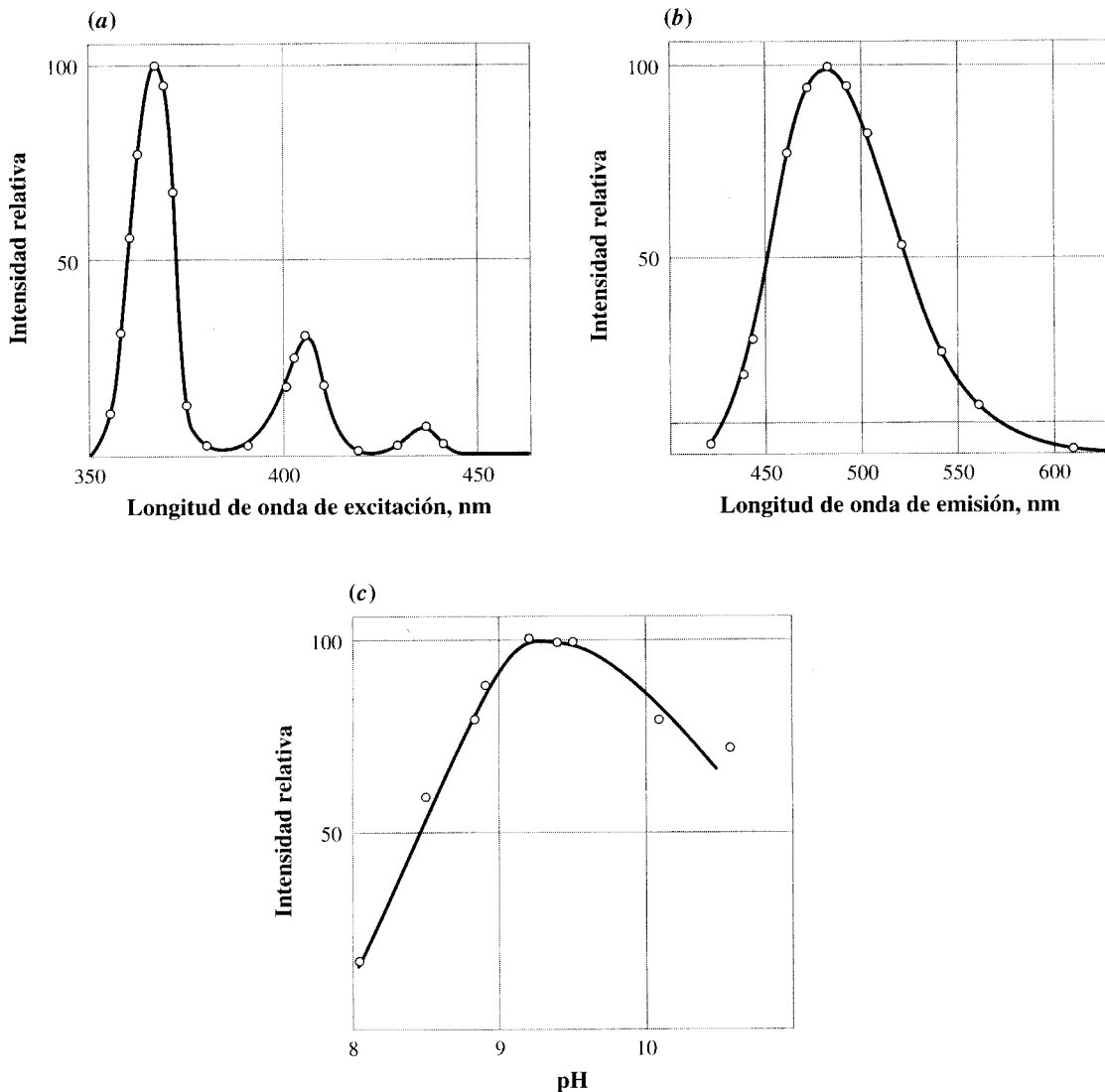


FIGURA 8.13.1 ▲

- (a) Para optimizar la sensibilidad del análisis para la glicina, ¿a qué longitud de onda deberían ajustarse los monocromadores de excitación y de emisión y qué pH debería tener la disolución?
- (b) Para producir la gráfica de pH frente a la intensidad, ¿cuántas especies deben estar presentes como mínimo y cuántas son fluorescentes? [Ref.: Coppola, E. D., Hanna, J. G. 1976. *J. Chem. Educ.* 53:322.]
- 8.14. Una célula de reflectancia múltiple con una longitud interna de 0,1 m se utiliza para medir la concentración de una muestra de gas. El rayo atraviesa la célula 40 veces antes de salir de la célula y pasar al detector. Incide con un ángulo de 1° a partir de la normal cada vez. ¿Cuál es la longitud de paso de la célula con tres cifras decimales?
- 8.15. Este ejercicio se refiere a la Figura 8.15.1. Si la potencia de salida es 15×10^4 unidades:
- (a) ¿Podría decirse qué concentración de analito está dentro de $\pm 20\%$?
- (b) Si la respuesta al apartado (a) es negativa, qué cambio se debería hacer en el método de análisis para determinar el verdadero valor de la concentración de analito con una única medida?
- 8.16. La Figura 8.16.1 muestra el espectro de emisión (barrido entre 395,90 y 396,35) de las siguientes disoluciones de muestras: (1) agua pura, (2) Aluminio 250 $\mu\text{g/L}$, (3) Calcio 2500 $\mu\text{g/L}$, (4) Al 250 $\mu\text{g/L}$ + Ca 2500 $\mu\text{g/L}$.
- (a) Si se desea determinar el contenido de aluminio de la disolución que contiene aproximadamente 2500 $\mu\text{g/L}$

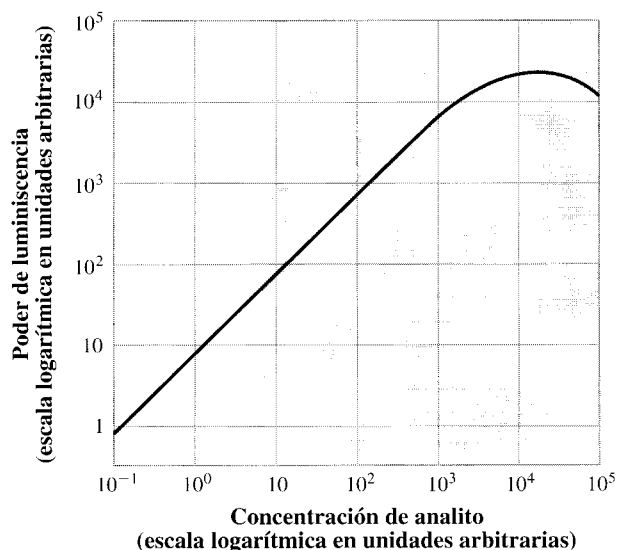


FIGURA 8.15.1 ▲

[Reimpresión con permiso de *Journal of Chem. Educ.*, 53:5, 1976, 322-323. Copyright 1976, Division of Chemical Education, Inc.]

de calcio, ¿qué longitud de onda se debe utilizar como óptima, (2) o (4)?

- (b) Si la disolución de calcio medida en el espectro (3) se preparara con $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de alta calidad (p.m. 208,49), ¿cuál es la impureza de aluminio en este reactivo de calcio en ppb dentro de la mayor precisión posible?

8.17. La Figura 8.17.1 representa los espectros de emisión atómica (corregidos del fondo) de Zn y Cu. ¿Cuál es la concentración de Cu y de Zn en la muestra?

8.18. Este ejercicio se refiere a la Figura 8.19. Escribese la ecuación para la intensidad de emisión extrapolada en la línea base del analito si la señal de fondo se muestrea a las longitudes de onda asociadas con los fondos B_0 y B_2 , tal como se muestra en la serie b. Nota: $[\lambda(B+S) - \lambda(B_0)] = 2[\lambda(B_2) - \lambda(B+S)]$.

8.19. La Figura 8.19.1 en la página 367 muestra el resultado de una separación de citocromo *c* de sus di, tri, tetra y hexámeros. La separación se hizo con electroforesis en gel. Después de llevar a cabo la separación, se barrió espaciadamente el gel a 405 nm para obtener la gráfica de absorbancia *versus* la distancia en el gel. El área de los picos es proporcional al producto de absorptividad molar y moles de sustancia. En la polimerización, las propiedades de absorción de la luz de cada monómero no cambian. Así, la absorptividad molar del dímero es el doble que la del monómero, y así sucesivamente. Si hay $10 \mu\text{g}$ de monómero en el gel, ¿qué masa de cada una de las otras formas está presente? Supóngase que la Absorbancia de cada banda puede alcanzar la línea base si estuviera sola. Separar el trímero y el tetrámero mediante una línea vertical en la absorbancia mínima. [Figura cortesía de United States Biochemical Corps.]

8.20. Considérese que se analizó una muestra utilizando dos instrumentos espectrométricos diferentes. Uno pierde el 1,0% de luz a la longitud de onda del ensayo, y el otro no pierde luz. ¿Qué error relativo en la concentración podría causar la pérdida del 1% de radiación si, en el mejor instrumento, las

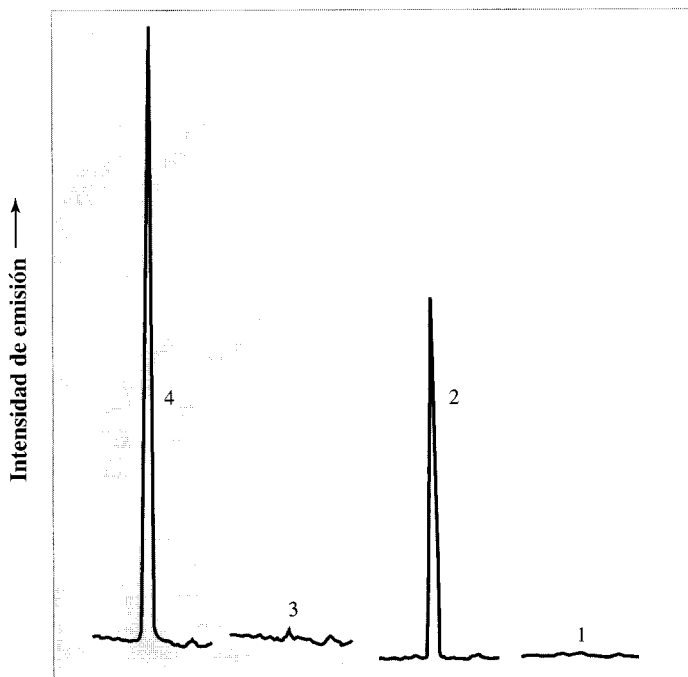


FIGURA 8.16.1 ►

[Reimpresión con permiso de Allain, P., Mauras, Y. 1979. *Anal. Chem.*, 51, 2089. Copyright 1979, American Chemical Society.]

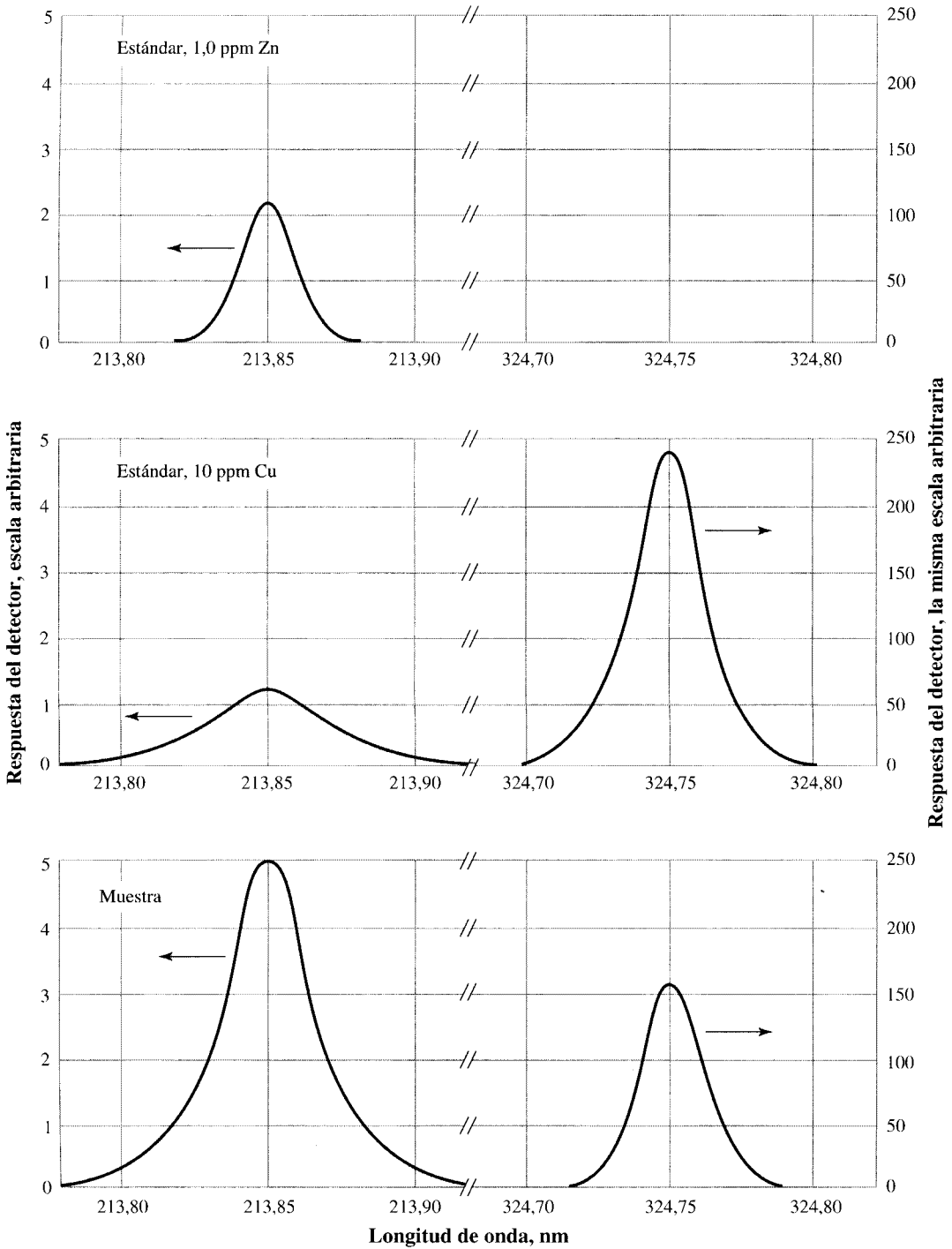


FIGURA 8.17.1 ▲

muestras tuvieron $T = 0,40$, $T = 0,10$ y $T = 0,05$? (Ésta es otra razón por la que se debe utilizar, si es posible, el intervalo de absorbancia medio $A = 0,3-0,7$ para alcanzar la mejor precisión.)

■ **8.21.** Un analista descuidado derramó una disolución de una enzima en la puerta del compartimento para la muestra de un espectrómetro. Cuando se secó el derrame hubo tanto sólido fuera de la puerta del compartimento de la muestra

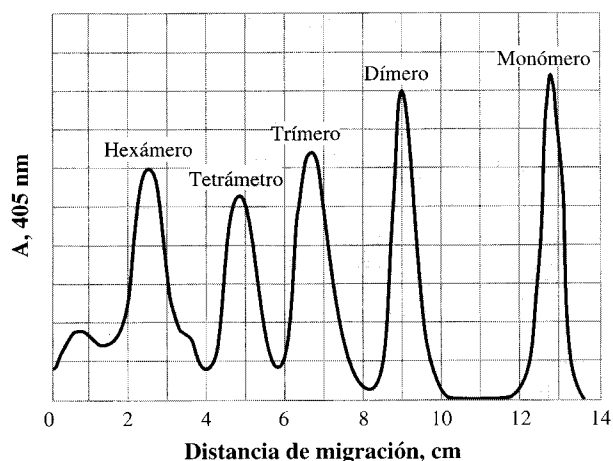


FIGURA 8.19.1 ▲

que no cerraba correctamente, y la luz perdida fue del 2% T . Calcúlese el error introducido por la luz perdida para absorbancias de 0,1 a 1,9 en incrementos de 0,05 unidades de absorbancia. Represéntense los resultados y describábase donde parece ser mayor el error.

8.22. Si una fibra óptica tiene una apertura numérica de 0,44 en el aire, ¿cuál es su valor de A.N. en agua, si a 20 °C tiene un índice de refracción de 1,330 para radiación de 706,5 nm? Si, en lugar de la unidad exacta, se sustituye el verdadero valor del índice de refracción para aire seco a 15 °C, a presión atmosférica, y a la misma longitud de onda, que es 1,0027, ¿es la apertura numérica diferente dentro de la precisión dada?

8.23. Se obtuvo un espectro ATR infrarrojo de un polvo y se representó su absorbancia, pero el espectro estaba distorsionado debido a que la profundidad de penetración es mayor que la longitud de onda. Con la profundidad de penetración a 4000 cm^{-1} , escala de unidad, ¿por qué factor se deberán multiplicar los picos a 3000, 2000, 1000 y 500 cm^{-1} para tenerlos en la misma escala de absorbancia?

8.24. Las aperturas numéricas para las fibras ópticas generalmente caen en el intervalo de 0,1-0,5. ¿Cuál es el intervalo del ángulo de aceptación para los valores de la apertura numérica en los dos extremos del intervalo anterior?

8.25. La Figura 8.25.1 es un espectro de absorción derivado de la muestra indicada. (Nota: las medidas pico-pico dan mayor precisión en espectrometría derivada.)

- Utilizando las posiciones de longitud de onda óptima, ¿cuál es la sensibilidad del ensayo en unidades de absorbancia por 2 nm/ppm de citocromo c ? El citocromo c es una proteína (p.m. 12400) que actúa como un transportador de electrones implicado en la fotosíntesis y en la respiración.
- Suponiendo que el valor de $(\Delta A/\Delta \lambda)$ es lineal con $\Delta \lambda$, ¿por qué factor se debería cambiar la sensibilidad del ensayo si el valor de $\Delta \lambda$ fuera 1 nm?

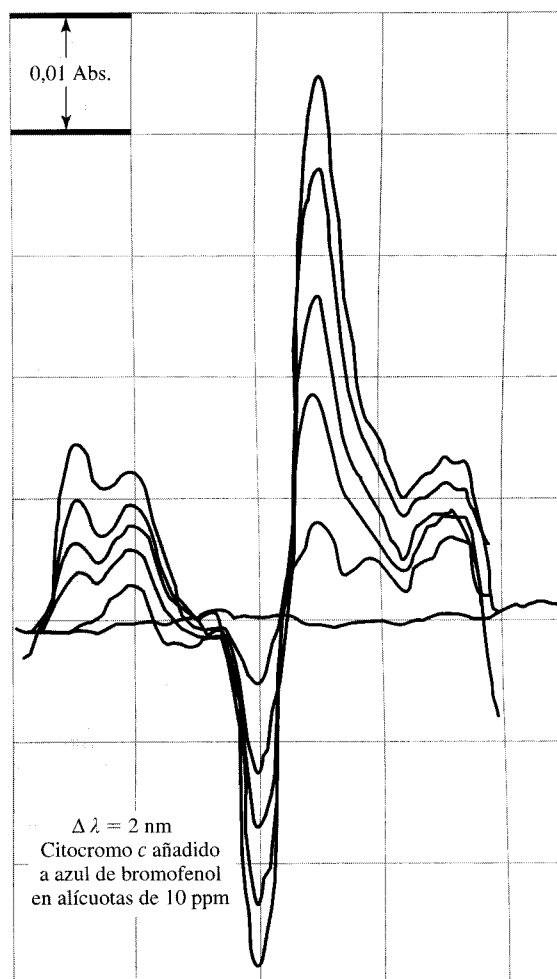


FIGURA 8.25.1 ▲

8.26. Demuéstrese que si el espectro de absorción sigue la ley de Beer para cambios de concentración, la magnitud del espectro derivado será lineal con la concentración. Supóngase que el espectro se puede describir matemáticamente mediante una Gaussiana:

$$A(\bar{\nu}) = A_0 \exp[-(\bar{\nu} - \bar{\nu}_0)^2/\sigma^2]$$

en un gráfico de absorbancia *versus* energía. Éste es un pico centrado en $\bar{\nu}_0$.

8.27. Se pueden utilizar las interferencias para medir el espesor de una célula en el IR. Las dos placas de KBr originan una interferencia de máximo y mínimo *versus* la longitud de onda, como para cualquier interferómetro. Se puede determinar el espesor de la célula contando el número de máximos sobre el intervalo de longitudes de onda. La ecuación para el cálculo es:

$$\text{espesor máximo} = \frac{n_{\text{máxima}}}{2\Delta\bar{\nu}}$$

donde:

$\Delta\bar{\nu}$ es el intervalo de número de onda sobre el que se cuenta los máximos

$n_{\text{máxima}}$ es el número de máximos en el intervalo de número de ondas

(El relleno de las celdas reduce la altura de las franjas, pero las posiciones de los picos no varían. Este efecto da como resultado una mala línea base si la franja aparece en el espectro.) Para un compartimento de muestra de espesor $250\ \mu\text{m}$, ¿cuántas franjas se encontrarán en un intervalo de $200\ \text{cm}^{-1}$?

***8.28.** Un cambio relativo en la concentración origina un cambio en la transmitancia. Este cambio se puede escribir como $(1/C)(dC/dT)$, donde T es la Transmitancia (no temperatura). Se puede escribir la ley de Beer como $C = -k \ln T$. La constante k incluye las absorptividades y las constantes de la célula. Calcúlese el valor de T para que el error relativo $(1/C)(dC/dT)$ sea mínimo.

***8.29.** [Problema que combina electroquímica-espectrometría.]

La espectrometría se puede utilizar para registrar los cambios en un equilibrio redox. La representación de la Figura 8.20 es el cambio espectral de la proteína redox citocromo c , como cambio de su forma oxidada a su forma reducida. La proteína se introduce en una célula, y se cambia el potencial de la disolución, mediante electrodos parcialmente transparentes. Los potenciales de la disolución son en mV *versus*

SCE, a: 250,0 (toda la proteína oxidada), b: 50,0, c: 30,0, d: 10,0, e: -10,0 y f: -250,0 (toda la proteína reducida). Los cuatro espectros b-e son mezcla de las dos formas.

- Supóngase que x es la fracción o la proteína en forma reducida. Entonces $x = 0$ para el pico a y $x = 1$ para el pico f. Hállese la fracción de proteína en forma reducida para las cuatro curvas intermedias.
- A partir de los resultados del apartado (a), determínense las constantes de equilibrio para las cuatro curvas intermedias: $\log([\text{red}]/[\text{ox}])$
- A partir de la derivada de la ecuación de Nernst $dE/d(\log K)$, la pendiente de la curva de E *versus* $\log K$ tendrá un valor de $59\ \text{mV}/n$. Hállese n , número de electrones para esta reacción.
- El punto de la curva en el que $K = 1$ es donde $E = E^{\circ}$. Determínese E° para la reacción redox.

■ 8.30. El efecto de radiación parásita en el espectro de absorbancia se resume mediante la ecuación

$$M = -\log\left(\frac{10^{-A} + S}{1 + S}\right)$$

donde:

M = absorbancia medida

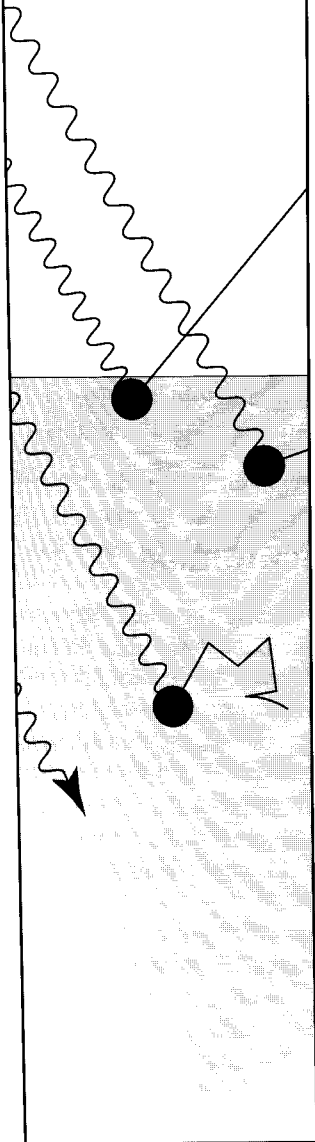
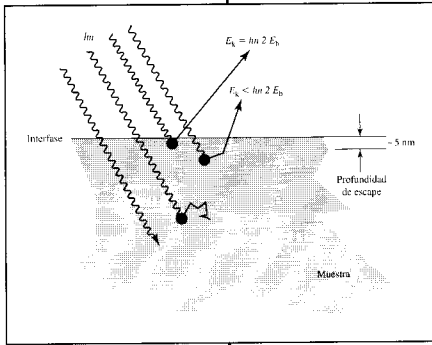
S = radiación parásita en unidades de transmitancia

A = absorbancia real

Calcúlese y represéntese el error en la absorbancia ($M - A$) como fracción de la absorbancia real para valores de radiación parásita de 0,001, 0,01 y 0,1 y absorbancia real desde 0,0 a 4,0.

* Se refiere a los problemas más complicados.

Espectrometría de análisis elemental



Contenido

- 9.1. Espectrometría atómica
- 9.2. Nomenclatura de espectrometría atómica
- 9.3. Intensidades y anchuras de línea de espectros atómicos en fase gaseosa
- 9.4. Factores que afectan a la atomización/ionización
- 9.5. Aislamiento de los átomos o iones de las muestras
- 9.6. Origen de interferencias espectrales en fase gaseosa
- 9.7. Metodología de emisión atómica
- 9.8. Metodología de absorción atómica
- 9.9. Corrección del fondo
- 9.10. Análisis total sin atomización
- 9.11. Métodos de análisis con rayos X
- 9.12. Análisis por activación neutrónica
- 9.13. ¿Plasma u horno? ¿Absorción o emisión? Emisión óptica, rayos X, rayos γ , ¿cuál usar?
- 9.14. Técnicas de análisis de superficie
- 9.15. Espectroscopia de fotoelectrón y de Auger
- 9.16. Dispersión de Rutherford

Profundizando

- 9A. Espectros de emisión y de absorción y la distribución de Boltzman
- 9B. Ensanchamiento de línea por efecto Doppler
- 9C. Espectrómetros de rayos X de longitud de onda dispersiva (WDX)
- 9D. Espectrómetros de rayos X de energía dispersiva (EDX)
- 9E. Espectrómetros de electrones

9.1. Espectrometría atómica

La espectrofotometría de absorción y luminiscencia molecular son algunos de los métodos analíticos más utilizados en química y bioquímica, incluidos los análisis clínicos. Entre las razones para esta preferencia, destaca la de que gran parte de estos análisis se desarrolló cuando había pocas técnicas instrumentales alternativas. (Existen instrumentos analíticos precisos y sensibles para medir variaciones en la intensidad de la luz en la zona visible desde hace más de 60 años.) Los instrumentos han ido mejorando continuamente para satisfacer la demanda de límites de detección cada vez más bajos, y de mayor estabilidad y facilidad de uso.

El tipo de espectrometría que describimos en este capítulo abarca únicamente los casos en que las transiciones surgen de *átomos* o *iones*, y no de especies moleculares. En otras palabras, los experimentos tratan, ya de átomos que se han liberado de la matriz de fase condensada, ya de átomos contenidos en la matriz o en especies moleculares.

En el caso de átomos libres, medimos la absorción o emisión de luz (zona UV-VIS) por parte de los átomos o iones elementales gaseosos. Estas transiciones espectroscópicas ocurren en posiciones predecibles, con anchuras de línea relativamente estrechas. Estas técnicas se describen en las Secciones 9.3 a 9.9.

Cuando los átomos del analito permanecen asociados con una molécula o una matriz, para obtener un espectro atómico independiente de la matriz se requiere una excitación previa con partículas de alta energía o con radiación de energía superior a la radiación UV. Pueden medirse tanto la radiación emitida como las energías cinéticas. Estos análisis pueden dividirse en: métodos sensibles al contenido de analito en la totalidad de la muestra y métodos que sólo son sensibles al analito en una superficie concreta de la muestra. Los métodos de análisis total aparecen en las Secciones 9.10 a 9.12; las técnicas sensibles a la superficie se desarrollan en las Secciones 9.14 a 9.16.

Se omiten en este capítulo los métodos en los que el contenido de los elementos se determina midiendo el espectro de las especies moleculares en la disolución. Ejemplos de tales determinaciones son las del hierro con 1,10 fenantrolina, níquel con dimetilgloxima, y molibdeno con 4-metil-1,2 dimercaptobenceno.

9.2. Nomenclatura de espectrometría atómica

De ahora en adelante el término espectro *atómico* se entenderá como el espectro tanto de *átomos* como de *iones* en fase gaseosa. Ambos pueden usarse para determinar la concentración de los elementos presentes en la muestra.

El término *sensibilidad* en Absorción Atómica tuvo en el pasado un significado específico: la concentración o masa de analito necesaria para producir una Transmitancia de 0,99 o una Absorbancia equivalente de 0,0044. Ahora se conoce a este término como **concentración característica** o **masa característica**, según la aplicación, a la cantidad de analito necesaria para producir una absorción de 0,0044. Actualmente, el término *sensibilidad* queda reservado para la definición más amplia de la pendiente de una curva de trabajo en el intervalo de concentraciones.

Para todos los métodos de espectrometría atómica, el *límite de detección* se define normalmente como la cantidad o la concentración de analito necesaria para producir una señal que sea tres veces la desviación estándar del blanco, aunque a veces también se utiliza la medida de dos veces ese nivel. Actualmente se acepta como *límite de cuantificación* la cantidad que emite una señal que sea diez veces la desviación estándar del blanco.

Las longitudes de onda en este capítulo se dan en nm, y aunque en la actualidad es normal utilizar las unidades en nm, las publicaciones en general utilizan indistintamente Å

Las concentraciones características y límites de detección de varias técnicas espectroscópicas atómicas aparecen recogidas en el Apéndice III

y nm. Recordemos que $1 \text{ nm} = 10 \text{ \AA}$. Otra unidad que podemos encontrar en publicaciones antiguas es micras, abreviado como μm , que es equivalente a un nanómetro.

Espectros y nomenclatura espectral

Los átomos de donde surgen los espectros atómicos pueden provenir de varios estados de oxidación. Por ejemplo, el cobre puede ser atómico o iónico: Cu^0 , Cu^+ , Cu^{+2} , y así sucesivamente. La nomenclatura que describe los espectros atómicos difiere de la que se utiliza para describir las reacciones de disoluciones y sólidos. La nomenclatura espectroscópica utiliza números romanos, una unidad mayores que el estado de oxidación. En otras palabras, el átomo neutro es «I», el estado de oxidación de +1 es «II», el de +2 es «III», y así sucesivamente. Las comparaciones se relacionan a continuación, tomando como ejemplo el cobre.

En espectroscopia atómica	Cu(I)	Cu(II)	Cu(III)
En química	{ Cu(0) Cu ⁰	{ Cu(I) Cu ⁺	{ Cu(II) Cu ²⁺

Como es bien conocido por los cursos de química anteriores, los niveles de energía de los átomos e iones están cuantizados: sólo aparecen ciertos niveles energéticos permitidos. Las propiedades de la emisión atómica del espectro, tales como las del hidrógeno atómico (Figura 9.1a), son el resultado de esta cuantización de la energía. La longitud de onda de las líneas de emisión del hidrógeno se describe por una simple fórmula algebraica:

$$\frac{1}{\lambda} = R \cdot \left(\frac{1}{n_f^2} - \frac{1}{n_i^2} \right), \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad \text{y} \quad n_i > n_f$$

donde la R representa la constante de Rydberg ($R = 109677 \text{ cm}^{-1}$ ó $3,2898 \times 10^{15} \text{ Hz}$). En el intervalo de 2000 nm a 100 nm (desde cerca del infrarrojo hasta el ultravioleta), estas líneas pueden dividirse en cuatro grupos, dependiendo del valor de n_f (entre 1 y 4). Observemos en la figura cómo a medida que los niveles se hacen mayores, los estados están cada vez más juntos.

Desde un punto de vista fundamental, observamos que cada línea del espectro puede describirse como la diferencia entre dos términos algebraicos; cada uno tiene un valor diferente de número n . El valor n es el **número cuántico principal** para el hidrógeno, y los estados asociados se muestran en la Figura 9.1b. Las energías asociadas con los diferentes niveles son las energías electrónicas de los niveles del átomo.

A cada línea espectral se le asocia un nivel de energía menor y un nivel de energía mayor. La energía de la línea espectral, y por tanto su longitud de onda, es igual a la diferencia entre los dos niveles de energía. El estado más bajo de energía que puede tener un átomo o un ion se denomina **estado fundamental**. El hidrógeno, en su estado fundamental, tiene el electrón en el nivel cuántico de $n = 1$. A todos los demás estados —los de mayor energía— se los conoce como **estados excitados** del átomo. Recordemos que los niveles de energía atómicos, con números cuánticos $n = 1, 2, 3, \dots$, se denominan capas K, L, M, ..., respectivamente. El proceso por el que un electrón salta entre dos estados del átomo se llama **transición espectral**. Cuando el espectro se debe a cambios de energía del electrón —como es en el caso del hidrógeno— entonces la transición se denomina **transición electrónica**.

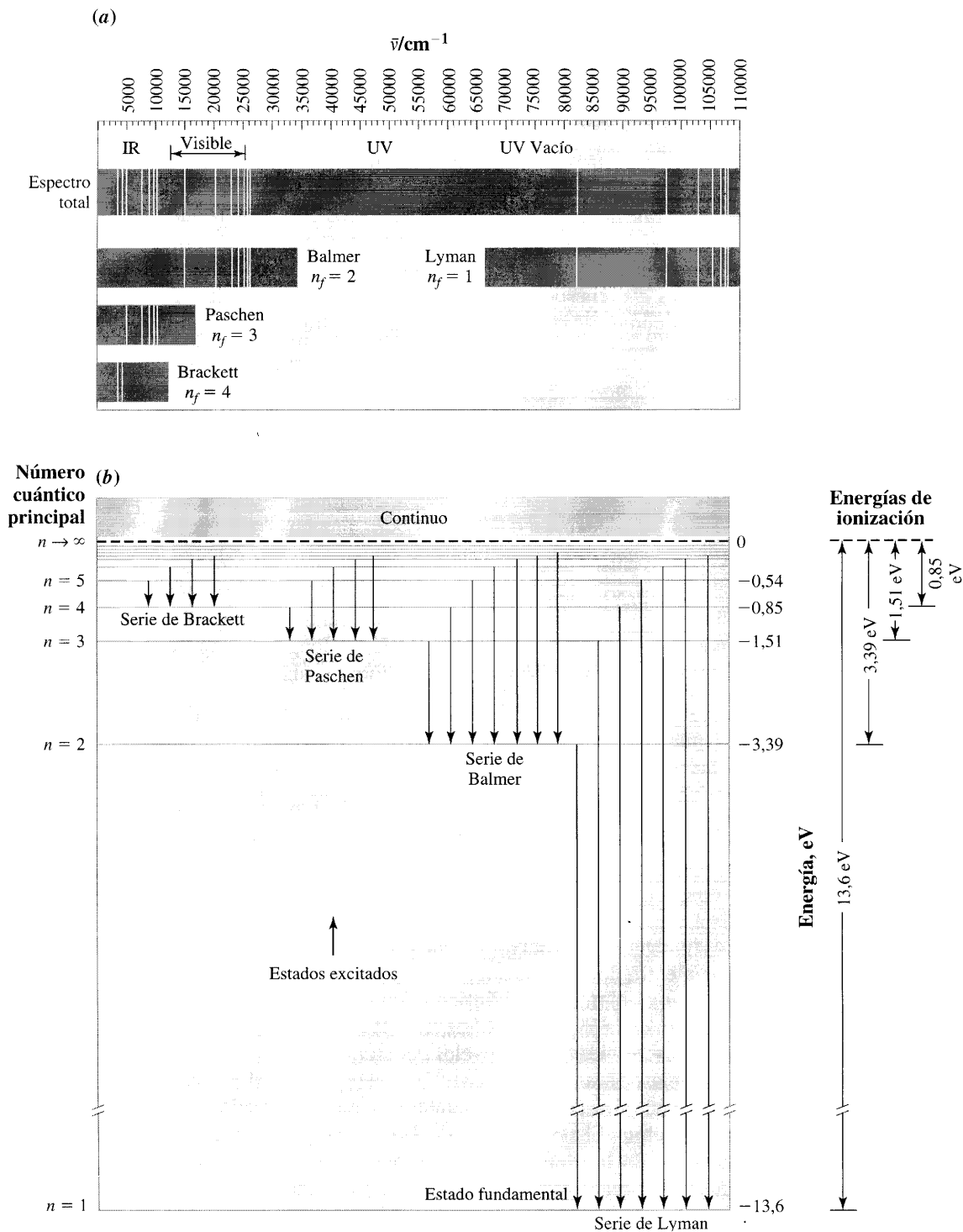


FIGURA 9.1 ▲

El espectro del hidrógeno atómico.

(a) Espectro de emisión de hidrógeno atómico. (b) El esquema del nivel de energía que describen las líneas espectroscópicas del hidrógeno atómico. Las líneas de los espectros se clasifican en varios conjuntos, cada uno de los cuales tiene en común su nivel mínimo de energía. A cada serie de líneas se la denomina con el nombre de su descubridor. Las flechas indican la transición, que conduce a una emisión de luz de las distintas series: Lyman, Balmer, Paschen y Brackett. Se recogen cuatro niveles de energía de ionización.

El **potencial de ionización** registrado en las tablas, al comienzo de los textos de química, es la energía de transición del electrón, desde el orbital de ocupación más alta del estado fundamental del átomo, hasta el nivel donde el electrón y el ion quedan totalmente libres el uno del otro. Sin embargo, en realidad hay un número diferente de energías de ionización para un mismo átomo. Supongamos un átomo que está en un estado excitado: por ejemplo, el hidrógeno con el electrón en estado $n = 2$. Si a continuación se le aplica la energía justamente necesaria para permitir que el electrón quede libre, el átomo queda ionizado. Como podemos deducir de la Figura 9.1b, las energías de ionización de los estados excitados son menores que la ionización del estado fundamental.

9.3. Intensidades y anchuras de línea de espectros atómicos en fase gaseosa

Si integramos la intensidad de una línea de emisión atómica en fase gaseosa, vemos que la integral es aproximadamente igual al producto de la anchura de línea a media altura (atmm) y la intensidad del pico. También observamos que, para una concentración de partículas dada, al variar el ambiente de la fase gaseosa, el valor *integrado* de cada línea permanece casi constante, pero la intensidad de pico depende fuertemente del ambiente. *Ambiente* en este caso significa la temperatura de los átomos, la presión total y también (pero con menor influencia) las componentes del gas circundante. La razón por la que el pico cambia mientras la intensidad integrada permanece casi constante es que la anchura de línea varía. Estos cambios en anchura de la línea son bastante importantes en la práctica de la espectrometría atómica.

Dependencia de la anchura de línea con la temperatura y la presión

La anchura de la línea de emisión atómica aumenta con el incremento de la temperatura. En otras palabras, las líneas de emisión son más anchas cuando los átomos están más calientes y más estrechas cuando los átomos están más fríos. En el caso de la absorción atómica, la cantidad que varía es la anchura del **espectro de absorción**. Véase la Figura 9.2. El espectro de absorción es el intervalo de longitudes de onda sobre el que habría absorción de la luz si ésta pasara por la muestra.

La razón del aumento en anchura con la temperatura, tanto en la emisión como en la absorción, es que los átomos se mueven más rápidamente a temperaturas mayores. El movimiento al azar produce el **ensanchamiento Doppler** de las líneas espectrales. La base para este ensanchamiento es el **desplazamiento Doppler** de la frecuencia de la luz, que es similar al cambio de tono (frecuencia de sonido) del silbato de un tren en movimiento o la bocina de un coche cuando se acerca a uno (frecuencia más alta) o se aleja de uno (frecuencia más baja). El desplazamiento Doppler y la temperatura son las principales contribuciones al ensanchamiento de las líneas atómicas, tal como se describirá con mayor profundidad en la sección 9B.

EJEMPLO 9.1

Las dos líneas de la emisión atómica de sodio producen el color amarillo brillante que se ve en las llamas cuando se calienta el vidrio. La línea a 589,6 nm tiene una anchura de línea inherente (atmm) de $0,33 \times 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$. A este hecho se le llama **anchura natural de línea**. La anchura observada es de unos 0,0015 nm. ¿Qué fracción de la línea se debe al ensanchamiento por efecto Doppler?

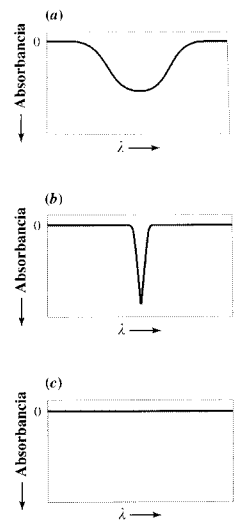


FIGURA 9.2 ▲ Ilustración del concepto de espectro de absorción.

Las tres figuras muestran la absorción sobre el mismo intervalo espectral. La luz procedente de una fuente continua pasa sobre la muestra y se detecta. Cuando no hay muestra alguna el resultado aparece en (c). Cuando la muestra A está en el haz de luz el resultado es el que aparece en (a). Cuando está presente la muestra B, el resultado es el que aparece en (b). La muestra A tiene un espectro de absorción más amplio que la muestra B. El espectro de absorción está aquí representado por la gráfica de absorbancia (creciendo hacia abajo) versus longitud de onda.

Solución:

La medida de la anchura de línea corresponde al intervalo de longitudes de onda que va en la mitad de la anchura de línea en cada dirección desde la posición del pico de 589,60000 nm (suponemos una precisión superior a la dada, por lo que los cálculos pueden hacerse con las diferencias de anchuras de líneas pequeñas.) Este intervalo va desde 589,60075 a 589,59925 nm. A continuación hay que transformar estas longitudes de onda en números de onda:

$$589,60075 \text{ nm} \times 10^{-7} \text{ cm/nm} = 5,8960075 \times 10^{-5} \text{ cm}$$

$$(5,8960075 \times 10^{-5} \text{ cm})^{-1} = 16,960,62971 \text{ cm}^{-1}$$

Utilizando el mismo enfoque, la longitud de onda menor corresponde a $16960,6271 \text{ cm}^{-1}$. La diferencia del número de onda equivalente a 0,0015 nm de anchura de línea es

$$16960,67286 - 16960,62971 = 0,04314 \text{ cm}^{-1}$$

Por último,

$$\frac{\text{anchura de línea medida}}{\text{anchura de línea inherente}} = \frac{0,43 \times 10^{-1} \text{ cm}^{-1}}{0,33 \times 10^{-3} \text{ cm}^{-1}} = 130$$

Las líneas espectrales de la mayoría de los otros átomos se comportan aproximadamente de la misma manera. Vale la pena tener en cuenta las magnitudes relativas de las anchuras de líneas naturales y de las ensanchadas térmicamente —por un factor de 100.

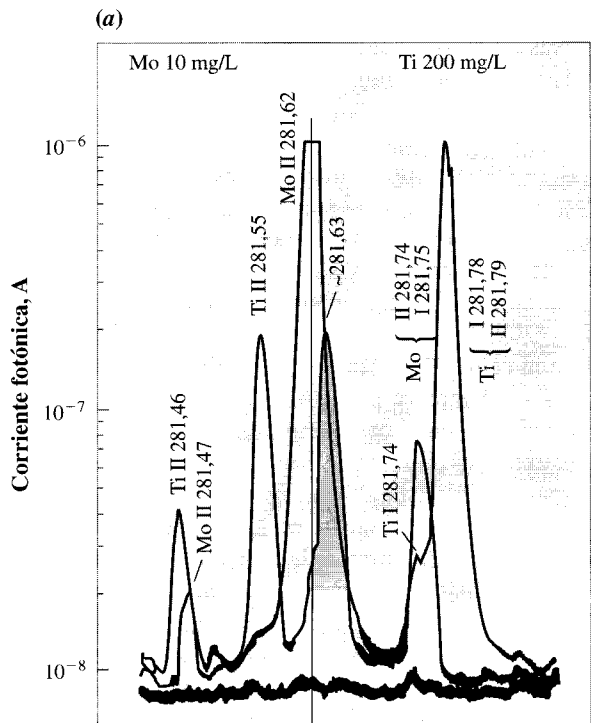
En espectrometría atómica es conveniente tener líneas estrechas, por dos razones: la intensidad de radiación emitida o absorbida es mayor, y hay una menor probabilidad de que las líneas espectrales de diferentes átomos se superpongan. En otras palabras, la sensibilidad de medida es mayor y hay menor probabilidad de interferencias espectrales. De los espectros atómicos que se ven en la Figura 9.1a, la superposición de líneas no parece ser un problema importante. Sin embargo, como muestra la Figura 9.3, los espectros superpuestos emitidos de más de una especie atómica tienen mucha mayor probabilidad de estar solapados, por lo que la probabilidad de interferencias aumenta.

Las altas presiones también provocan emisiones espectrales de mayor anchura y espectros de absorción más anchos. La explicación de este fenómeno es compleja. Sin embargo, la idea principal es que las colisiones entre átomos e iones originan pequeños desplazamientos en los niveles de energía electrónicos. Como resultado, se produce un ensanchamiento ya que la transición entre niveles de energía ocurre en un intervalo más amplio de energías que si no se produjeran colisiones. Por otro lado, la intensidad *integrada* de la línea puede cambiar en algo; las intensidades integradas permanecen casi constantes, pero no son fijas.

El efecto del ensanchamiento de líneas parece sugerir que se han de evitar las altas presiones en la práctica para prevenir las interferencias espectrales. Sin embargo, las bajas presiones están en pugna con la obtención de una sensibilidad mayor. Uno de los objetivos de la espectrometría analítica atómica es encontrar el intervalo óptimo de trabajo.

Emisiones y absorciones simultáneas y cambios en la forma de la línea

La emisión atómica (EA) y absorción atómica (AA) tienen varios puntos en común. Los dos se deben a transiciones entre estados de energía atómicos, emisiones por caída desde un estado excitado o absorciones por la subida desde un estado fundamental. Por otro lado, las anchuras de líneas de emisión, al igual que en los espectros de absorción, dependen de la temperatura y de la presión. Por el momento, vamos a pasar por alto los efectos de la presión durante la emisión y absorción simultánea de luz y nos centraremos únicamente en los efectos de la temperatura.



Interferencias a 1000–10000 > Zn concentración

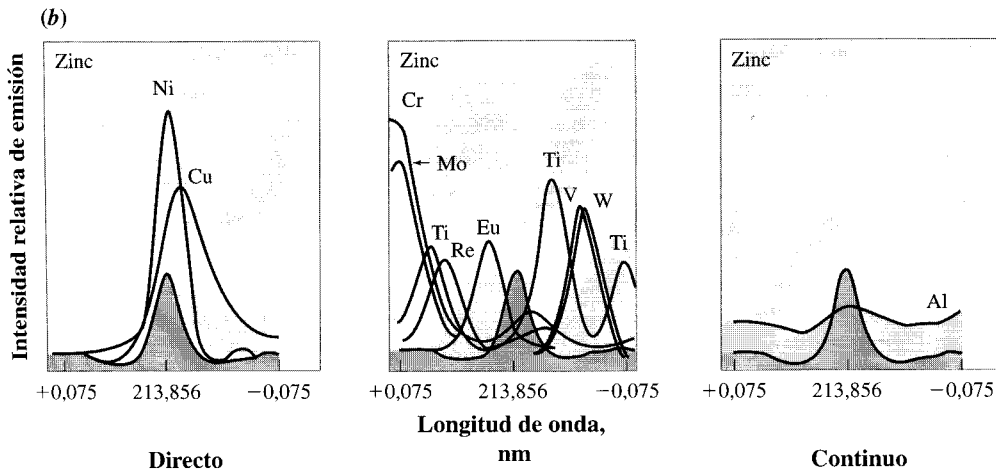


FIGURA 9.3 ▲
Interferencias espectrales atómicas.

(a) Un ejemplo de interferencia espectral en una emisión: el espectro de emisión atómica de titanio se superpone con el del molibdeno. Si el titanio y el molibdeno estuvieran juntos en una misma muestra, veríamos, como se aprecia en la gráfica, que las líneas de uno y otro se superponen. La concentración de la muestra se ilustra en la gráfica de arriba. Las líneas están identificadas con la nomenclatura de la espectroscopia atómica. La línea sombreada está sin identificar. [Ref.: Winge, R. K., Fassel, V. A., Peterson, V. J., Floyd, M. A. 1982. *Appl. Spec.* 36, 210.] (b) Clasificación de tres tipos de interferencia de emisión espectral. Se supone que la emisión del Zn de 213,856 nm está monitorizada, y los interferentes están en exceso con respecto al zinc. El intervalo espectral total mostrado cubre 0,150 nm. Otras emisiones producen (de izda. a dcha.), un **solapamiento directo** de las líneas espectrales, y un fondo continuo. Nota: obsérvese que estas figuras no son espectros reales sino que derivan de información espectral experimental. [Ref.: Reimpreso de Sobel, H. R., Dahlquist, R. L., 1981. *Am. Lab.* 13, 152. Copyright 1981 by International Scientific Communication, Inc.]

Supongamos que se realiza un experimento con un espectrómetro de alta resolución, que puede barrer incluso líneas estrechas de emisión atómica, para determinar los perfiles de la forma de las líneas (intensidad *versus* longitud de onda). Si se barre una línea atómica única de una fuente de emisión del elemento X, el espectro que se ve es el indicado en la Figura 9.4a.

Ahora pongamos una muestra gaseosa del mismo elemento X en el camino de la luz al pasar de la fuente de emisión al detector. El perfil de la energía en la línea de emisión tiene una depresión, y el centro de la depresión ocurre justo en el pico de la emisión. La depresión se produce por la absorción de los átomos X, y su forma indica el espectro de la absorción. Como la emisión y la absorción se deben al mismo elemento, este efecto se denomina de **autoabsorción**.

Ahora dejemos que la longitud de la célula de absorción o la concentración de los átomos absorbentes aumente. Entonces se absorberá más luz, y el espectro se verá tal como se muestra en la Figura 9.4c. Por último, en el caso extremo, la mayor parte de la luz del centro de la emisión se absorbe; entonces, la línea de emisión única aparece como si fueran dos líneas más estrechas y más juntas. Esta absorción total en el centro de la línea de frecuencia se denomina **autoinversión** y se muestra en la Figura 9.4d.

La absorción preferente de luz en el centro de la línea de emisión es aún más pronunciada cuando el espectro de absorción es más estrecho que la línea de emisión. Esta situación se produce cuando los átomos emisores están situados en una zona más caliente que los átomos de absorción. En tales condiciones los efectos de autoabsorción y de autoinversión pueden observarse incluso en concentraciones relativamente bajas del átomo absorbente. La autoabsorción es una interferencia espectral en la emisión. Sin embargo, la autoabsorción proporciona las bases para la espectrometría de absorción atómica, donde una emisión estrecha de luz de un elemento se utiliza como una fuente de radiación absorbida por el mismo elemento. Volveremos sobre estos temas al principio de la Sección 9.7, después de ver cómo conseguimos átomos en fase gaseosa, que son necesarios tanto para la absorción atómica como para la emisión atómica.

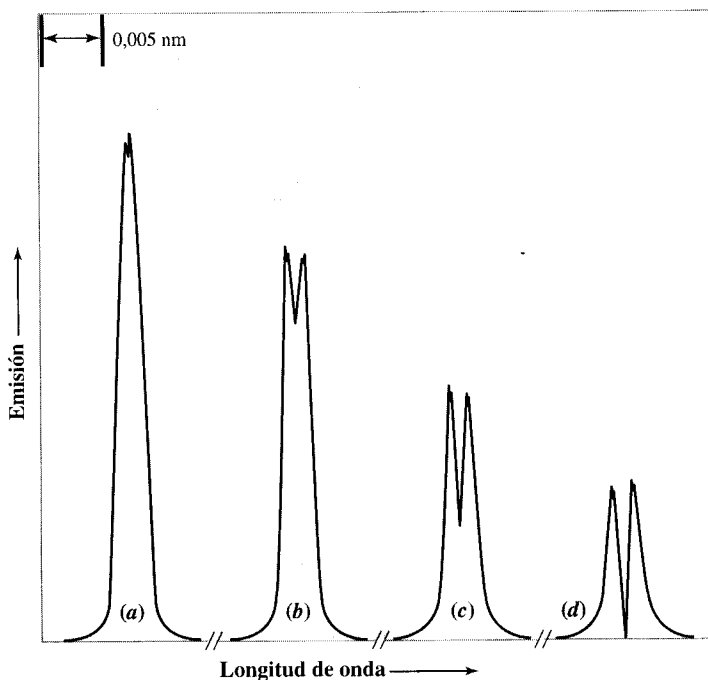


FIGURA 9.4 ►
Los efectos tanto de absorción como de emisión por un mismo elemento.

La línea de emisión sin obstrucciones se muestra en (a). Incrementando el vapor atómico situado entre la fuente y el espectrómetro de alta resolución, la línea aparece como se muestra en (b-d). En (b), hay evidencia de autoabsorción. El espectro (c) se produce cuando se aumenta la concentración del vapor atómico (o la longitud del paso óptico). Aún a mayores concentraciones de vapor atómico, la línea simple aparecerá como dos líneas separadas, como podemos ver en (d). Este efecto se denomina autoinversión.

9.4. Factores que afectan a la atomización/ionización

En condiciones ideales en la espectrometría atómica analítica, todos los átomos se han liberado de la influencia de la matriz que los rodea. Lo que significa que los átomos del analito no están químicamente enlazados a ningún otro tipo de átomos: todas las partículas, los compuestos y las moléculas tienen que permanecer disociados. El término correcto es **atomización**. Por otro lado, la matriz de la muestra debería quedar totalmente destruida. En muchas ocasiones no se obtienen estas condiciones ideales, pero si se tienen condiciones constantes, incluida la preparación de la muestra, los análisis obtenidos son precisos al $\pm 1\%$.

Muestras sólidas

La atomización de una muestra es un proceso complejo que aún no se comprende cabalmente en todos sus detalles; sin embargo, el orden de las etapas principales del proceso ha quedado esclarecido. La atomización de una sustancia sólida *pulverizada*, sometida a un proceso de calentamiento rápido, debe realizarse siguiendo los siguientes pasos:

1. Se calienta la muestra.
2. Los compuestos que integran la muestra formados por muchos átomos se rompen saliendo de la superficie pulverizada.
3. Las moléculas se vaporizan y se rompen (atomizan) formando átomos e iones.

Si estos pasos no llegan a completarse, produciendo átomos que permanezcan detectables durante el tiempo suficiente, entonces no se podrá garantizar una buena precisión. Hay dos ocasiones en las cuales pueden surgir problemas: por la formación de compuestos **refractarios** (térmicamente estables) durante el paso del calentamiento, y en el otro extremo, por la formación de compuestos tan volátiles que se escapan antes de poder ser detectados. En el primer caso los óxidos refractarios son los más comunes, pero también pueden formarse nitratos y carbonatos, en determinadas condiciones. Los volátiles son un problema cuando, por ejemplo, los metales reaccionan con átomos de cloro para formar cloruros metálicos volátiles. En cualquiera de estos casos, parte del contenido de los elementos pudo quedar sin detectarse.

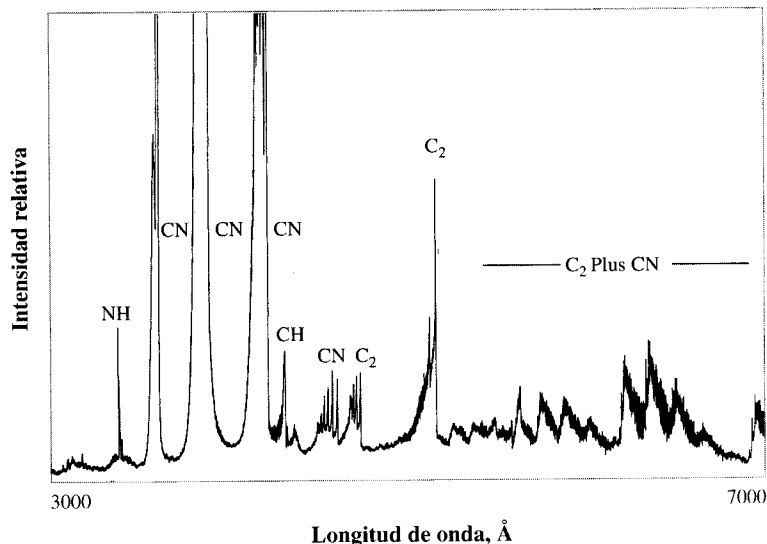
La formación de nuevos compuestos estables añade más problemas. En primer lugar, las moléculas estables que se forman provocan una pérdida de la señal atómica, ya que los compuestos formados no emiten o absorben radiación en las longitudes de onda esperadas. También las moléculas contribuyen a una interferencia espectral significativa porque la absorción o emisión de moléculas en fase gaseosa está constituida por líneas espectrales que pueden estar formadas por muchos cientos de líneas individuales. Se puede ver un ejemplo en el espectro de emisión que se muestra en la Figura 9.5. Es más que probable que haya líneas que se superpongan con las longitudes de onda que se van a analizar. Por otro lado, los compuestos que se forman pueden ser impredecibles.

Los errores asociados con una atomización incompleta y con la formación de moléculas normalmente pueden reducirse al mínimo utilizando temperaturas más altas. Elevar la temperatura no solamente facilita la atomización de la totalidad de la muestra, sino que también produce una mayor disociación de compuestos moleculares que pudieran formarse. En otras palabras, las altas temperaturas minimizan las variaciones en atomización de las que a su vez dependen las propiedades físicas de la muestra, tales como el tamaño de las partículas o su forma microcristalina; por otro lado también se minimiza la formación molecular.

De la información precedente, podríamos concluir que las altas temperaturas son las mejores para la atomización de sólidos. Sin embargo, las altas temperaturas pueden desplazar la fase de equilibrio de los átomos del gas a especies iónicas que podrían no ser

FIGURA 9.5 ►
Espectro de emisión molecular
de una llama de óxido
nitroso/acetileno.

Cada una de las especies moleculares simples de dos átomos emiten gran cantidad de líneas espectrales, que aquí se ven como líneas. El espectro que se muestra es de baja resolución y cubre la totalidad del intervalo visible. Las líneas individuales están formadas por cientos de líneas sin resolución. [Ref.: Impreso con permiso de Pickett, E. E., and Koirtyohann, S. R. 1969. *Anal. Chem.* 41(14), 28A. Copyright 1969 American Chemical Society.]



deseables. Una de las cuestiones más importantes es la relación átomos/iones que se va a desarrollar en el siguiente tema.

¿Átomos o iones?

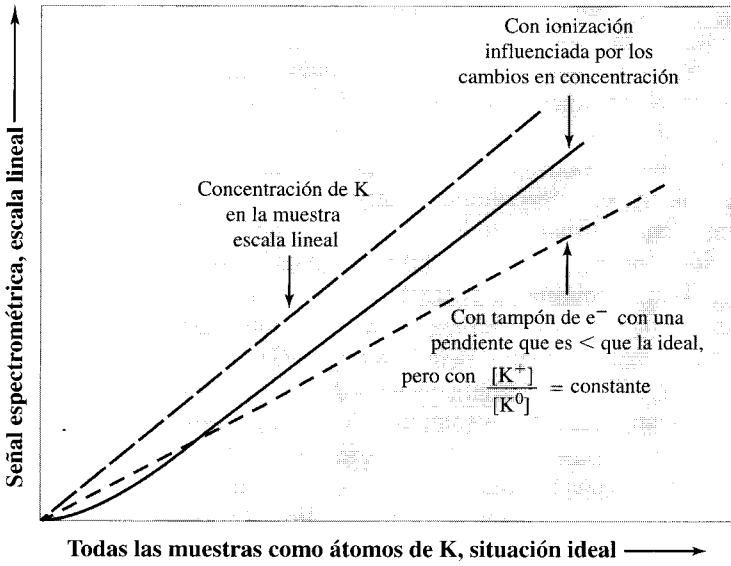
Dependiendo del método espectrofotométrico atómico utilizado, puede determinarse el espectro de los elementos de dos formas: la atómica o la iónica. Los espectros de una especie atómica son significativamente diferentes de los de la iónica. Diferente, en este caso, significa que *todas* las líneas espectrales producidas por el átomo ocurren a longitudes de onda diferentes que las líneas producidas por sus iones. Si el instrumento se ha dispuesto para detectar líneas atómicas, sería raro que las emisiones de los iones contribuyeran a la señal. Por tanto, si estamos midiendo el contenido atómico, la formación iónica es una interferencia química que hace disminuir la señal analítica y si estamos observando líneas iónicas, la formación de átomos se convierte en una interferencia química. El efecto que tiene la temperatura al desplazar el equilibrio átomo-ion es especialmente importante en los elementos que se ionizan fácilmente, como los metales alcalinos.

La relación átomo-ion no sólo cambia con la temperatura, sino también con la concentración. Supongamos que la emisión en nuestro espectrómetro de una sola longitud de onda se establece para que la radiación medida proceda del potasio atómico, K^0 . Cualquier potasio iónico, K^+ , en la fase gaseosa emite una longitud de onda diferente (y con una intensidad diferente). La radiación procedente de K^+ no pasa al transductor, de forma que la fracción del potasio presente como K^+ no contribuye a la medida de la señal y la medida de intensidad aparenta ser menor que si el potasio fuera atómico.

La ionización no crea ningún problema si el cociente $[K^+]/[K^0]$ permanece constante. La luz medida aún será proporcional al potasio de la muestra, como se ve en las siguientes fórmulas:

$$I_{\text{medida}} = I_{K^0} \quad \text{e} \quad I_{K^0} = \text{constante} \cdot [K^0]$$

Pero el cociente $[K^+]/[K^0]$ ciertamente *no* es constante con la concentración. Se obtiene una curva de calibrado no lineal, tal como se muestra en la Figura 9.6. La no linealidad es la esperada a través de los conocimientos del equilibrio químico del potasio en llamas. Vamos a profundizar más en este equilibrio.



◀ FIGURA 9.6
Curvas de calibración representativas para emisiones de potasio atómico en presencia de interferencias químicas.

La línea superior muestra el comportamiento ideal, como si el potasio de la muestra estuviera en su forma atómica. La curva de trabajo central es la curva típica donde una fracción del potasio, dependiente de la concentración total de potasio, se convierte a su forma iónica. La curva punteada corresponde al comportamiento en presencia de un buffer de ionización que mantiene el cociente $[K^0]/[K^+]$ constante.

Existe un equilibrio del potasio atómico-iónico en fase gaseosa. La reacción estequiométrica es:



En contraste con las reacciones de oxidación-reducción en una disolución, una llama en condiciones constantes puede contener una concentración finita de electrones libres. La constante de equilibrio, que en el primer momento pudiera resultar extraña, es:

$$K_{eq} = \frac{[e^-][K^+]}{[K^0]} \tag{9-2}$$

Si el potasio es el principal elemento ionizable en la llama, entonces, según la Ecuación 9-1 la concentración de electrones iguala a la concentración de potasio iónico. A medida que desciende la concentración de potasio, la concentración de electrones y de potasio también desciende. De la Ecuación (9-2) se desprende que a medida que el nivel de potasio desciende, el equilibrio se desplaza a la derecha; esto es, una mayor *proporción* de potasio se transforma en K^+ . Como resultado, a menores concentraciones, hay menor cantidad de luz emitida por el potasio atómico de la esperada del resto de la curva —tal como podemos observar—. La no linealidad es consecuencia de la interferencia química.

La curva de trabajo puede hacerse lineal tamponando la concentración de electrones libres en la llama. El buffer de ionización se consigue añadiendo un exceso de una sustancia fácilmente ionizable, como puede ser el cesio. Por supuesto, la concentración de cesio ha de permanecer constante y entonces la concentración de electrones queda fijada por el cesio, de forma que el cociente $[K^0]/[K^+]$ permanece constante durante la totalidad del intervalo de concentración, como puede verse en la Figura 9.6. El cesio actúa como un tampón de electrones en fase gaseosa.

En lugar de añadir un buffer de ionización se puede trabajar solamente en la región lineal de la curva de trabajo. Las muestras que estén en la zona no lineal de la región de menor concentración pueden concentrarse más. Sin embargo, ese proceso de concentración puede introducir contaminación. Por tanto, es preferible trabajar en el intervalo no lineal, aunque el número de estándares debe aumentarse significativamente para obtener niveles aceptables de precisión.

Muestras de líquidos

Hay pasos adicionales en el proceso de atomización cuando la muestra a atomizar se introduce de forma líquida. Normalmente, las muestras líquidas se pulverizan formando una neblina que va a parar al interior del atomizador. A medida que las finas gotas de la neblina se calientan, su líquido se va evaporando y deja pequeñas partículas sólidas que se atomizan de la misma forma que describimos anteriormente. El paso de la evaporación es la causa inherente de un enfriamiento local. Con el fin de mantener una reacción consistente de atomización/ionización, se ha hecho un gran esfuerzo para generar cada vez gotas más finas con el fin de minimizar el efecto del enfriamiento.

Hay numerosos diseños de instrumentos para convertir las muestras de líquido en un aerosol de finas gotas. El proceso se denomina *nebulización* (del latín *nebula*: nube). Como consecuencia, la parte del espectrómetro atómico (tanto de emisión como de absorción) que nebuliza un líquido se denomina, lógicamente, **nebulizador**. Dos de los muchos tipos de nebulizadores utilizados en instrumentos comerciales se muestran en la Figura 9.7.

Un mecanismo que nebulice una muestra líquida requiere un flujo rápido de gas para que interaccione con una corriente relativamente lenta de alimentación líquida. El flujo del gas rompe el líquido en finas gotas, de la misma forma que lo hace un atomizador de perfume (que en realidad es un nebulizador), o un pulverizador de pintura. En la mayoría de los nebulizadores, las gotas tienen un amplio intervalo de tamaños, desde gotas de neblina hasta las de fina lluvia. Después de la nebulización inicial, este pulverizado heterogéneo interacciona con el deflector o pala en la corriente de gas para tomar un curso sinuoso. Las gotas mayores se mueven más despacio, chocan contra una superficie, y pueden romperse o ir al desecho. Como consecuencia, sólo el 10% del líquido llega al atomizador. Las vibraciones ultrasónicas de capilares o placas también pueden agitar las

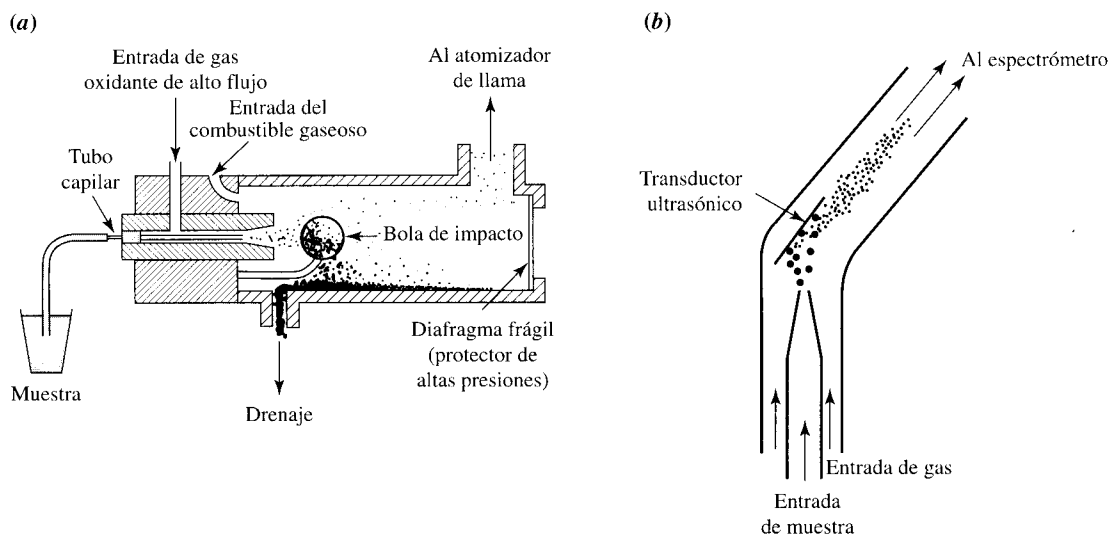


FIGURA 9.7 ▲
Diagramas de dos tipos de nebulizador.

Se muestran dos de los muchos tipos de nebulizador empleados en el espectrómetro atómico. **(a)** La muestra líquida en el **nebulizador neumático** fluye a través de una zona donde la corriente líquida se rompe por medio de una corriente turbulenta de gas. Las gotas líquidas las transporta la corriente de gas hacia la cabeza del quemador. Sin embargo, las gotas mayores no pueden seguir el flujo con facilidad e impactan con el centro de la cabeza del quemador. Sólo las más pequeñas continúan hacia la llama. El exceso de líquido que se va por el desagüe en este diseño es superior al 90% del total frente al resto que se aspira. El diafragma frágil protege al sistema (y al operador) de una explosión si la llama retrocediera contra el nebulizador. Este peligro está ausente con la antorcha ICP, donde no son necesarios ni el alimentador de combustible ni el diafragma. **(b)** En el nebulizador ultrasónico, las gotas se forman por el flujo de gas turbulento, pero luego chocan con una placa vibradora a frecuencias ultrasónicas. La placa ultrasónica rompe las gotas grandes para formar otras mucho más finas.

gotas libres y hacerlas caer en el flujo de una corriente de gas, formando así un aerosol. Estas son la base de los **nebulizadores ultrasónicos**. Los nebulizadores ultrasónicos son los únicos que han reducido los límites de detección a la mitad, en relación con los nebulizadores neumáticos.

La cantidad de muestra líquida y el tamaño de las gotas del aerosol que alimenta la llama o el plasma (véase la tabla de abajo) dependen de una serie de factores, como el diseño del nebulizador, el caudal del gas y las propiedades del líquido (como la viscosidad, la densidad y la tensión superficial). Para un conjunto de determinaciones con el mismo instrumento, el diseño del nebulizador y los flujos de gas permanecen constantes. No podemos olvidar, para poder realizar análisis precisos y exactos, que las propiedades de las muestras líquidas varían para *cada* una de éstas.

En algunos nebulizadores, la muestra líquida se absorbe mediante un vacío parcial, a través de un tubo fino y hasta el nebulizador. Bajo unas condiciones fijas de diseño (caudal del gas, temperatura y diseño del nebulizador), el flujo de líquido que va a través del tubo de alimentación es inversamente proporcional a la viscosidad del líquido. Lo que significa que, si la viscosidad dobla su magnitud, el caudal de líquido a través del tubo queda reducido a la mitad, en las mismas condiciones de diferencial de presión. La Tabla 9.1 muestra las viscosidades de algunos líquidos que podrían usarse en espectrometría atómica.

Supongamos que se prepara una disolución acuosa patrón formada por unas pocas ppb de una sal, por ejemplo CuCl_2 , y se utiliza como estándar en la determinación del Cu. Esta disolución diluida fluye con la misma facilidad que el agua. Pero, ¿qué ocurre si la misma muestra se digiere en HNO_3 concentrado, y queda diluida de forma que la disolución es 1 M en ácido? Como muestra la columna de la derecha de la Tabla 9.1, la disolución, en las mismas condiciones, va a fluir un 15% más lenta. Por lo tanto, debido a la diferencia de viscosidad, durante un período de tiempo fijo, aproximadamente un 15% menos de muestra pasa por el nebulizador para ser atomizada. La señal del cobre de la muestra será un 15% menor que si la muestra y los estándares hubieran tenido la misma viscosidad.

Los efectos de la viscosidad en una disolución acuosa pueden compensarse de diversas formas, por ejemplo, añadiendo un ácido como el HNO_3 o el H_2SO_4 a los estándares para que tengan viscosidades iguales a la de las muestras. Este proceso se denomina realizar **disoluciones niveladas**. Un método alternativo es el de bombear tanto los estándares como la muestra, con un mismo caudal, hasta el instrumento. Para esta aplicación es normal emplear pequeñas bombas con tubos químicamente inertes. Otro modo

Tabla 9.1. Viscosidades de disolventes y disoluciones a 25 °C

Líquido	Viscosidad (centipoisones)	Viscosidad relativa al agua
Agua	0,894	1,00
1 M HCl	1,01	1,13
1 M H_2SO_4	1,18	1,33
1 M HNO_3	1,03	1,15
1 M NaCl	1,09	1,22
1 M KCl	0,99	1,11
1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1,29	1,44
Metanol	0,553	0,62
Benceno	0,602	0,67

Fuente: *International Critical Tables*, Vol. 5. New York; McGraw-Hill, 1929.

de tratarlo es utilizar un método de adición estándar, o añadir estándar interno a cada muestra.

Otras dos propiedades de los líquidos, la tensión superficial y la densidad, varían con la adición de ácidos y sales. Estas propiedades no son tan fáciles de compensar; sin embargo, ya que son fuentes de error, conviene tenerlas en cuenta. La adición estándar o la utilización de un estándar interno es en realidad el único método que nos permite corregir estos efectos. Sin embargo, con el bombeo de muestras y nebulizadores ultrasónicos, los efectos de las variaciones en las propiedades de los disolventes quedan minimizados.

Según estos argumentos, queda claro que los estándares acuosos no serían buenas alternativas para muestras disueltas en disolventes orgánicos. En tales casos, los errores debidos únicamente a la viscosidad podrían ser del orden del 40%. Esto sin considerar el hecho de que la tensión superficial y entalpía de vaporización de disolventes orgánicos difieren significativamente de las del agua.

Muestras de gases

Si el elemento que se va a analizar es un gas monoatómico a temperatura ambiente, entonces la atomización es bien sencilla. Simplemente hay que introducir el vapor atómico en una célula, como se indica en la Figura 9.8. Por ejemplo, el mercurio es un metal volátil y puede cuantificarse de esta forma por espectrometría de absorción y emisión.

El mercurio iónico puede determinarse de manera similar. En primer lugar hay que reducir los iones a mercurio metálico, que después se transfiere a la célula. Como el mercurio es muy volátil en su estado atómico, es el único metal que puede atomizarse a temperatura ambiente.

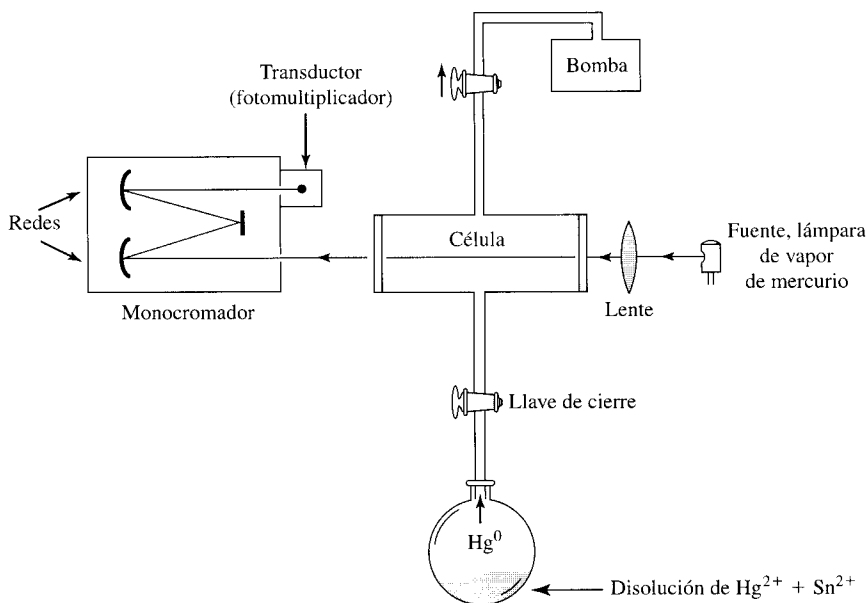


FIGURA 9.8 ▲
Diagrama del instrumento utilizado para determinar la concentración de mercurio atómico existente en una célula.

El vapor de mercurio, producido por reducción de Hg^{2+} a Hg^0 con Sn^{2+} , se introduce en una célula previamente vaciada. La fuente de luz es una lámpara de vapor de mercurio. Se selecciona una línea atómica por medio del monocromador.

Hay varios hidruros metálicos que son también gases a temperatura ambiente. Los hidruros metálicos volátiles se generan mezclando una disolución de NaBH_4 estabilizada con hidróxido sódico, con una disolución ácida del metal. Los iones metálicos reaccionan para formar hidruros volátiles, produciéndose un gran exceso de gas hidrógeno. Los hidruros formados son arrastrados hacia el atomizador para la cuantificación espectrofotométrica. Sin embargo, hay que optimizar las condiciones adecuadas, ya que se requieren distintas concentraciones del ácido y de NaBH_4 para los distintos metales.

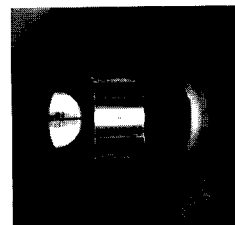
La formación de hidruros se emplea para metales, que son difíciles de volatilizar con una llama o un horno. En la Tabla 9.2 se muestran los puntos de ebullición de los metales, y el de los hidruros resultantes. La generación de hidruros tiene otros beneficios, pues al ser tan bajos sus puntos de ebullición, las reacciones tienden también a separar las especies metálicas de su matriz.

9.5. Aislamiento de los átomos o iones de las muestras

En la última sección, tratamos los procesos de atomización de una muestra para su análisis. En esta sección, veremos los componentes instrumentales comúnmente utilizados en espectrometría atómica.

Hornos

Los hornos se utilizan principalmente para atomizar sólidos, lodos y disoluciones para medidas por absorción atómica. Un diseño frecuentemente utilizado consiste en un tubo de grafito con un diámetro interno de unos pocos milímetros (Figura 9.9). Debido a que el tubo del horno se calienta al hacer pasar una corriente eléctrica a través del grafito (que actúa como una resistencia) el método también se llama **atomización electrotérmica**. Algunos hornos incluyen en su interior una plataforma de grafito, denominada **plataforma L'vov**. En este caso, la muestra se coloca en la plataforma en lugar de la superficie interna del horno. La plataforma sólo toca los lados del horno por el canto inferior de éste, de forma que el calor de sus paredes no calienta la muestra directamente. La muestra se calienta principalmente por medio de calor radiado, que tiende a producir un calentamiento más uniforme. Por otro lado, lo primero que se calienta son las paredes del horno, y luego se evapora la muestra, lo cual evita que ésta se condense en la superficie



Fuente del horno/plasma de grafito.

La muestra se inyecta a través del agujero rectangular (oscuro). El tubo de grafito se calienta pasando una corriente de un lado al otro (de arriba abajo). Entonces se genera un plasma por acoplamiento inductivo entre la barra de grafito (anclada a la izquierda) y la pared del horno. Si la barra no está presente, puede realizarse una absorción atómica.

Table 9.2. Puntos de ebullición de unos elementos seleccionados y sus hidruros covalentes

Elemento	Punto de ebullición/°C	Hidruro	Punto de ebullición/°C
Arsénico	613*	AsH_3	-62
Bismuto	1560	BiH_3	-22
Germanio	2830	GeH_4	-88
Plomo	1725	PbH_4	-13
Antimonio	1380	SbH_3	-18
Selenio	682	H_2Se	-41
Estaño	2270	SnH_4	-52
Teluro	990	H_2Te	-2

* Sublima.

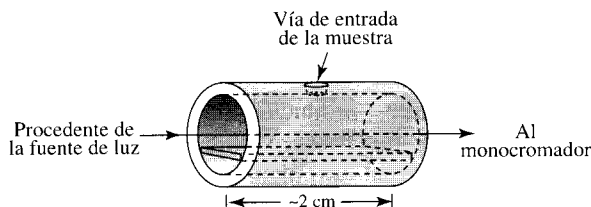
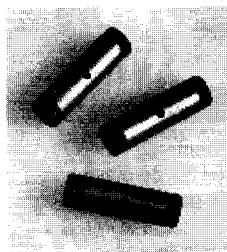


FIGURA 9.9 ▲
Ilustración de un tipo de horno de grafito.

El tubo tiene de 2 a 3 cm de longitud y está colocado entre dos conexiones eléctricas. El cilindro se calienta haciendo pasar una corriente eléctrica a través de él.



Tubos de grafito empleados en espectrometría atómica.

interior del horno. Sin embargo, pueden obtenerse resultados totalmente satisfactorios sin tener que usar la plataforma de L'vov.

Cada tipo de muestra requiere un programa de calentamiento diferente. Por ejemplo, si la muestra es una disolución o un lodo, el primer paso a tomar es calentarla hasta unos 100 °C para eliminar todo el disolvente. A veces es interesante calentar el horno a una temperatura intermedia más elevada (determinada empíricamente) para vaporizar algunos de los interferentes de la matriz. A este paso se lo denomina **etapa de calcinación** o **pirólisis**, y para que sea efectivo, el analito ha de estar presente en una forma térmicamente estable, para que no se pierda nada. A continuación se eleva la temperatura tan rápidamente como sea posible hasta la temperatura de atomización y la muestra se vaporiza en el camino óptico de la radiación. Es fundamental mantener el horno en una atmósfera inerte (como el argón) durante el período de calentamiento, para reducir al mínimo las reacciones químicas no deseadas con las partículas atomizadas del analito. Este tipo de atomización electrotérmica se utiliza ocasionalmente para generar plasmas para emisiones atómicas.

En la absorción atómica, los hornos de grafito permiten situar la muestra en el camino óptico durante un período de tiempo mayor que en la llama. Por otro lado, el residuo tiende a ser mayor, por lo que podría perderse material de la muestra. También podrían producirse interacciones entre el analito y el horno. Para eliminar en parte estos efectos, pueden añadirse diversos **modificadores de matriz** a la muestra. Los modificadores forman complejos con el analito, que permiten incrementar la temperatura de vaporización. Este proceso ayuda a estabilizar la muestra durante el paso de calcinación y eleva la temperatura de vaporización. Como resultado, hay una mayor dilución en la atomización del analito después de la vaporización de la matriz, reduciéndose así los efectos residuales. Los modificadores también tienden a reducir las diferencias del efecto de la matriz sobre las diferentes muestras individuales, y entre las muestras y los estándares. Los modificadores de matrices son específicos para ciertos elementos. Estos modificadores se muestran con los protocolos estándares de los elementos, que normalmente se suministran con los instrumentos.

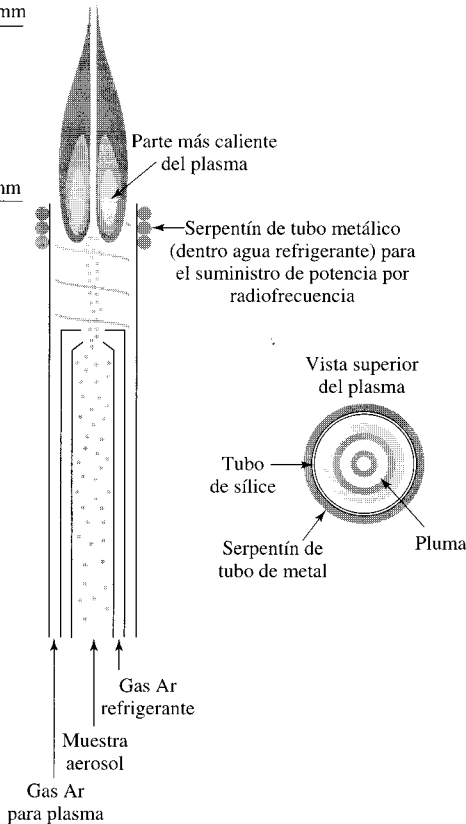
Plasmas

Un plasma es un gas ionizado. Los plasmas de alta temperatura operan como atomizadores de alta temperatura. El tipo más comúnmente utilizado para emisiones atómicas es la antorcha de **plasma de acoplamiento inductivo (ICP)**. La estructura general de una fuente de plasma de inducción se muestra en la Figura 9.10. El ICP es un plasma continuo (en el tiempo) que se induce en la corriente de flujo del argón. La energía para ionizar el argón procede de la aplicación de un campo electromagnético de radiofrecuencia. Los electrones se aceleran por medio del campo electromagnético y colisionan con los átomos contiguos, produciendo un calentamiento y una ionización adicional que man-

Temperatura aproximada	Altura aproximada por encima del serpentín
1800 K	25 mm

2000 K 15 mm

3000 K 0 mm



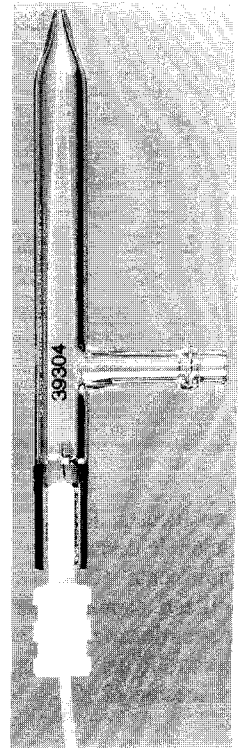
◀ FIGURA 9.10

Diagrama esquemático (sin escala) de la antorcha de plasma (ICP) utilizado como fuente espectrométrica de emisión atómica.

El argón se excita e ioniza por medio de la energía de radiofrecuencia que se emite desde una bobina de inducción situada en la base del plasma. El plasma que se forma es hueco, y el analito pasa a través de la región hueca mediante una corriente de gas. Los gases que transportan la muestra nebulizada fluyen de abajo arriba junto con otra corriente de gas refrigerante para enfriar la antorcha de cuarzo. El plasma se suspende alejado de las paredes de cristal a través de una combinación de la ruta helicoidal del flujo del gas enfriador y la forma de la radiofrecuencia del campo electromagnético. La separación evita que los 3000 K de temperatura fundan la sílice. Tanto el flujo helicoidal del gas como la forma del plasma ayudan a mantener la antorcha con los gases más calientes. La temperatura del ICP se explica en Meeks, F. R. 1993. *Spectrochemica Acta*, 45B, 1537-1549.

tiene el estado de plasma. La denominación de *plasma de inducción* surge porque el plasma no está directamente conectado con el bucle, sino que la energía se aplica por inducción. Si el flujo de gas y la potencia de la radiofrecuencia se regulan correctamente, se formará una región con forma de donut con una temperatura alta y constante sostenida desde la base del plasma; es la zona por donde se introduce la muestra.

Comúnmente las antorchas, de ICP se incorporan a los instrumentos de emisión tanto verticales, como el que muestra la figura, como rotadas 90° para una alineación horizontal con el paso óptico. La razón dada para rotar la antorcha es que esta orientación permite que la emisión sea detectada más directamente y con la longitud total de la antorcha en lugar de por una ruta más corta vista desde la antorcha de posición vertical. En la práctica, la ruta más larga puede ser beneficiosa, en el sentido de que produce límites de detección menores, pero las variaciones de temperatura a lo largo de la ruta pueden llevar a producir efectos de fondo y a tener más problemas causados por las interferencias espectrales. Por tanto, la elección depende en parte de las concentraciones de analito y de los interferentes de la matriz. Sin embargo, algunas diferencias pueden compensarse variando la preparación de las muestras; por ejemplo, diluirla a una concentración diferente. En la actualidad, para medidas de emisión, no parece haber razones que obliguen a escoger una orientación sobre la otra.



Nebulizador de cristal del tipo utilizado con una antorcha ICP. (Cortesía de Glass Expansion Pty., Ltd.).

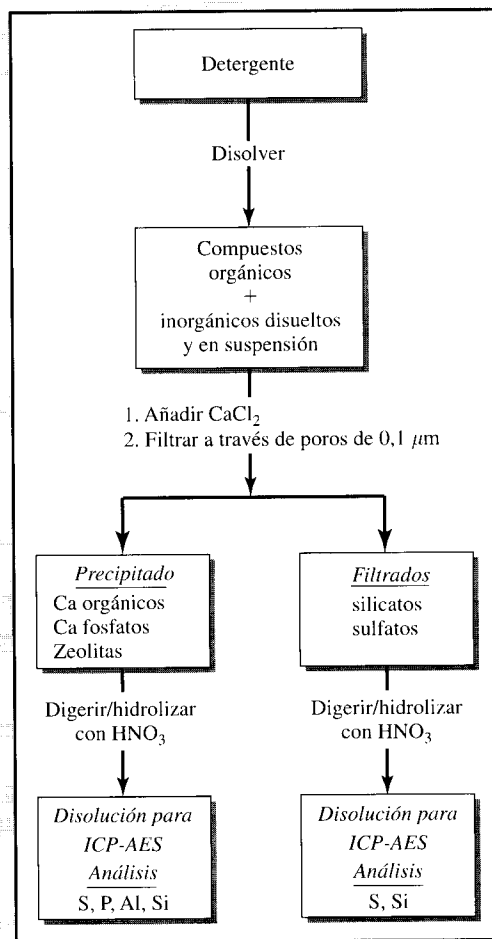
CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 9-1

Más limpio y más ecológico

Los análisis de detergentes, que normalmente contienen surfactantes aniónicos y varios ingredientes, necesitan de los disolventes orgánicos incluido el cloroformo para extracciones y valoraciones. Los métodos analíticos que los utilizan han ido quedando desfasados tanto por sus costes como debido a los efectos nocivos en el medio ambiente de estos disolventes. El desarrollo del análisis que describimos aquí, no solamente elimina los disolventes orgánicos, sino que utiliza exclusivamente el ICP-AES para analizar detergentes tanto para sus componentes orgánicos como para los inorgánicos. Los componentes orgánicos son sulfonatos alquilbenzoicos y sulfatos alcalinos y los inorgánicos son fosfatos, sulfatos, silicatos y zeolitas. Siendo el agua el disolvente para todos.

Siguiendo la preparación que se muestra en el diagrama de flujo, el ICP-AES se utiliza de la forma siguiente: redisolviendo e hidrolizando el precipitado se cuantifican los surfactantes orgánicos midiendo el contenido de azufre. Para los ingredientes inorgánicos, los fosfatos se miden por la señal del fósforo, los sulfatos por la señal del azufre y la zeolita (suponiendo la Zeolita A, $\text{Na}_{12}\text{Al}_2\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \cdot 27\text{H}_2\text{O}$), por el contenido de aluminio. El silicato se determina por la señal del sílice total después de restar la cantidad debida a la Zeolita A. La corrección cuantitativa depende, desde luego, de la correcta identificación del tipo de Zeolita.

No solamente se han eliminado los disolventes orgánicos con este método analítico, sino que es significativamente más rápido que los métodos anteriores y exhibe la misma desviación estándar relativa (RSD).



[Ref.: KAWAUCHI, A. 1997. «Non solvent Quantitation of Anionic Surfactants and Inorganic Ingredients in Laundry Detergent Products.» *J. Am. Oil Chemists Soc.* 74, 787-792.] ■

Las fuentes de excitación de descarga luminiscente (GD) se utilizan también en espectrometría. Véase desarrollo del tema en la Sección 12.10.

Existen otras muchas formas de generar un plasma: mediante la aplicación de corriente continua de alto voltaje entre 2 electrodos (plasma DC, de arco o chispa), mediante la aplicación de corriente alterna (plasma AC), mediante radiación de microondas (plasmas inducidos de microondas) y descargas luminiscentes generadas en las superficies metálicas. Ninguno de ellos es de uso tan común como el plasma ICP.

Los plasmas se utilizan tanto para la excitación de muestras líquidas como sólidas, existen antorchas con diseños especiales que permiten la introducción de suspensiones o disoluciones con alto contenido en sólidos sin que se produzca el bloqueo de las mismas. El disolvente preferido es el agua aunque también se pueden emplear disoluciones acuosas con baja proporción de disolventes orgánicos. Sin embargo, la presencia de disolventes orgánicos disminuye la eficiencia de ionización del plasma y en último término puede

llegar a apagarlo. Las fuentes de descarga luminiscente se utilizan para los sólidos, especialmente para el análisis de metales. Su funcionamiento se basa en el bombardeo de la superficie metálica y excitación, tal como ocurre con las lámparas de cátodo hueco.

Lámparas de cátodo hueco: Figura 9.20, pág. 395.

Llamas

Los atomizadores de llama pueden emplearse en el análisis de muestras líquidas mediante técnicas de emisión y absorción. Las llamas, como sistemas de atomización, han llegado a un alto grado de fiabilidad después de más de 50 años de desarrollo. Sin embargo, como los gases de la llama diluyen la muestra, se necesita una llama con trayectoria larga para obtener altas sensibilidades; la absorción aumenta a medida que se incrementa la longitud de paso óptico. Puede obtenerse una llama de trayectoria larga utilizando un **quemador de ranura**, tal como muestra la Figura 9.11. Para generar una llama pueden utilizarse una gran variedad de combustibles y oxidantes. La elección depende de la temperatura que se desea alcanzar así como de los elementos que se quieran determinar. Sin embargo, todas las fuentes de llama corrientes se mantienen a temperaturas relativamente bajas comparadas con los plasmas de argón o de helio. Aunque los instrumentos que utilizan la atomización de llama aún son de uso corriente, van siendo sustituidos por los que utilizan plasmas de gas inerte. La razón principal es una mejor adaptación en el análisis simultáneo multielemental; por otro lado, el plasma en conjunto proporciona mejores resultados de emisión, para una mayor gama de elementos, que los que pueden conseguirse con las llamas. Además, los plasmas inertes no requieren la presencia de gases inflamables en los laboratorios.

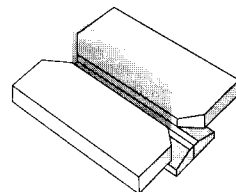


FIGURA 9.11 ▲ Llama producida por un quemador de ranura.

9.6. Origen de interferencias espectrales en fase gaseosa

Como se dijo en el último capítulo, las interferencias espectrales surgen de los componentes de la matriz en la muestra. En espectrometría de fase gaseosa, los componentes de cualquier plasma o llama que se utilice también deben incluirse como parte de la matriz. Las interferencias espectrales son distintas de las interferencias químicas cuya causa son los cambios químicos de los analitos.

Como sabemos ahora, todos los componentes que van en una muestra, esto es, las muestras originales más los reactivos utilizados en la preparación de la misma, contribuyen a las interferencias. Generalmente reduciendo la radiación de fondo mejora la precisión de un análisis espectral atómico.

Los efectos de la interferencia espectral en espectroscopia atómica se deben a los siguientes fenómenos en fase gaseosa que ocurren tanto en emisión como en absorción.

Interferencias químicas: Sección 9.4.

1. Por la dispersión de la radiación por la presencia de partículas y de gotas: las partículas se originan en una atomización incompleta, mientras que las gotas se forman por una nebulización deficiente. Como muestra la Figura 9.12, la dispersión de la luz normalmente reduce la cantidad de luz que alcanza al transductor. Sin embargo, en emisión, la luz reflejada puede provocar un aumento en la señal. Sería muy raro encontrarse con tales partículas en plasmas ICP.
2. Debido a la absorción y emisión molecular. Las moléculas producen significativamente más líneas espectrales que los átomos. La diferencia entre una línea de base pura y una con especies moleculares se muestra en la Figura 9.13. El efecto de la radiación molecular o fondo que puede observarse a la derecha de la figura, donde la señal varía rápidamente con la longitud de onda, se denomina fondo **estructurado** y se debe a la estructura vibracional y rotacional de las

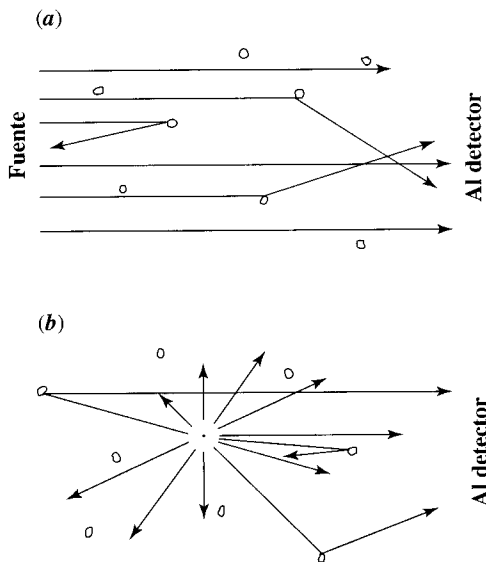


FIGURA 9.12 ▶ **Dispersión de la luz producida por partículas ($> 1\mu\text{m}$).**

(a) La dispersión de la luz por las partículas reduce la intensidad de luz que pasa a través de una zona, al deflectarse o reflejarse fuera del transductor que queda al lado derecho. (b) Las partículas podrían aumentar la cantidad de luz que llega al transductor desde una fuente luminosa: la luz que de otra forma no iba a llegar al transductor se refleja o dispersa de nuevo hacia el transductor. La dispersión de la luz es bastante más complicada de lo que se muestra aquí, ya que el proceso depende del tamaño de las partículas, de su índice de refracción, y de la longitud de onda de la luz.

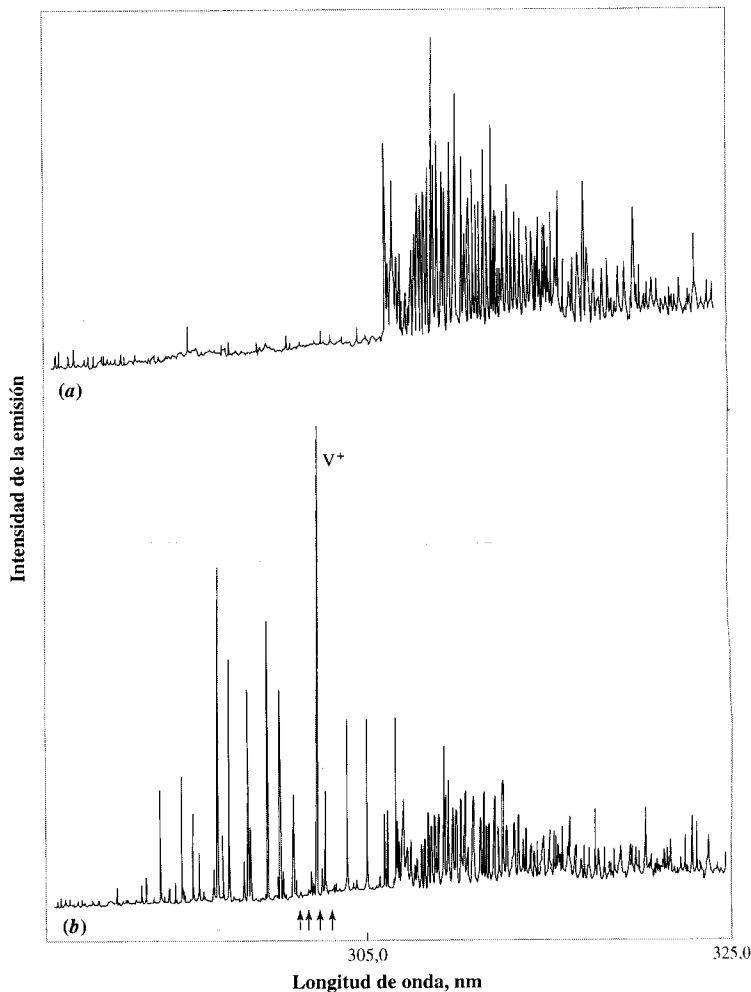


FIGURA 9.13 ▶ **Líneas moleculares y líneas atómicas.**

En este caso, las líneas se obtuvieron por un barrido de longitudes de onda de la emisión de un analito líquido nebulizado que se atomizó en una antorcha ICP. (a) El espectro del agua (blanco) mostrando la línea espectral del OH y unas pocas líneas atómicas. (b) Espectro de una disolución acuosa con vanadio presente mostrando las líneas atómicas que caen fuera de la línea atómica molecular. Las flechas en (b) indican algunas de las longitudes de onda donde pueden tomarse medidas del fondo a ambos lados de la línea de emisión V^+ .

moléculas. En los análisis por emisión atómica encontrar longitudes de onda en los que se presenta el fondo estructural suele resultar difícil. Una forma de resolver estas dificultades es utilizar una línea atómica de este mismo elemento, pero en una región de longitud de onda diferente —una donde no esté presente un fondo estructurado—. Para la absorción atómica, las técnicas de corrección de fondo funcionan bien incluso en presencia de fondos estructurados. Estas técnicas de corrección del fondo se describirán en la Sección 9.8.

3. Por emisión de un espectro continuo procedente de la matriz. Se produce un espectro continuo cuando la separación entre niveles de energía se hace más pequeña que la anchura de la línea espectral; las líneas espectrales van juntas y sin resolución. Los desplazamientos de transiciones discretas hacia un espectro continuo se muestran en la Figura 9.14. En la región continua, este efecto se dice que está **sin estructurar** y normalmente se puede compensar con facilidad y efectividad.
4. La luz emitida por todos los objetos calentados va desde el calor rojo al calor blanco y se la denomina radiación de un **cuerpo negro**. La dependencia con la temperatura de la radiación de un cuerpo negro se muestra en la Figura 9.15. Como podemos ver por la figura, la intensidad de la radiación de un cuerpo negro varía atenuadamente con la longitud de onda. La radiación del cuerpo negro también está sin estructurar y puede compensarse con efectividad. En

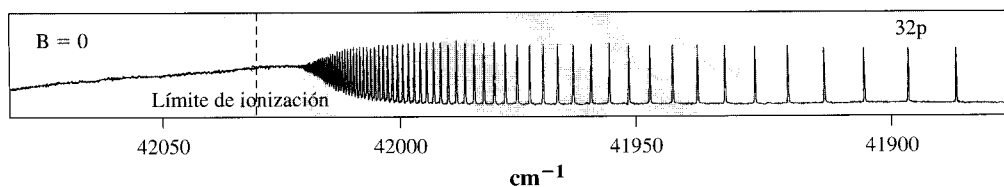
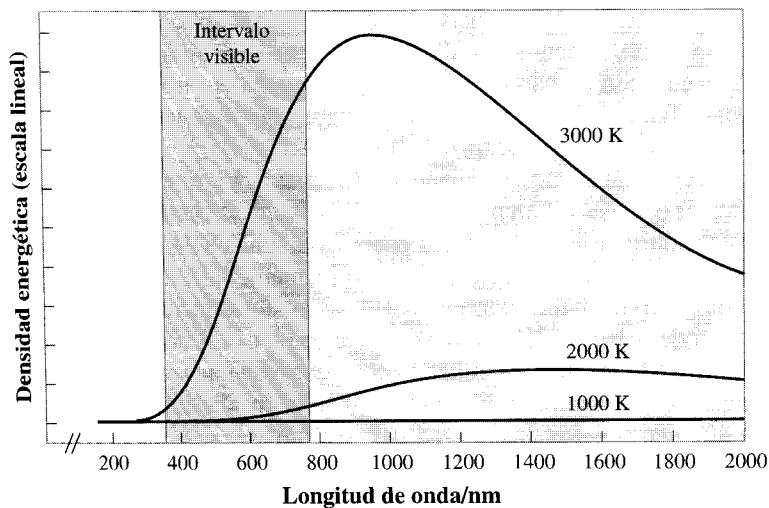


FIGURA 9.14 ▲
Espectro de emisión del bario.

El espectro ilustra el estrechamiento progresivo del espaciado entre las líneas espectrales hasta que se obtiene el continuo. El continuo produce un fondo no estructurado que puede restarse para obtener el espectro correspondiente únicamente al analito. [Ref.: Lu, K. T., et al. 1978. *Proc. Roy. Soc. Lond. A* 362, 421–424.]



◀ FIGURA 9.15
Ilustración del espectro de la radiación de un cuerpo negro a tres temperaturas.

Las temperaturas cubren el intervalo característico de los atomizadores empleados en espectrometría atómica analítica. A medida que aumenta la temperatura del atomizador se incrementa la contribución de la radiación del cuerpo negro al fondo. En el caso de llamas y hornos esta contribución es pequeña, en las fuentes de plasmas la contribución es moderada y se puede corregir de forma efectiva.

espectrometría atómica la llama o el plasma pueden comportarse como un cuerpo negro, así como cualquier sustancia que atraviese el camino óptico, como pueden ser partículas no atomizadas.

5. Por autoinversión de líneas espectrales debidas a la absorción de la radiación emitida por partes menos calientes de la fuente. El efecto de autoinversión en la forma de la línea ya se mostró en la Figura 9.4 de la página 369. La autoinversión siempre reduce la cantidad de luz que llega al transductor. Podemos compensar los efectos de la autoinversión, pero las condiciones de llama/plasma tienen que permanecer altamente estables para realizarlo con una buena precisión.

No solamente influye sobre el fondo la muestra, sino que también afecta a la atomización. Esto significa que el fondo difiere según que la muestra se atomice por medio de una llama o el plasma o calentándola en un horno. En otras palabras, las especies químicas presentes en la fase gaseosa dependen no sólo de los componentes de la muestra o de los reactivos del pretratamiento, sino también del sistema de atomización. Estos detalles incluyen las temperaturas de las diversas zonas del atomizador (llama, plasma, u horno) así como el tiempo de permanencia del compuesto a cada temperatura.

9.7. Metodología de emisión atómica

Un espectrómetro de emisión de llama funciona de forma similar a un espectrómetro de absorción atómica como el que se muestra en la Figura 9.18, pero sin la lámpara de cátodo hueco.

Las diversas características de los policromadores y de los monocromadores se describen en la Sección 8.4.

La radiación procedente de las emisiones atómicas contiene líneas características de todos o de casi todos los elementos de la muestra, sin que influya para ello el método utilizado en la atomización de la misma. Las líneas más habitualmente utilizadas se muestran en la Figura 9.16. Es posible, por tanto, determinar varios elementos de forma simultánea. La espectrometría de emisión es intrínsecamente una técnica de análisis simultáneo multielemental.

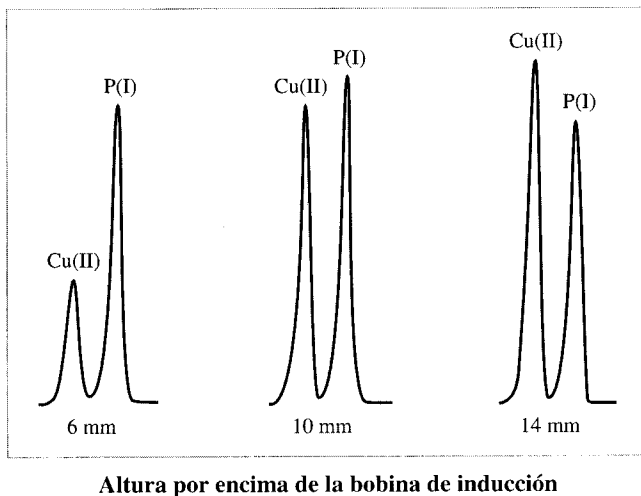
Para determinar la composición elemental, tiene que medirse la intensidad de radiación para cada elemento a su longitud de onda y corregir el fondo (tal como se muestra más abajo). Se pueden utilizar tanto la detección simultánea como la secuencial. La detección simultánea se apoya en los policromadores, mientras que la detección secuencial se basa en barrer la región espectral de interés mientras la muestra se introduce a velocidad constante en el atomizador.

Con el equipo más sofisticado, pueden determinarse simultáneamente hasta 70 elementos químicos en un solo experimento y con precisiones del 1-3%. Los métodos de emisión atómica pueden utilizarse para análisis elemental a concentraciones de analito desde el 100% hasta ppm o ppb, dependiendo del elemento, de la matriz, y del modo de excitación térmica empleada. Sin embargo, debido a los límites del intervalo dinámico de cualquier instrumento fotométrico, no es nada probable que puedan determinarse simultáneamente niveles mayoritarios o de trazas.

Como en cualquier técnica en la que se realizan determinaciones multielementales, las condiciones experimentales óptimas difieren para cada elemento. Los elementos muestran diferencias en la atomización dependiendo de sus energías de enlace en la matriz de la muestra. Se prevé que algunos elementos se atomicen rápidamente mientras que otros lo hagan más despacio. Por ejemplo, en una antorcha ICP, los elementos fácilmente atomizables aparecerán más cerca de la base de la antorcha, donde comienza el calentamiento. El efecto se puede ver experimentalmente comprobando el espectro de una serie simple frente a la altura. Un ejemplo se muestra en la Figura 9.17. Las intensidades relativas de las emisiones del fósforo atómico y del cobre ionizado simple difieren significativamente a distintas alturas del plasma. En otras palabras, las condiciones optimizadas para la cuantificación de un elemento no suelen ser las mejores para los demás elementos presentes.

FIGURA 9.17 ▶
Medida de la emisión producida a tres alturas diferentes del plasma de una antorcha ICP.

Las distintas intensidades de los picos surgen de las diferencias cinéticas de los gases y del equilibrio del P y Cu. Las líneas de emisión se deben al P(I) a 213,618 nm y del Cu(II) a 213,598 nm. [Ref.: Xu, J., Kawaguchi, H., Mizuike, A. 1982. *Appl. Spec.* 37, 123.]



¿Qué más nos dicen estos resultados? Vemos más directamente que incluso la altura de observación de una antorcha ICP es un factor que contribuye a la obtención de sensibilidades mayores. Incluso más importante, deducir algunos de los mecanismos químicos por los que el plasma contribuye al ruido en el análisis. Efectivamente, cualquier cambio en los caudales de gas, en la potencia de radiofrecuencia y en la temperatura puede modificar las especies químicas y sus emisiones en el volumen de toma de datos del detector. Cuando estos cambios son al azar en el tiempo, los cambios químicos contribuyen directamente en la interferencia. Como resultado, los límites de detección y de precisión dependen directamente de la estabilidad del plasma en la reacción.

La dependencia de las emisividades con la temperatura puede explicarse por la ecuación de Boltzmann. Véase la Sección 9A.

Repasemos las características de la espectrometría de emisión. La espectrometría de emisión es intrínsecamente una técnica multielemental. La fuente emisora tiene que tener una temperatura muy estable para obtener la mejor precisión. Por otro lado la temperatura debe ser tan constante como sea posible en todo el volumen de la fuente emisora para limitar los efectos de autoabsorción. Asimismo, como indicamos anteriormente, fuentes más calientes normalmente producen una atomización más completa. Como consecuencia, en espectrometría de emisión, se prefiere una fuente de plasma a una fuente de llama porque las fuentes de plasma son más calientes y de temperatura más homogénea que las fuentes de llama. El mayor problema de la espectrometría de emisión es la interferencia espectral. De todas formas, gracias a las posibilidades de detección multicanal de datos que ofrece la tecnología moderna es posible medir simultáneamente casi todas las longitudes de onda, tanto de las mejores líneas atómicas como de las de emisión de fondo. Después, utilizando intensidades de pico relativas ya conocidas, pueden determinarse las interferentes que están presentes simplemente por sustracción.

9.8. Metodología de absorción atómica

A diferencia de la espectrometría de emisión atómica, la de absorción es intrínsecamente un método de determinación unielemental. Los instrumentos están diseñados a lo sumo para determinar unos pocos elementos sin cambiar las fuentes. Por otro lado, a diferencia de la emisión atómica, prácticamente no hay problemas con la interferencia espectral de otras líneas atómicas o iónicas. Generalmente es posible encontrar una línea atómica que esté relativamente libre de solapamientos. Las longitudes de onda más uti-

lizadas comúnmente para cada elemento se muestran en la tabla periódica de la Figura 9.16; algunas de las pocas interferencias espectrales conocidas se muestran en la Tabla 9.3. Como se desarrolló en la Sección 9A, la precisión de las medidas de absorción atómica depende menos de la temperatura de atomización que de la espectrometría de emisión. En análisis de absorción, cuando se aspiran las muestras en disolución, es posible obtener precisiones superiores al $\pm 1\%$. Un posible problema es que la absorbancia es lineal con respecto a la concentración del analito a niveles superiores en sólo unas veinte veces el intervalo la concentración.

Las partes principales de un espectrómetro de absorción atómica con llama se muestran en la Figura 9.18. A continuación describimos las cuatro partes más importantes de un espectrómetro de absorción general: la fuente de radiación, el atomizador, el monocromador y el transductor/detector. Partes singulares de los espectrómetros de absorción atómica son la fuente de luz y los sistemas para compensar la absorción de fondo. Vamos a considerar cada uno de ellos.

La fuente de radiación en absorción atómica

Como indicamos al principio del capítulo, los efectos que producen la autoinversión en las líneas espectrales atómicas (Figura 9.4) se utilizan con gran provecho para la espectrometría atómica de absorción: la fuente de radiación es siempre una emisión de línea única estrecha del *elemento que se analiza*; la anchura (atmm) del espectro de absorción es entre 10 y 100 veces mayor; la anchura de los espectros de absorción es del orden de 10^{-2} nanómetros, mientras que la anchura de línea de la emisión ronda los 10^{-3} nanómetros. Por tanto, como muestra la Figura 9.19, aunque el espectro de absorción puede superponerse, las líneas estrechas de la fuente pueden no ser absorbidas por el espectro

Tabla 9.3. Superposición directa de interferencias en la absorción atómica

Elementos/Interferente		Longitud de onda (nm)
Cu/Eu	Cu	324,7540
	Eu	324,7530
Si/V	Si	250,6899
	V	250,6905
Fe/Pt	Fe	271,9025
	Pt	271,9038
Al/V	Al	308,2155
	V	308,2111
Hg/Co	Hg	253,652
	Co	253,649
Mn/Ga	Mn	403,3073
	Ga	403,2882
Zn/Fe	Zn	213,856
	Fe	213,859
Fe/Cr	Fe	302,064
	Cr	302,067

NOTA: Esta lista no incluye las líneas de absorbancia de la matriz que aparecen en la región residual y que pueden interferir con la corrección de fondo.

Fuente: Pickett, E. E., Koirtjohann, S. R. 1969. *Anal. Chem.* 41(14), 28A. Miller-Ihli, N. J. *et al.* 1982. *Anal. Chem.* 54, 799.

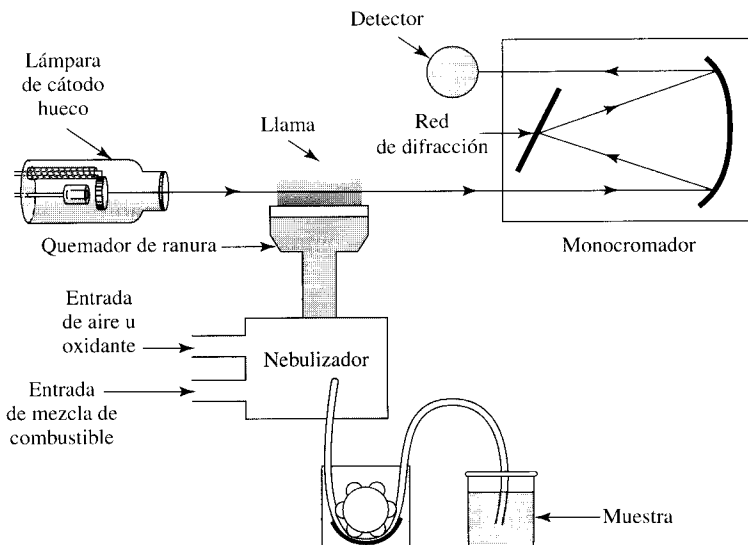


FIGURA 9.18 ▶ **Despiece general de un espectrómetro atómico de absorción de rayo único.**

La lámpara de cátodo hueco se describe con minuciosidad en la Figura 9.20. En la Figura 9.11 se ve pormenorizado el quemador de ranura. Dos tipos de nebulizadores se muestran con detalle en la Figura 9.7. La velocidad de alimentación se controla con una bomba peristáltica como muestra esta figura.

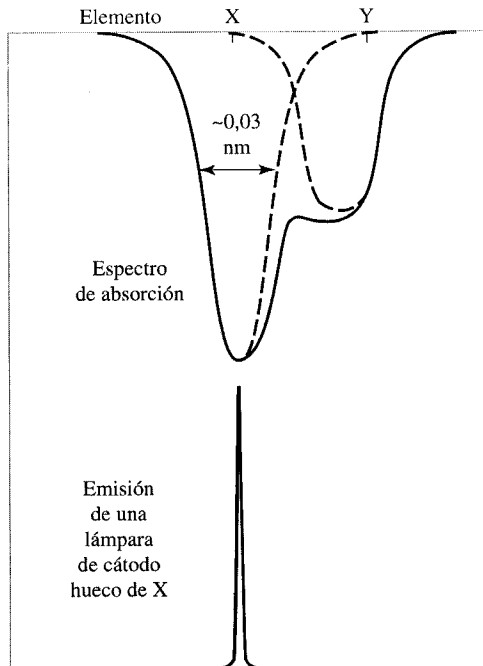


FIGURA 9.19 ▶ **Comparación de anchura de líneas en absorción atómica.**

Comparación de anchura de líneas del espectro de absorción de un atomizador y las líneas de emisión de una lámpara de cátodo hueco. La absorción tiene una anchura atmm de alrededor de 0,03 nm, mientras que la anchura de emisión es la décima parte o menos. Como resultado, el elemento Y, que sería el interferente de X en emisión, no causa ningún problema en la absorción atómica.

de un posible interferente. Si volvemos a la Tabla 9.3 veremos lo cerca que están las longitudes de onda interferentes. Si nos encontramos con excesivas interferencias en nuestra primera opción (Figura 9.16), podemos utilizar otras longitudes de onda de emisión/absorción.

La utilización de una fuente de líneas comparada con una fuente continua facilita el intervalo lineal de la curva de trabajo, por lo que surge una pregunta razonable: ¿por qué no ajustar las rendijas del espectrómetro de forma que el paso de línea sea lo suficientemente estrecho como para evitar las interferencias espectrales y aumentar el intervalo de

la ley de Beer? Después de todo, esto va a producir el mismo efecto que la utilización de una fuente de líneas. La respuesta es que técnicamente esta solución es más difícil. Además, una rendija tan estrecha produciría un descenso significativo en el cociente Señal/Ruido, haciendo la corrección del fondo menos precisa.

Una fuente de luz en absorción atómica tiene que ser bastante intensa, como mínimo tan intensa como la radiación de un cuerpo negro a la temperatura del atomizador. Esta idea es difícil de entender hasta que consideramos lo difícil que es ver si la luz de un flash está encendida cuando le da directamente el sol. El sol es un cuerpo negro que tiene su mayor intensidad de radiación en la parte visible del espectro. No podemos percibir la luz de baja intensidad relativa de un flash. Por otro lado, si la luz es suficientemente intensa, podemos verlo claramente. Por ejemplo, es fácil ver la luz de una soldadura por arco a la luz del sol.

Ocurre exactamente lo mismo en un análisis de absorción atómica. El monocromador del instrumento se fija a las longitudes de onda analíticas. Sin embargo, el detector de los instrumentos no registra cambios utilizables en absorción a no ser que la potencia que le llega de la fuente sea como mínimo tan grande como la potencia de la emisión residual que llega también de la llama.

Una fuente de luz que posee estas dos propiedades, anchura de línea estrecha y alta intensidad a la longitud de onda correcta, es una lámpara de cátodo hueco fabricada del mismo elemento que se está analizando. El principio de funcionamiento de una lámpara de cátodo hueco se describe en la Figura 9.20. En resumen, cuando pasa una corriente por la lámpara, parte del metal del cátodo se evapora por choques, al mismo tiempo que el metal se atomiza, y se excita de forma que emite luz en sus longitudes de onda características. El proceso de bombardeo produce un vapor de baja temperatura, de forma que la anchura de línea es estrecha, sin mucho ensanchamiento por el efecto Doppler. Para cada elemento se emplea una lámpara de cátodo hueco diferente, aunque algunas se fabrican para poder utilizarlas para dos o tres elementos diferentes.

La relación entre ancho espectral e intervalo lineal de cuantificación se desarrolla en la Sección 8.8 y Figura 8.18.

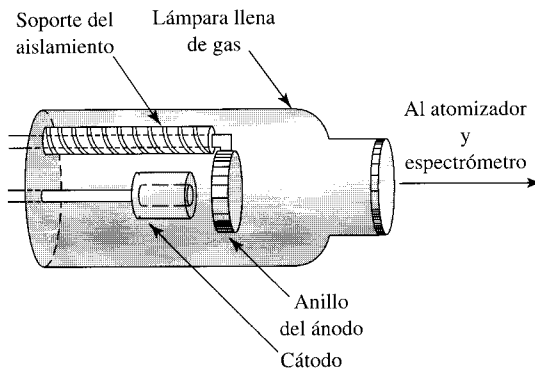


FIGURA 9.20 ▲
Diagrama de una lámpara de cátodo hueco.

Las lámparas de cátodo hueco son las fuentes de radiación de uso más corriente en absorción atómica, ya que producen líneas intensas de emisión estrecha de los elementos que componen la lámpara de cátodo. Se establece una descarga eléctrica en el gas de relleno de la lámpara (tal como el neón). Los átomos ionizados excitados del gas de relleno se aceleran entre el ánodo con forma de anillo y el cátodo, y chocan contra la superficie del cátodo con forma de copa. El impacto de alta energía hace que parte del material del cátodo se vaporice a baja temperatura; este proceso se denomina **bombardeo** o «**sputtering**». El vapor de baja temperatura se excita y emite una radiación constituida por las longitudes de onda características del elemento. La lámpara también emite las líneas características del gas de relleno. El mecanismo es el mismo que el de la emisión de descarga luminiscente utilizado en los análisis de metales.

Pueden encontrarse más detalles de los procesos de apoyo en la Figura 12.23.

9.9. Corrección del fondo

Hasta ahora hemos desarrollado dos formas generales para comprender la contribución del fondo en espectrometría. La primera forma es realizar un ensayo en blanco. La segunda, registrar la señal del fondo y del analito por separado, o por medio de un barrido o con un detector multicanal.

En espectrometría de emisión atómica, el fondo se corrige utilizando dos medidas: una, a una longitud de onda más baja; y la otra, a una longitud de onda más alta. La luz que se produce a ambos lados se mide y se resta. Esta técnica se muestra en la Figura 9.21. Los policromadores se fijan para detectar la radiación a la longitud de onda del análisis simultáneamente con las de las regiones de fondo, mejorando los límites de detección en un 200%. La razón es muy sencilla: cuando se miden la luz de la fuente y la de la señal residual simultáneamente, el rechazo por parte del módulo común de la interferencia de la fuente hace posible esta ventaja.

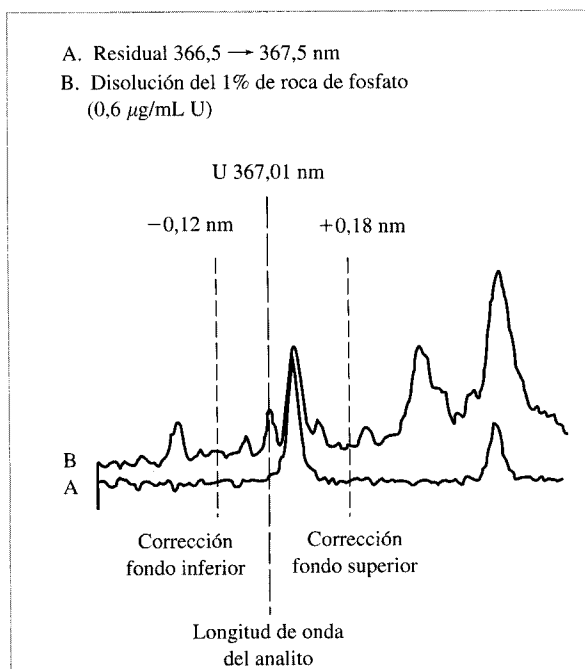
La compensación del fondo en absorción atómica es muy diferente, para medir la absorción del fondo se requiere una fuente de radiación con longitudes de onda fuera del espectro de absorción del elemento ensayado. Pero la anchura de línea de la fuente de cátodo hueco tiene que ser necesariamente más estrecha que el espectro de absorción. ¿Cómo podemos producir una radiación con una región de longitud de onda más amplia alrededor de la longitud de onda analizada?

Hay tres estrategias básicas para producir la radiación en una corrección del efecto fondo. Generalmente, el método más común es la utilización de una segunda fuente de luz que proporciona un espectro continuo, lo cual quiere decir que la fuente produce radiaciones a un nivel relativamente constante en un intervalo que incluye las longitudes de onda que hay que utilizar para la determinación de la absorción del fondo. El método se muestra en la Figura 9.22.

El segundo método utiliza una propiedad especial de las líneas espectrales cuando se encuentran en presencia de un campo magnético fuerte; esta propiedad se deno-

FIGURA 9.21 ►
Corrección del fondo en emisión.

La corrección del fondo puede llevarse a cabo midiendo la intensidad de la emisión a ambos lados del pico y restando el valor medio de la emisión de los analitos en la longitud de onda del pico. En este caso la emisión residual se mide a distancias desiguales de cada lado del pico de uranio para evitar los otros picos atómicos de la región espectral. En los instrumentos más modernos y eficientes, un policromador y un CCD permiten el registro simultáneo de todas las líneas atómicas y residuales necesarias. Con los datos almacenados, se corrigen los resultados a causa del fondo o de cualquier interferencia espectral que estuviera presente. [Figura cortesía de Perkin-Elmer Corp. Norwalk, CT.]



(a)

Fuente	Tipo de emisión	Sujeto a absorción por	
 Fuente primaria	 Línea de emisión Anchura rendija	 Elemento	 Fondo
 Fuente continua	 Continuo		 Fondo

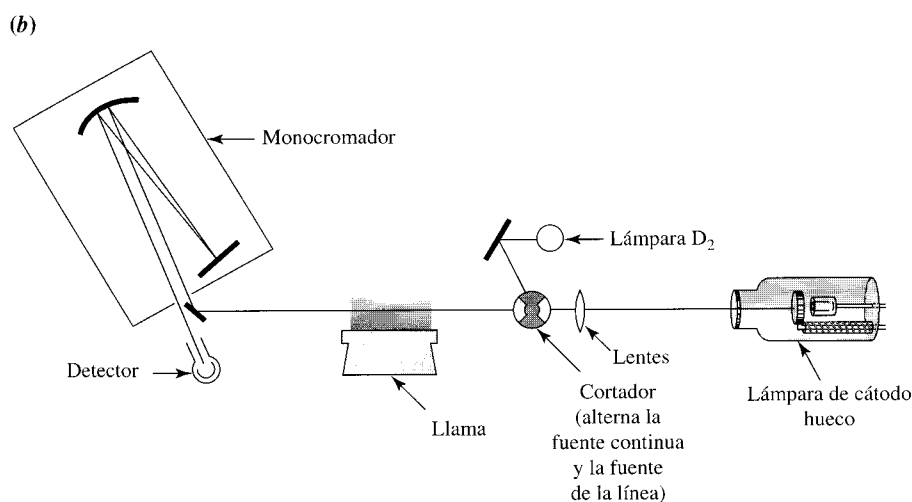


FIGURA 9.22 ▲
Corrección del fondo en absorción atómica con fuente continua.

(a) La banda espectral es más ancha que la de la fuente de líneas o el espectro de absorción. (El paso de banda se representa por la región entre dos líneas verticales.) El instrumento mide el resultado alternativamente: cuando se utiliza la fuente de líneas y cuando se utiliza la fuente continua (por ejemplo, una lámpara de deuterio). El resultado observado con la fuente de línea depende de la suma de las absorbancias de fondo, del analito y la luminiscencia y emisión residual. El resultado obtenido con la fuente continua depende prácticamente por completo del fondo. El efecto del analito en el resultado de la fuente continua es pequeño ya que la anchura de línea es relativamente estrecha. Según el tipo de instrumento que se utilice, estos dos resultados, o se restan, o se toma el cociente para la corrección del efecto de fondo. El diseño general del instrumento se muestra en (b).

mina **efecto Zeeman**. En presencia de dicho campo magnético, en lugar de obtener una línea estrecha, aparecen dos o más líneas separadas en longitudes de onda a ambos lados de la línea original. El efecto se muestra en la Figura 9.23. Tanto la fuente como el atomizador pueden estar sometidos al campo magnético. En el primer caso, el desdoblamiento de las líneas de emisión permite detectar el correspondiente fondo. En el segundo caso, lo que se mide es la diferencia de absorbancia con el analito en presencia del campo magnético y sin él. El cociente de la absorción a la longitud de onda analítica y la hallada en la zona del espectro de fondo produce la señal experimental corregida.

En el tercer método para corregir el fondo se aprovecha la autoabsorción de las fuentes de luz de cátodo hueco. Una muestra de los resultados asociados a esta técnica

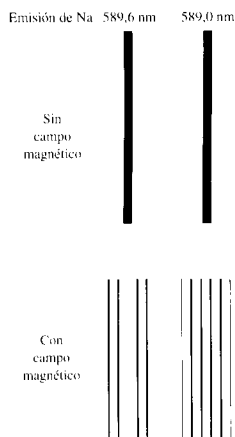


FIGURA 9.23 ▲
Corrección de fondo en absorción atómica utilizando el efecto Zeeman.

En presencia de un campo magnético las líneas espectrales se desdoblan longitudinalmente en dos o más líneas, como se muestra en las líneas de espectrales de sodio. Estas líneas aparecen fuera del espectro de absorción del analito. Las medidas del analito y del fondo se realizan alternativamente. Para utilizar el efecto Zeeman, el campo magnético puede aplicarse al atomizador de llama o la fuente de cátodo hueco. Debido a que las correcciones de longitudes de onda están adyacentes a la línea del analito se introduce un error menor debido al fondo estructurado que si se utiliza una fuente de corrección continua. [Ref.: Back, E., Lande A. 1925. *Zeeman-effect u. Multiplettstruktur*. Impreso con permiso de Springer-Verlag New York, Inc.]

puede verse en la Figura 9.24. Desde hace tiempo, se sabe que cuando aumenta la corriente de funcionamiento de la lámpara, la línea de emisión se ensancha y al mismo tiempo la intensidad a la longitud de onda nominal desciende debido a un aumento en la autoabsorción. El promedio de luz que aparece sobre la anchura de línea de baja corriente desciende un 80%. Como resultado, comparándolo con la emisión de línea estrecha en condiciones normales de funcionamiento, la radiación de la lámpara pulsada explora predominantemente la región del fondo. Esta característica de la lámpara hace posible la corrección del fondo. Cuando la lámpara funciona normalmente, el resultado es el de una señal proporcional a la longitud de onda del analito + la absorción de fondo. Cuando la intensidad de la lámpara se incrementa periódicamente, el resultado es proporcional a la absorción de fondo + una pequeña cantidad de analito. Una resta electrónica de la primera señal, sin corriente menos la última señal, de alta corriente, produce una señal proporcional sólo a la concentración del analito. Observemos que la sensibilidad para el analito desciende si la autoabsorción de la lámpara no alcanza el punto de autoinversión. Esta técnica de lámpara de pulsada se conoce con el nombre de método corrector **Smith-Hieftje**.

Cada una de las tres técnicas para la corrección del fondo tiene sus puntos fuertes y débiles. Para detalles sobre estos puntos pueden consultarse textos más avanzados o las instrucciones de los fabricantes para cada tipo de corrector de fondo.

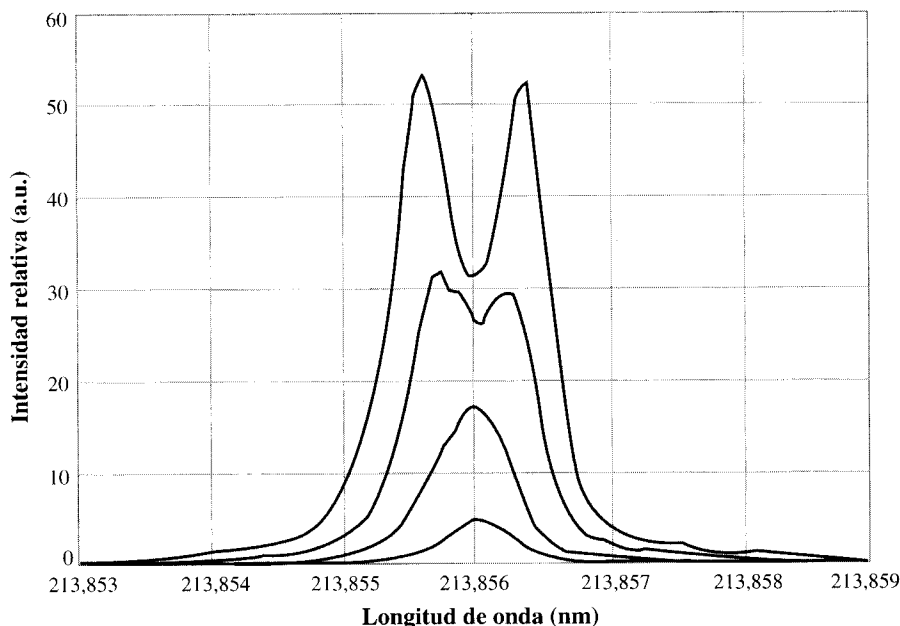


FIGURA 9.24 ▲
Corrección de fondo variando la anchura de línea de emisión de una lámpara de cátodo hueco.

La emisión procedente de una lámpara de cátodo hueco puede variarse de una emisión de línea estrecha a una línea de autoabsorción más ancha, como muestra la figura. La segunda emisión se obtiene proporcionando una corriente superior a la lámpara. Este espectro es la línea de emisión del Zn. Se obtiene una dispersión adecuada con el barrido monocromador Echelle de grado 27. La anchura de la rendija es de $5 \mu\text{m}$. El ensanchamiento instrumental es aproximadamente de $0,255 \text{ nm}$. [Ref.: Datos de P. L. Larkens a partir de Payling, R. Jones, Bengtson, A. *Optical Emission Spectrometry*. Copyright 1997. Impreso con permiso de John Wiley & Sons, Inc.]

9.10. Análisis total sin atomización

Las técnicas elementales totales, en contraste con las desarrolladas en las secciones anteriores, no requieren atomización para el análisis elemental. Este tipo de técnicas incluyen los rayos X, la fluorescencia de rayos X (XRF) y el análisis por activación de electrones (NAA). Estas técnicas son los temas de las Secciones 9.11 y 9.12 respectivamente. Ambos métodos son no destructivos, lo que los hace particularmente útiles para muestras que han de mantenerse intactas, como sucede con las obras de arte o las evidencias en la medicina forense. Para la XRF, las muestras más pequeñas dan como resultado una menor precisión, por lo que, en esos casos, se utilizan como una herramienta cualitativa.

9.11. Métodos de análisis con rayos X

La radiación en la región de los rayos X del espectro electromagnético surge de la transición de un nivel electrónico de energía a otro con un número cuántico n de 1, 2 ó 3 —o sea los que contienen los enlaces de electrones más energéticos de los átomos—. Los orbitales denominados K , L y M dan nombre a estos niveles cuánticos. Ya que cada elemento tiene una energía de transición característica, la longitud de onda de la radiación emitida se utiliza para identificar los elementos presentes y la intensidad de la emisión se utiliza para cuantificar la cantidad presente. El método de rayos X que se utiliza normalmente es el de **fluorescencia de rayos X**, una técnica de fluorescencia que se lleva a cabo con geometría de dispersión residual.

Debido a limitaciones experimentales inherentes, los elementos que deben cuantificarse por XRF son más pesados que el neón, o sea, del sodio para arriba. También, como casi todos los elementos producen rayos X en condiciones experimentales, el «contraste» no es especialmente alto. Por lo tanto, la fluorescencia de Rayos X está limitada a niveles de concentración superiores aproximadamente al 0,1%. Dos de los puntos fuertes de la técnica es que puede utilizarse para análisis de sólidos sin que haya que disolver la muestra y que además es una técnica multielemental.

Los límites de detección de la fluorescencia de rayos X (XRF) se muestran en el Apéndice III.

Nomenclatura de la radiación de rayos X

Los conceptos utilizados para describir la espectrometría de rayos X es básicamente la misma que para espectrometría óptica. Sin embargo, los instrumentos usados en espectrometría de rayos X varían en algunos aspectos importantes con respecto a las espectrometrías de energías inferiores.

La generación de rayos X que se utiliza en los análisis normalmente se realiza bombardeando una plancha de metal —como Mo o W— con electrones a potenciales de 30000 a 50000 voltios. El bombardeo se realiza en alto vacío. La energía cinética de los electrones, en primer lugar, acaba calentando la plancha de metal; sin embargo, una pequeña porción de la energía emitida se emite como radiación electromagnética en la región de rayos X. Los rayos X producidos por bombardeo de las partículas se denominan **rayos X primarios**.

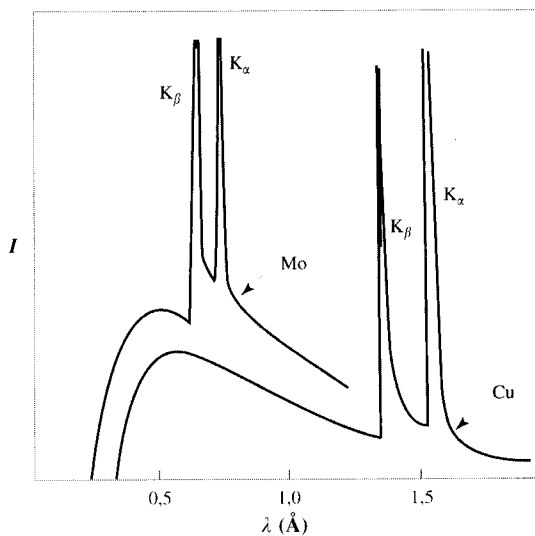
La segunda forma de generar rayos X es la de iluminar una sustancia con rayos X o con rayos- γ de un nivel de energía superior al que se necesita para el análisis. Comprobamos que esta relación,

$$h\nu_{\text{entrada}} > h\nu_{\text{salida}} \quad (9-3)$$

la hemos visto antes en fluorescencia UV-VIS. Los rayos X producidos al ser iluminados por fotones de rayos X se denominan **rayos X secundarios**.

FIGURA 9.25 ►
Espectro característico de emisión de rayos X de sustancias metálicas bombardeadas con electrones de alta energía.

Es espectro consiste en un fondo continuo debido a la radiación de Bremsstrahlung junto con los picos de intensidad en las posiciones de transición características para K_α y K_β . Condiciones: los electrones se aceleran a 50 kV para Mo y 35 kV para Cu. [Ref.: Impreso con permiso de Stout, G. H., Jenson, L. H. 1968. *X-ray Structure Determination*. New York: Macmillan.]



Ambos métodos de generación de rayos X se utilizan en la espectrometría de rayos X. La Figura 9.25 muestra la emisión de espectros en la región de los rayos X para muestras metálicas, una de cobre y otra de molibdeno. Las líneas intensas características en el espectro son las utilizadas para el análisis elemental. La emisión de fondo se denomina **bremsstrahlung**. Esta radiación está presente cuando los rayos X son generados por bombardeo con partículas cargadas, pero no cuando los rayos X surgen por irradiación de otros rayos X de energía superior.

Las líneas de alta definición se designan con la siguiente nomenclatura: las líneas de alta energía, si hay más de un conjunto, se denominan líneas K ; las siguientes de nivel superior, L ; las siguientes M , y así sucesivamente. Las líneas de alta definición que se muestran en la Figura 9.25 son líneas K . Especificando más, la línea de menor energía se denomina K_α y la de mayor energía es la línea K_β . El origen de las líneas K_α y K_β viene de las transiciones atómicas $L \rightarrow K$ y $M \rightarrow K$, respectivamente. Una buena identificación para una línea dada se realiza escribiendo en primer lugar la abreviación del átomo emisor y luego la línea; por ejemplo, Mo K_α .

Las longitudes de onda para las líneas de emisiones de rayos X siguen un modelo regular en función de la carga nuclear. Cuanto más alta sea la carga nuclear, mayores serán las energías de las transiciones respectivas. La apariencia de los espectros de emisión de rayos X de todos los elementos, desde el sodio hasta el uranio, puede calcularse y estos espectros calculados se recogen en la Figura 9.26. Un espectro de rayos X donde se identifican las líneas K , se muestra en la Figura 9.27. De las emisiones de la derecha hablaremos más adelante.

Absorción de rayos X

Al igual que en el resto de las zonas del espectro electromagnético, la absorción de radiación puede describirse por la ley de Beer. Sin embargo, en la espectrometría de rayos X la forma matemática que se utiliza es:

$$\frac{P}{P_0} = e^{-\mu x} \quad (9-4)$$

La ley de Beer viene determinada en la Ecuación 8-12.

En el exponente, x es el espesor de la muestra y es similar a la longitud del paso óptico b en la expresión de la ley de Beer, $A = \epsilon bc$. La cantidad μ se denomina **coeficiente lineal de absorción**.

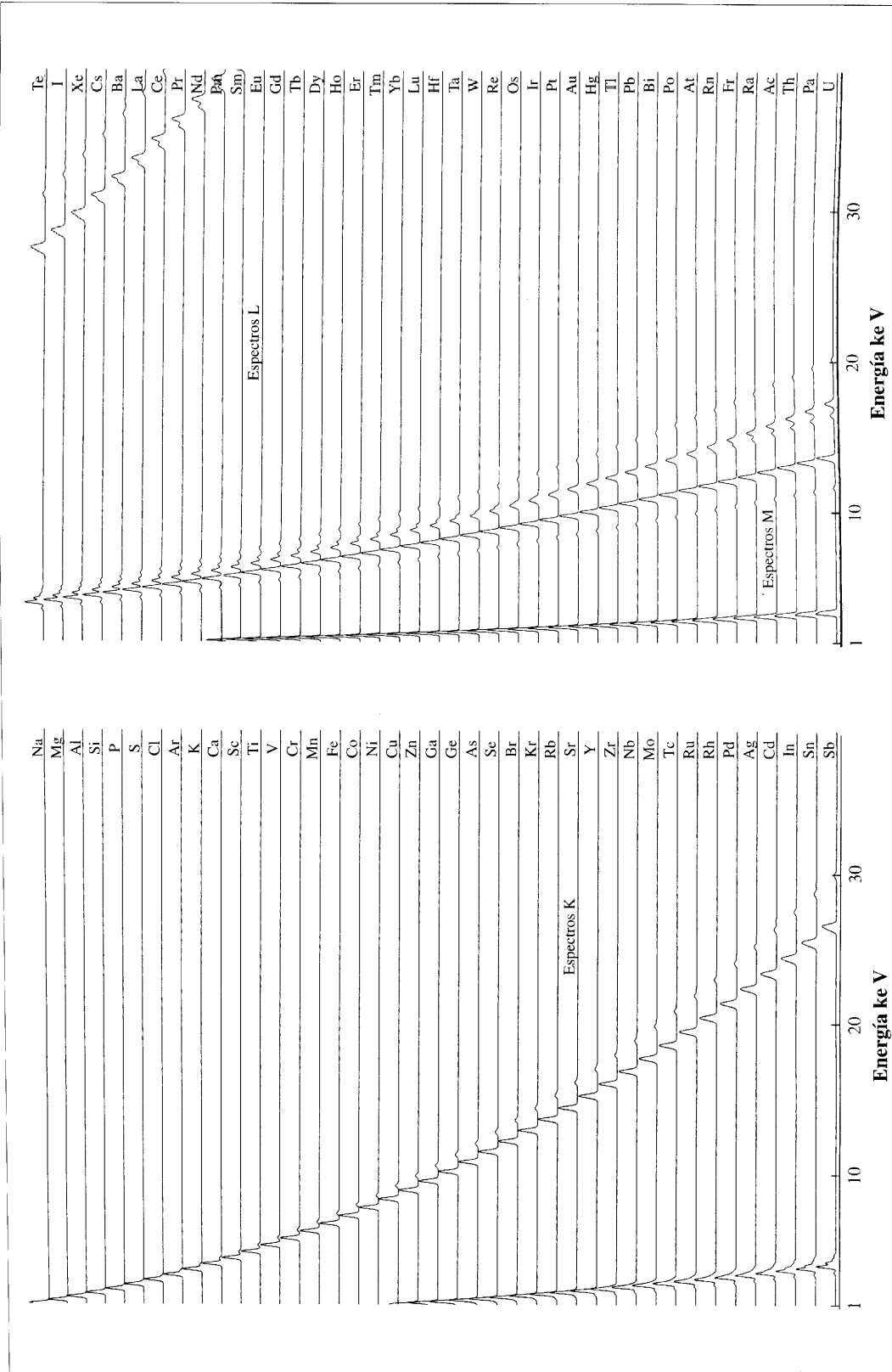


FIGURA 9.26 ▲

Las características de los espectros de rayos X presentan regularidades significativas con el número atómico.

Estos espectros se calculan con datos de niveles de energía determinados experimentalmente que asumen las interferencias y las anchuras de líneas. Para los análisis por fluorescencia de rayos X, la energía de los rayos X ha de ser mayor que la emisión secundaria de energías de rayos X. Por tanto, los elementos de número atómico superiores pueden cuantificarse utilizando las líneas L, mientras que las líneas K se utilizan para elementos más ligeros. [Russ, J.C. 1971. *Symposium Energy Division X-ray Analysis: X-ray and Electron Probe Analysis (1970: Toronto)*, ASTM Special Technical Publication 485, Philadelphia: ASTM. Copyright: ASTM. Impreso con permiso.]

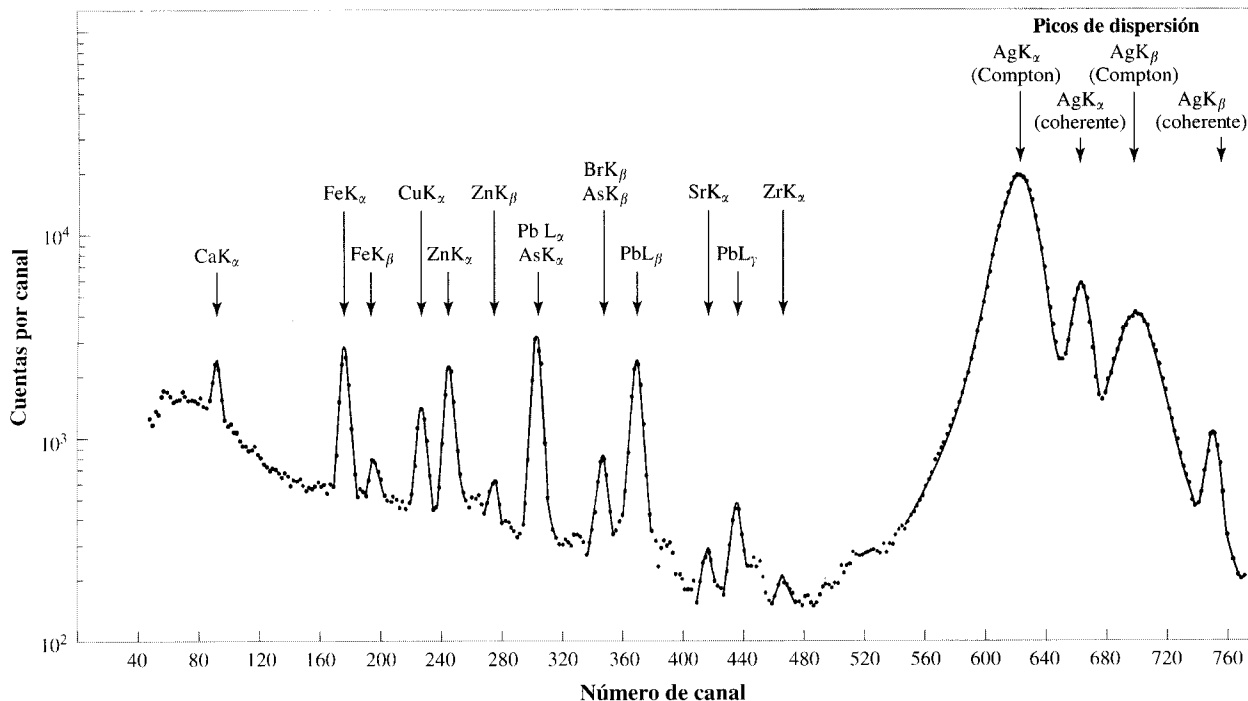


FIGURA 9.27 ▲
Espectro de rayos X de partículas de aire excitadas por la emisión K de plata en un instrumento dispersivo de energía.

La calidad de este espectro no está a nivel de la práctica habitual, pero muestra varios tipos de respuesta a los rayos X. Los picos de la derecha se deben a la radiación de excitación que ha sido dispersada por la muestra de forma elástica e inelástica. Los picos característicos de los elementos presentes están identificados. Estos picos se deben a las emisiones K de elementos más ligeros y a las emisiones L de elementos más pesados. Cada canal se representa por un punto de datos y por las emisiones L de los elementos más pesados. Cada canal queda representado por un punto de datos y la escala de los resultados es logarítmica. [Ref.: Impreso de Rhodes, J. R. 1977. *Spectroscopy*, Series II, Vol. II. 227-236. Copyright 1977 by International Scientific Communications, Inc.]

El valor de μ generalmente se da en unidades de mm^{-1} o en cm^{-1} (esto es, la inversa de milímetros o de centímetros y no en número de onda) y μ depende principalmente del tipo de elemento y la longitud de onda de la radiación. Estas dependencias se muestran en la Figura 9.28; un examen de los datos pone de manifiesto que la absorción de rayos X es mayor a medida que la longitud de onda de los rayos X disminuye. También podemos ver que para cada elemento y en longitudes de onda específicas cambia el coeficiente de absorción con saltos bruscos: estas irregularidades se denominan **discontinuidades de absorción**. Las discontinuidades de absorción se dan en las longitudes de onda donde el fotón de rayos X incidente es lo suficientemente energético como para sacar al electrón fuera de la órbita atómica. Las discontinuidades de absorción para cada elemento prácticamente coinciden con las longitudes de onda de las emisiones de rayos X.

Con el fin de obtener información cuantitativa a partir de la fluorescencia, la computadora del espectrómetro tiene que poder calcular la absorción de una muestra con cualquier composición arbitraria ya que la absorción de la radiación primaria y secundaria de rayos X depende de la composición. Las tablas de **coeficientes de absorción**

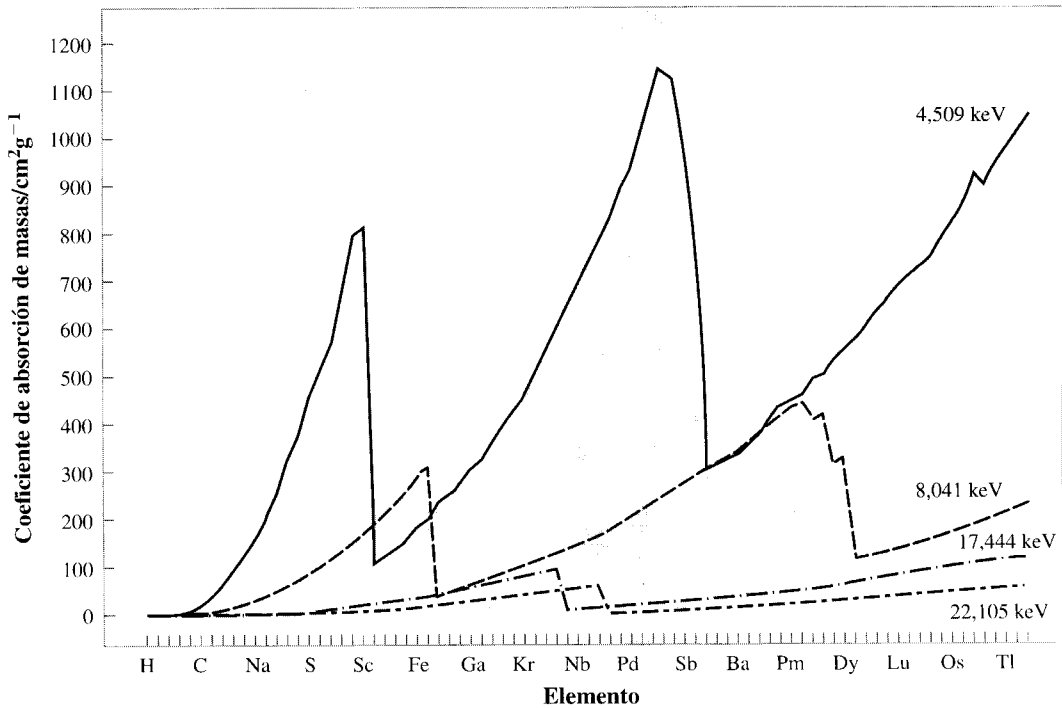


FIGURA 9.28 ▲
Coefficientes de absorción másico de los elementos y sus cambios a longitudes de onda representativas.

Las longitudes de onda en Å y (las energías en keV) son para Ag K_{α} 0,5608 (22,105); Mo K_{α} 0,71707 (17,444); Cu K_{α} 1,5418 (8,041); Ti K_{α} 2,7496 (4,509). La cuantificación tiene que tener en cuenta estos cambios bruscos en la absorción como función de la longitud de onda para todos los elementos presentes, tanto para la absorción primaria como para la absorción secundaria de rayos X.

másico, μ/ρ , se utilizan para corregir la absorción variable. El denominador ρ es la densidad y μ/ρ tiene unidades de cm^2g^{-1} . Resultando $\rho = \text{masa/unidad de volumen}$,

$$\mu_x = \frac{\mu}{\rho} \cdot \frac{m_{\text{tot}}}{Ax} = \frac{\mu}{\rho} \cdot \frac{m_{\text{tot}}}{A} \quad (9-5)$$

cuando m_{tot} es la masa total de la muestra de espesor x y con una superficie de A . El coeficiente de absorción másico tiene la ventaja de ser independiente del estado físico de la sustancia.

Utilizando los coeficientes de absorción másicos para cada elemento, puede aproximarse bastante bien el coeficiente de absorción másico de cualquier muestra. Para hacer el cálculo, ha de conocerse la **fracción de masas** de cada uno de los elementos componentes. La fracción de masas es análoga a la fracción molar, esto es:

$$g_i = \text{componente de fracción de masa } i = w_i / (w_a + w_b + w_c + \dots)$$

donde w_i son las masas de cada uno de los elementos de la muestra. Esto es:

$$\frac{\mu}{\rho} = \sum_i g_i \left(\frac{\mu}{\rho} \right)_i$$

Un programa de computadora iterativo puede calcular la cantidad efectiva de muestra analizada, ya que depende de los componentes de la muestra y tiene en cuenta el fondo para todos los elementos.

Coefficientes de absorción másicos

Como se puede ver en la Figura 9.28, los coeficientes de absorción másicos están en un intervalo de $100\text{--}1000\text{ cm}^2\text{g}^{-1}$. De forma que si la sustancia de la muestra tiene una densidad de 1 g cm^{-3} y μ/ρ es $100\text{ cm}^2\text{ g}^{-1}$, entonces aproximadamente:

- el 10% de la radiación se absorbe en un grosor de $1 \times 10^{-3}\text{ cm}$, aproximadamente el grosor de un pelo humano,
- el 90% de la radiación se absorbe después de pasar a través de $0,2\text{ mm}$ de la sustancia.

Recordar los efectos de la dispersión de la luz: Sección 8.14.

Debido a esta fuerte absorción, el tamaño de las partículas de la muestra puede afectar mucho a los resultados del ensayo. De hecho, uno de los factores que limitan la precisión y la exactitud en determinaciones cuantitativas por rayos X es la obtención de muestras con propiedades físicas repetitivas.

La causa de este problema se ilustra en la Figura 9.29; se muestran dos casos con geometrías representativas. La figura superior representa una muestra con una superficie totalmente lisa. La segunda figura representa una muestra de la misma sustancia con partículas esféricas pequeñas ($10\text{ }\mu\text{m}$). El haz de rayos X incidentes que ilumina la muestra llega desde el lado izquierdo de la figura, pero los átomos excitados en la muestra emiten rayos X secundarios en todas direcciones. Sólo el camino de esos fotones emitidos

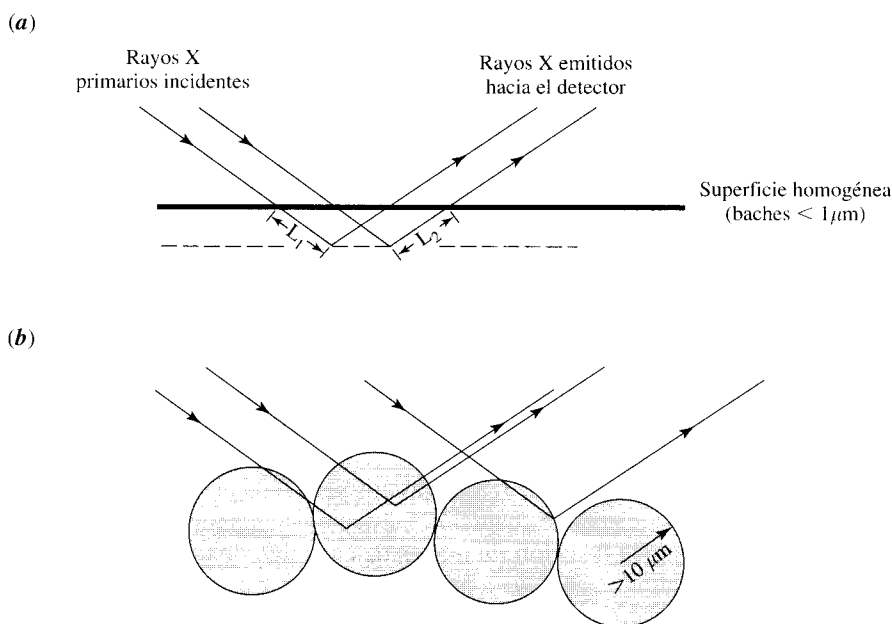


FIGURA 9.29 ▲
Fluorescencia de rayos X y tamaño de las partículas.

Es necesario conseguir partículas en los sólidos reproducibles para optimizar la exactitud y la precisión en un análisis de fluorescencia de rayos X. Cuando las características rugosas de la superficie son mayores que el coeficiente de absorción, entonces es probable que la atenuación del haz cambie con la estructura física. **(Arriba)** Para una superficie suave o lisa de polvo bien apelmazado, el haz de rayos X completo sigue el mismo paso óptico que la sustancia. **(Abajo)** Cuando la superficie es rugosa, o el polvo es demasiado basto, o no reproducible ni apelmazado por igual, hay una serie de rutas posibles tanto para los haces primarios como para los secundarios. Todos los haces primarios que se dibujan aquí pasan por el mismo paso óptico L_1 . Sin embargo, la longitud L_2 varía significativamente dependiendo de la geometría. Esta dependencia es la causa de la no reproducibilidad de los resultados.

que llegarían al detector se representa por medio de las flechas que salen de la muestra. ¿Qué factores, por tanto, determinan la iluminación que llega al detector de estos puntos representativos de la muestra? Estos factores son:

1. La potencia de la fuente de rayos X,
2. La absorción del haz incidente antes de llegar al punto representativo, y
3. La absorción de los rayos X emitidos antes de salir de la muestra.

La potencia P que llega al detector de las partes representativas de la muestra es:

$$\ln \frac{P}{P_0} = \mu_{\lambda_1} L_1 + \mu_{\lambda_2} L_2 \quad (9-6)$$

donde:

μ_{λ_1} es el coeficiente de absorción lineal a la longitud de onda de la luz incidente λ_1 ,
 μ_{λ_2} es el coeficiente de absorción lineal a la longitud de onda de la luz incidente λ_2 ,
 y
 L_1 y L_2 son la longitud del paso óptico respectivas, como se muestra en la Figura 9.29a.

Dado el alto coeficiente de absorción y según la escala de rugosidad o del tamaño de las partículas (variación de L_1 y L_2), hemos de concluir que las intensidades promedio de los rayos X secundarios dependen de la estructura física de la superficie de la muestra. El efecto sobre la precisión se hace especialmente acusado para la emisión de líneas a longitudes de onda más largas (por ejemplo, los picos de K para los elementos más ligeros), donde generalmente penetran hasta una distancia menor. Además, se produce una atenuación severa de los rayos X cuando la muestra contiene elementos adyacentes de la tabla periódica. Esta atenuación surge porque la discontinuidad de absorción de rayos X para un elemento dado cae entre la emisión K_α y K_β del elemento que tiene un número atómico superior en una unidad. Experimentalmente, si todos los demás factores permanecen constantes, comparando las intensidades de los rayos X secundarios de una superficie lisa con los de una superficie rugosa, éstos sufren una variación cuatro veces superior con respecto a la primera intensidad.

Sorprendentemente, en la fluorescencia de rayos X la intensidad medida en líneas específicas puede ser *mayor* de lo esperado. Los incrementos en la intensidad de línea pueden explicarse por la aparición de dos eventos de absorción/emisión del fotón incidente. Este proceso se muestra en la Figura 9.30.

Estas complicadas interferencias espectrales explican por qué es importante preparar cuidadosamente los estándares para obtener una alta precisión ($\pm 1\%$) en los análisis cuantitativos. Sin embargo, la preparación y el análisis de un alto número de estándares resulta poco eficiente. Por tanto, se han desarrollado métodos matemáticos para facilitar correcciones de la matriz, que permiten utilizar menor cantidad de estándares, o el empleo de radiación difusa no fluorescente para calibrar el coeficiente de absorción (véase explicación más abajo). Otra forma de eliminar las interferencias espectrales es disolver la muestra en un elemento ligero.

Se debe entender otro punto importante. Debido a las diferentes absorciones de rayos X en pequeñas distancias, las partes de la muestra más cercanas a la superficie contribuyen más a la emisión medida que las zonas situadas a mayor profundidad. Así, la calidad del análisis depende de la homogeneidad de la muestra: esto es, la superficie tiene que tener la misma composición que todo el conjunto de la muestra. (Un hecho

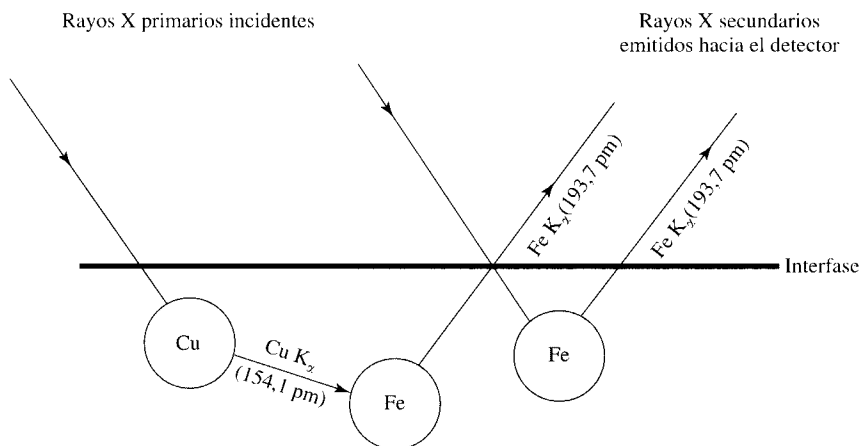


FIGURA 9.30 ▲
Intensidades anómalas en la fluorescencia de rayos X.

Una causa de intensidades anómalas es la interacción en dos etapas. Aquí se muestran dos formas distintas de generar rayos X secundarios de $Fe K_{\alpha}$. A la derecha está la producción directa normal, que proporciona buenas emisiones cuantitativas. A la izquierda, un rayo X primario provoca la emisión de un fotón $Cu K_{\alpha}$ a 154,1 pm. El fotón del $Cu K_{\alpha}$ provoca la emisión de menor energía del $Fe K_{\alpha}$. La emisión del hierro provocada por el cobre se añade a la emisión de la producción directa, y la emisión total aparece anormalmente grande.

comprobado en la espectrometría de rayos X.) La contaminación de la superficie en la preparación de la muestra puede propiciar errores analíticos significativos. Esto contrasta con métodos como la absorción atómica, donde la muestra se digiere y todo el material se muestrea por igual.

Picos espurios e intensidades de fluorescencia anómalas

En esta sección se describen algunas de las interferencias espectrales que se dan en la fluorescencia de rayos X. Estas interferencias son emisiones anómalas de rayos X que se dan conjuntamente con los rayos X secundarios generados por excitación con rayos X primarios. Algunos de estos picos de emisión surgen debido a **dispersiones** de los rayos X provocados por la muestra. Algunos ejemplos de picos de dispersión pueden verse en la parte derecha de la Figura 9.27. Los picos debidos a la dispersión pueden dividirse en dos partes. Las líneas del primer tipo se encuentran en las longitudes de onda de la radiación primaria: se denominan **dispersiones Rayleigh** o **dispersiones coherentes**. Las líneas del segundo tipo se encuentran en longitudes de onda más largas además de estar algo ensanchadas. El proceso que produce estas líneas se denomina **dispersiones Compton** o **dispersiones incoherentes**. Otros picos anómalos pueden surgir por emisiones de rayos X de elementos que están en el instrumento pero no son parte de la muestra. Por ejemplo, la emisión de rayos X proveniente de la pequeña cantidad (~0,9%) del argón existente en el aire que está entre la muestra y el detector. Este tipo de pico de interferencias puede eliminarse si el compartimiento de la muestra se rellena de helio.

La dispersión de Rayleigh se desarrolló en la Sección 8.6.

Fluorescencia de rayos X inducida por protón (PIXE)

La emisión característica de rayos X que puede usarse para cuantificar la composición de elementos de un material puede provocarse no sólo por rayos X, sino también por medio de partículas elementales. Las partículas estudiadas con mayor profundidad son

los protones acelerados. La técnica que las utiliza se denomina **fluorescencia de rayos X inducida por protón (PIXE)**. La metodología analítica y sus análisis son muy similares a la fluorescencia de rayos X más convencional, estudiada en este capítulo; sin embargo, los problemas con la contaminación superficial aumentan. En la Figura 5.5 se muestran los resultados de un análisis por PIXE.

9.12. Análisis por activación neutrónica

Cuando una muestra está inmersa en un flujo de neutrones de baja energía, los núcleos de la mayoría de los elementos presentes pueden capturar un neutrón, volverse en radiactivos y después ir desintegrándose con la emisión de la radiación γ . Como vemos en la Figura 9.31, las longitudes de onda son características de cada núcleo. Las energías γ están en el intervalo que va de los keV a los bajos MeV, los cuales son de 10^3 a 10^6 veces las energías de la luz visible. Los fotones γ a distintos niveles de energía se cuentan individualmente, y la suma de las cuentas en cada energía compone un espectro.

El proceso de captación de neutrones para formar un nucleido radiactivo se denomina **activación neutrónica**. Cuando a la activación le sigue una cuantificación de la emisión de radiación γ , el proceso total se denomina **análisis por activación neutrónica (NAA)** o **análisis de activación neutrónica instrumental (INAA)**. El análisis por activación es una técnica multielemental, con un intervalo lineal de análisis extraordinario. Por otro lado, el intervalo queda mejorado al poderse recoger submuestras mayores o menores, y datos espectrométricos en períodos de tiempo mayores o menores; de esta forma se consigue una buena relación S/R con las cuentas de la emisión de todos los elementos presentes. Esto es, se modifica el **tiempo de conteo**.

La Figura 9.32 muestra un protocolo NAA. No solamente se realiza el conteo en varios pasos, sino que la irradiación se hace en dos fases, una durante minutos y la otra durante horas. ¿Por qué se necesita este protocolo? Para responder a esta pregunta,

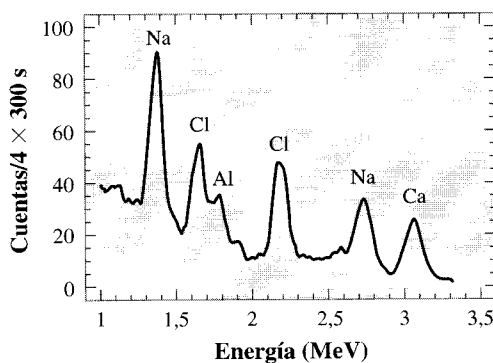
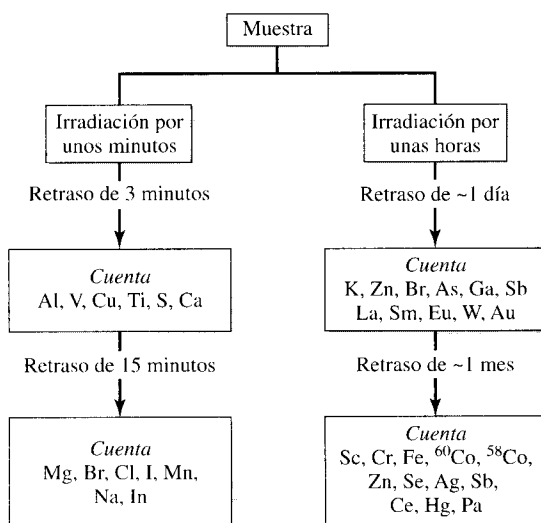


FIGURA 9.31 ▲
Espectro γ obtenido después de una activación neutrónica.

Para esta aplicación, el NAA se utiliza para medir el contenido de aluminio en el hueso de las manos de los pacientes. Los pacientes del estudio sufrían fallos renales, y en esos casos el aluminio tiende a almacenarse en los huesos. La mano del paciente se introdujo en un collarín lleno de agua y se irradió con una fuente de ^{252}Cf durante 300 segundos. Después de un retraso de 30 segundos para permitir que la mano se moviera del instrumento de irradiación a la cámara de conteo de radiación γ , la radiación se contó durante 300 segundos. Esta secuencia de conteo/irradiación se repitió tres veces más, y la suma de las cuatro secuencias produce el espectro que muestra la figura. El resultado de aluminio se da como una relación Al/Ca después de corregir las interferencias del fósforo. [Ref.: Wyatt, R. M., Ryde, S. J. S., Morgan, W. D., McNeil, E. A., Hainsworth, I. R., Williams, A. J. 1993. «The development of a technique to measure bone aluminium content using neutron activation analysis.». *Physiol. Meas.* 14. 327. Cortesía de Adam Hilger.]

debemos reconocer los amplios intervalos de la vida media de los elementos y su efecto en la actividad γ de cada una de ellas. Ejemplos de intervalos de vida media pueden verse en la Tabla 9.4. Nótese que la radiactividad del aluminio desciende, con una vida media de $2\frac{1}{2}$ minutos, mientras que la vida media del cobalto es de más de cinco años. Para comprender la actividad γ es muy útil la analogía de los dos tanques. Consideremos dos tanques de igual volumen, como se muestra en la Figura 9.33. El volumen fijo de líquido representa la cantidad fija de analito, con el tanque de abajo en forma de arranque y el de arriba de forma activada. La bomba conectada al tanque superior representa el proceso de activación neutrónica, y el líquido que discurre del grifo hasta el dispositivo medidor es la desintegración radiactiva que se está midiendo. El nivel de agua representa la cantidad de materia. El tanto por ciento de especies activadas no puede superar el 100% —un tanque lleno—. El caudal de salida depende del nivel del líquido, y por tanto representa una desintegración radiactiva de primer orden. Si la desintegración es rápida (esto es, si el drenaje y el flujo de salida son rápidos), la



◀ FIGURA 9.32
Esquema general para llevar a cabo un análisis por activación neutrónica para 33 elementos de una muestra.

El esquema da cuenta del amplio intervalo de decaimiento radiactivo de los elementos según su vida media. En el recuadro inferior derecho se muestra el esquema del ^{60}Co , que procede del ^{59}Co y del ^{58}Co , que procede del Ni. [Información procedente de Dams, R., Robbins, J. A., Rahn, K. A., Winchester, J. W. 1970. *Anal. Chem.* 42, 861- 867.]

Tabla 9.4. Datos nucleares de isótopos representativos^a

Isótopo	% Abundancia natural	n Producto de reacción	Vida media	Neutrones térmicos sección transversal/barns ^b
^{23}Na	100	^{24}Na	14,97 h	0,43
^{27}Al	100	^{28}Al	2,25 min	0,230
^{28}Si	92,2	^{28}Al	2,25 min	0,17
^{58}Fe	0,28	^{59}Fe	44,51 d	1,3
^{59}Co	100	^{60}Co	5,272 y	20,7
^{31}P	100	$^{28}\text{Al}^c$	2,25 min	0,16
^{109}Ag	48,1	^{110}Ag	250 d	91 ^d

a. Ni el carbono ni elementos más ligeros que el carbono pueden analizarse.

b. 1 barn = 10^{-24} cm² = 10^{-28} m².

c. La irradiación de ^{31}P por aceleración de neutrones produce el ^{28}Al . La reacción es $^{31}\text{P}(n, \alpha)^{28}\text{Al}$.

d. Activado también por un proceso de resonancia.

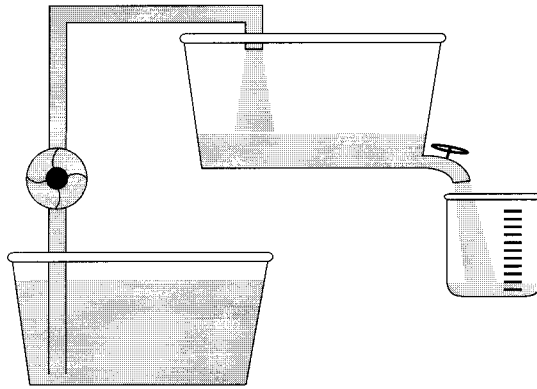


FIGURA 9.33 ►
Muestra de una analogía del análisis de activación neutrónica.

El tanque inferior representa el núcleo original, el tanque superior representa al núcleo activado y el tanque a la derecha la cuenta integrada del detector.

cantidad de agua del tanque activado tendrá un nivel bajo al llegar al equilibrio. Si el caudal de la bomba permanece igual y el drenaje es lento, el nivel en equilibrio será más elevado.

Ya que no pueden activarse más del 100% de los átomos, puede aplicarse la siguiente regla de aproximación: *Se consigue poca mejora en sensibilidad irradiando la muestra durante más de dos veces la vida media del núcleo radiactivo.* Por tanto, los núcleos que se transmutan a nucleidos de desintegración rápida se activan durante un corto período de tiempo y se cuentan con relativa rapidez después de una irradiación neutrónica, mientras que los núcleos que se transmutan a nucleidos de vida más larga se activan durante un período mayor y se cuentan después de **enfriados** durante un día a un mes. Esto puede verse en el esquema de la Figura 9.32. En el caso de reacciones nucleares, *enfriamiento* significa reducir la radiactividad, más que reducir la temperatura.

La expresión matemática relativa al tiempo de activación es sencilla. Se expone a continuación sin ser demostrada:

$$A_0 = \sigma \phi N (1 - e^{-\lambda t}) \quad (9-7)$$

donde:

A_0 es la actividad al final del tiempo de activación

σ es la superficie del corte transversal en m^2 (en esencia, una constante de velocidad)

ϕ es el flujo de neutrones ($\text{neutrones m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

N es el número de núcleos

t es el tiempo del flujo de neutrones

λ es la constante de desintegración (la vida media $\tau_{1/2} = 0,693/\lambda$)

Si se produjera una desintegración radiactiva, su actividad sería proporcional a la sección transversal, al flujo, al número de átomos (los términos antes de la función que está entre paréntesis) y al tiempo. Esto está representado en la analogía del caudal del líquido que va al tanque superior. La desintegración radiactiva se describe por el factor entre paréntesis, y está representado en el ejemplo como drenaje.

Como resultado, la actividad γ de cada elemento presente depende de la masa del elemento en la muestra y de su respectiva vida media. Como hemos visto, la existencia de una amplia gama de vidas medias es la razón por la cual se requieren diferentes contadores de tiempo para obtener un análisis de NAA que permita su aplicación a un amplio intervalo de elementos.

EJEMPLO 9.2

¿Durante cuánto tiempo ha de estar una muestra de aluminio sometida a un flujo de neutrones de $10^{17} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para alcanzar el 80% de su activación?

Solución:

La máxima activación posible para el flujo neutrónico específico ocurre cuando t es grande. En ese caso, $e^{-\lambda t}$ se aproxima a cero, y el término entre paréntesis de la Ecuación 9-3 se aproxima a la unidad. Por tanto:

$$A_0 = \sigma \phi N; \quad \text{limit } t \rightarrow \infty$$

No necesitamos calcular el valor absoluto de A_0 , ya que los términos $-\sigma$, ϕ y N son fijos para una muestra específica. Para encontrar el 80% del máximo necesitamos hallar el punto donde $(1 - e^{-\lambda t}) = 0,80$. En la Tabla 9.4 comprobamos que la vida media del Al es de 2,25 min; por tanto, el valor de $\lambda = 0,639/2,5 \text{ min} = 0,308 \text{ min}^{-1}$. Entonces:

$$0,80 = (1 - e^{-0,308 t})$$

y

$$t = \frac{\ln 0,2}{0,308} = 5,22 \text{ min}$$

La naturaleza multielemental de la espectrometría de γ , como se muestra en el espectro de la Figura 9.31, indica que con NAA existen problemas similares a los estudiados en la espectrometría de emisión. Así, por ejemplo, las líneas de emisión γ pueden superponerse, produciendo una interferencia espectral así como líneas procedentes de la matriz y un amplio fondo por debajo que puede ser restado. Por otro lado, a concentraciones superiores ocurre un fenómeno denominado **autoescudo**, que es algo parecido a la autoabsorción en la espectrometría de emisión atómica. Sin embargo, hay una diferencia significativa ya que con el análisis por activación pueden eliminarse muchas interferencias debido a las diferentes vidas medias. Así, muchas rocas contienen predominantemente óxidos de aluminio. Pero la vida media del aluminio es de sólo unos $2\frac{1}{2}$ minutos, por lo que su contribución al fondo puede eliminarse con una simple espera de una media hora antes de medir el espectro. La emisión del aluminio se reduce alrededor de once vidas medias o aproximadamente hasta $1/2000$ de la original.

Los efectos del fondo para muestras biológicas pueden ser grandes, pero hay cuatro elementos no activos que están en todos lados —C, H, N y O— y que no contribuyen a las interferencias de la matriz. Por otro lado, el Na y el Cl pueden generar emisiones de fondo y, por consiguiente, hay que actuar con cuidado con las muestras biológicas.

Las principales desventajas de usar NAA son la necesidad de una fuente de neutrones y el hecho de que no todos los núcleos producidos tienen vidas en un intervalo que pueda contarse con precisión. Pero las ventajas son numerosas. Casi todos los elementos pueden cuantificarse con esta técnica. Los límites de detección son comparables a los obtenidos con ICP-AES, e ICP-MS, como puede verse en el Apéndice III. Sin embargo, en contraste con otros métodos atómicos, el NAA puede llevarse a cabo en muestras sólidas directamente, sin ninguna preparación. De hecho, la forma de la muestra (sólido, polvo, lodo o incluso gas) no es crítica, pero con el fin de preparar los datos para la cuantificación en comparación con los estándares, el tamaño y las formas de la muestras y estándares deberían ser los mismos para tener en cuenta la absorción y la dispersión dentro de la muestra.

En los análisis de trazas por INAA es importante el tipo de matriz, ya que las matrices que son activas producen muchos efectos de fondo y a menudo hay que retirarlos por digestión de la muestra radiactiva realizando una o dos separaciones químicas. Sin embargo, si hay que realizar una digestión se pueden escoger otros métodos de medida que proporcio-

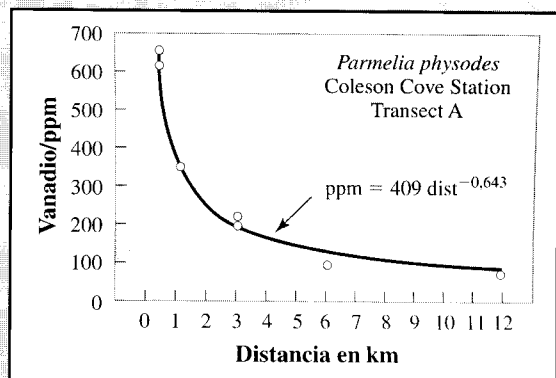


CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 9-2

Midiendo metal en el musgo

El vanadio es el metal mayoritario en los crudos de petróleo, llegando a niveles de hasta 1400 ppm, aunque más comúnmente éstos están en un intervalo de 10-100 ppm. Durante el refinado del crudo la mayoría del vanadio se queda en el fraccionado más pesado del crudo que, entre otras aplicaciones industriales, se utiliza como combustible en las plantas de generación de energía. Durante la combustión, el vanadio se transforma en sus óxidos, y la mayor parte permanece en las cenizas en suspensión. Aunque las partículas se retiran de los gases de combustión, parte del vanadio escapa a las zonas colindantes por las chimeneas de la central. En el caso que nos ocupa, se analizaron varias plantas, que crecen en la zona de las centrales de energía que operan con combustibles fósiles, para determinar su contenido en vanadio utilizando el análisis por activación neutrónica. Entre las plantas analizadas había hojas de abeto blanco, abeto balsámico, arce rojo así como tres tipos de líquenes diferentes que crecen en la corteza de los árboles. En los líquenes se encontró un contenido de vanadio (peso/peso seco) cien veces superior al de los árboles. Consecuentemente el líquen proporciona mucha mayor sensibilidad para los análisis ya que es capaz de concentrar gran cantidad de metales pesados.

Se tomaron muestras de líquenes a diferentes distancias y direcciones de las centrales térmicas. Este muestreo permitía analizar el efecto de los vientos predominantes en la contaminación. Muestras de 0,2-0,4 g de líquenes se secaron a 90 °C y se sellaron en viales de irradiación. Después de irradiarlos con neutrones térmicos y demorando un minuto para per-



mitir un enfriamiento radiactivo, la energía γ del vanadio de 1434 keV se contó durante cinco minutos. (La radiación proviene de la desintegración del ^{52}V , que tiene una vida media de 3,75 minutos.) Los resultados para un tipo de líquen a lo largo de una línea que va hacia el noreste desde la central térmica de Cove Station en New Brunswick, Canadá, se muestran en la figura, junto con la curva de mejor aproximación. Dada la velocidad de caída de las concentraciones, los autores del trabajo sugirieron que el vanadio se transportaba desde la chimenea de 183 m de altura en partículas de un diámetro mayor de 2 μm . Las partículas de menor diámetro es muy improbable que cayesen en los alrededores.

[Ref.: JUICHANG, R., FREEDMAN, B., COLES, C., ZWICKER, B., HOLZBECKER, J., CHAIT, A. 1995. «Vanadium Contamination of Lichens and Tree Foliage in the Vicinity of Three Oil-Fired Power Plants in Eastern Canada.» *J. Air & Waste Management Assoc.* 45, 461-464.] ■

nan límites de detección similares y algunos de ellos permiten la detección multielemental. La diferencia principal es que la INAA no requiere reactivos de alta pureza, ya que después de la activación los analitos son emisores γ , y los elementos de los reactivos no son radiactivos.

9.13. ¿Plasma u horno? ¿Absorción o emisión? Emisiones ópticas, rayos X, rayos γ , ¿cuál usar?

En general, las distintas técnicas espectroscópicas atómicas pueden usarse para cuantificar la mayor parte de los elementos, para medir concentraciones de analitos desde 100% hasta ppb, y para medir el contenido de elementos en muestras de tamaño micro y macro. Sin

embargo, no hay un método espectrométrico que sea el mejor para todas las determinaciones. ¿Cómo escoger una de las muchas técnicas espectrométricas que se pueden utilizar?

Para analizar las muestras macro, sólidas o líquidas, para metales mayoritarios o minoritarios, casi todos los métodos espectrométricos pueden utilizarse eficazmente después de haber programado inteligentemente la preparación de las muestras. Para los no metales, lo más probable es que los métodos de espectrometría de masas descritos en el Capítulo 12 sean los más efectivos.

Antes de seleccionar un método de análisis, es necesario hacer una serie de preguntas:

1. ¿La muestra es un sólido, un líquido o un gas? Si se trata de un gas se empleará una célula de medida.
2. ¿De qué tamaño es la muestra (micro o macro)?
3. ¿Queremos determinar muchos o solo uno de los elementos existentes?
4. Los elementos en los que estamos interesados ¿están presentes a nivel mayoritario, minoritario, de traza o de ultratrazo?
5. ¿La sensibilidad del método espectrométrico es alta o baja en relación con los componentes de la matriz y la longitud de onda analítica del (de los) componente(s) de interés?
6. ¿Puede emplearse un método destructivo, o el análisis debe ser no destructivo?
7. ¿Para cuándo se necesitan los resultados?
8. ¿Qué niveles de precisión y exactitud se necesitan?

Las respuestas a estas preguntas determinarán el tipo de muestra, el nivel de analito existente y los tipos de interferencias esperadas. Luego se combinan las respuestas con las líneas directrices siguientes:

- a) Los análisis de un solo elemento en una muestra líquida son más precisos con la absorción atómica.
- b) En emisión, los análisis multielementales se llevan a cabo mucho más rápidamente con la detección multicanal. Los métodos de emisión empleados incluyen:
 1. Emisión óptica.
 2. Fluorescencia de rayos X.
 3. Activación neutrónica (pero puede ser lenta).
- c) Si los elementos de interés están a niveles de traza o menores, una técnica espectrométrica puede ser más sensible y precisa. Una manera sencilla de juzgarlo es mirando la tabla de límites de detección. El límite de detección más bajo se corresponderá con el método de análisis más efectivo.
- d) Se pueden prever las interferencias de la matriz comparando los límites de detección de los interferentes con los límites que se espera haya del (o los) analito(s). Una relación grande (la matriz tiene límites de detección mucho más altos) indica que se espera una interferencia menor en la técnica de análisis de que se trate.
- e) Normalmente, las muestras líquidas dan resultados más exactos que las sólidas. Esto se cumple suponiendo que el tratamiento previo de la muestra no introduzca ninguna interferencia significativa. Las razones por las que los líquidos suelen ser mejores son: que las interferencias de fondo de las muestras de sólido son generalmente mayores que las de los líquidos, que la cantidad de líquido puede determinarse con mayor precisión, y que la materia es homogénea en los líquidos.

En el Apéndice III se recogen los límites de detección de muchas de las técnicas espectroscópicas.

- f) Los métodos no destructivos incluyen fluorescencia de rayos X, que puede ser aplicada a un objeto intacto, y el análisis por activación neutrónica, porque requiere muy poca muestra. Obsérvese que el ICP-OES y el ICP-MS puede aplicarse a pequeñas muestras con equipo especializado.
- g) El tiempo requerido para obtener resultados con los métodos destructivos está ahora generalmente limitado por la preparación de muestra. En los métodos no destructivos, la activación neutrónica es más lenta que la fluorescencia de rayos X.

9.14. Técnicas de análisis de superficie

Las propiedades de las superficies de las muestras son importantísimas para controlar, entre otros procesos, las velocidades de reacción de los catalizadores, las velocidades y formas de corrosión, la conducción eléctrica entre materiales conductores o semiconductores, la resistencia a la tensión y la adherencia entre materiales. Los problemas que implican estos fenómenos están dando cada vez más poder a los métodos analíticos de superficie.

En el análisis de superficie hay dos extremos difíciles e importantes. Los dos derivan del espesor de la zona muestreada, la «superficie» de la materia que se analiza. En primer lugar, la cantidad de la muestra es siempre muy pequeña; no hay mucho material en una capa de sólo unos pocos átomos de grosor. De ahí que las técnicas estén englobadas dentro de los métodos microanalíticos. En segundo lugar, los métodos de preparación de la muestra son muy importantes para obtener un análisis adecuado. Por ejemplo, si una fina capa de aceite, de sólo 10 nm de grosor, cubre una muestra de metal, el análisis de superficie puede mostrar sólo componentes orgánicos de la muestra. Este resultado es bastante ridículo si lo que se está analizando es una superficie de metal. Pero estos resultados ayudan a comprender un gran problema de los «primitivos» análisis de superficie, no hace muchos años. El aceite de la bomba de vacío se condensaba en la superficie de la muestra, echando a perder los análisis. En la Figura 9.34 se muestra un ejemplo de los efectos de la contaminación superficial. A este nivel, lo único que interesa observar es que los picos son característicos de las especies atómicas que hay en la superficie de la muestra. La contaminación debe quedar clara por los resultados. En consecuencia, los análisis de superficie de hoy en día se realizan normalmente a gran vacío, de 10^{-9} torr o menos. Esto se puede comparar a una simple bomba de vacío, que puede alcanzar los 10^{-3} torr, o a un aspirador de una espita de agua, que alcanza alrededor de 14 torr.

Pero, ¿cuánto espesor debe tener la superficie? La respuesta a esta pregunta no es una pura y simple medición de distancias. Sin embargo, se puede dar una definición aproximada: *del orden de* cinco veces el diámetro atómico o molecular de la materia. Esto significa que para un sólido atómico, como el hierro o la silicona, la superficie será de unos $10 \text{ \AA} = 1 \text{ nm}$ de grosor. Para un sólido molecular, como un polímero, la superficie será unas cinco veces el diámetro del monómero (de 50 a 100 \AA). Por debajo de ese nivel, la materia sólida posee propiedades y composición de masa.

Para medir las propiedades de sólo una capa superficial, se excita la emisión espectral con partículas, como electrones e iones. Éstas solo pueden penetrar en el sólido a poca profundidad (menos de unos pocos nanómetros). El nombre de la distancia real varía. Dos nombres son: **profundidad de penetración** y **camino libre principal**. En la Tabla 9.5 se muestra la profundidad de penetración de varios tipos distintos de radiación. Observamos que, cuando se emplea un electrón, la profundidad de penetración cambia poco dentro del intervalo de energía que va de los 2 a los 1000 eV. Por otro lado, cuan-

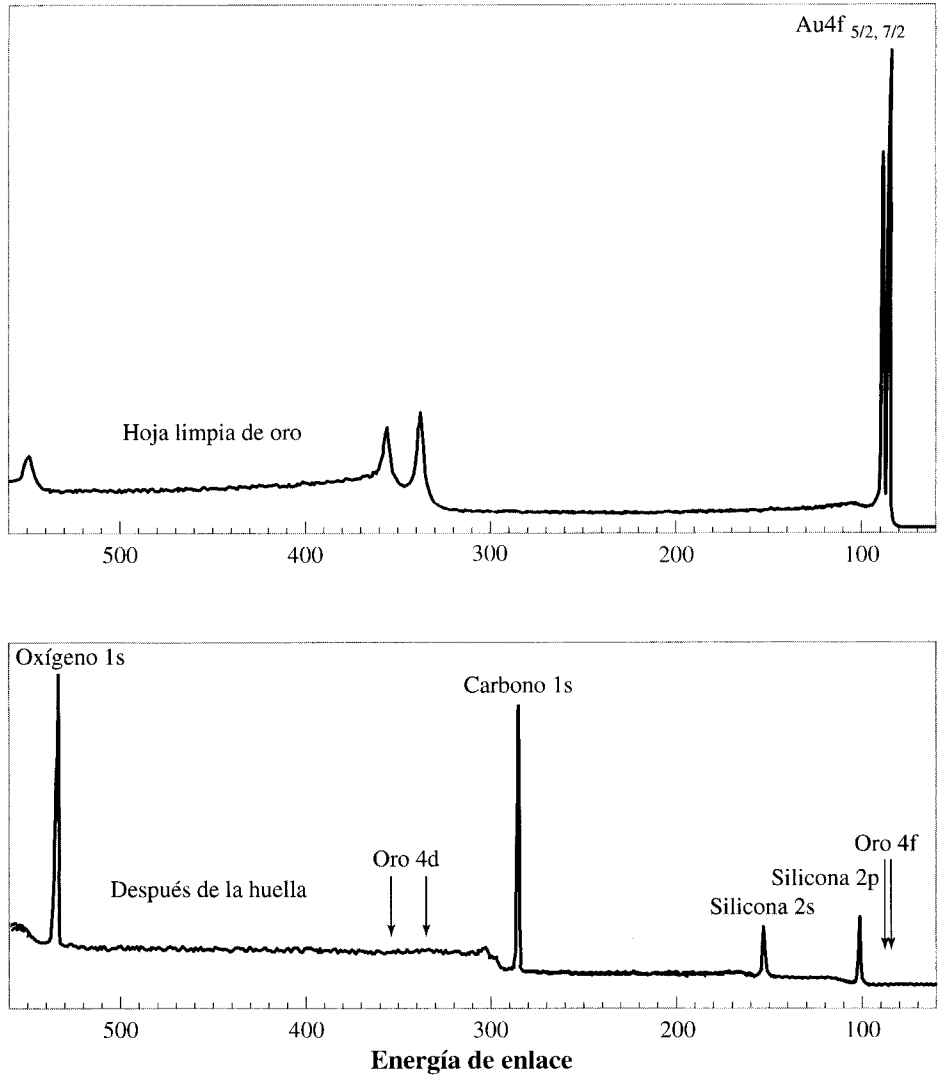


FIGURA 9.34 ▲

Ejemplo de la capacidad y dificultades de un análisis de superficie.

Éstos son espectros fotoelectrónicos de una superficie de oro en los que se ha representado la corriente fotoelectrónica *versus* energía de enlace electrónico. **(Arriba)** El espectro de una superficie de oro limpia. Los picos son característicos del oro. Los dos electrones de los picos del medio surgen de los orbitales *4d*, y los dos picos de la derecha se originan por los orbitales *4f* del oro. **(Abajo)** Espectro de una superficie de oro con la huella dactilar de una persona sobre ella. Los fotoelectrones surgen de la materia que hay en la huella, mientras desaparecen las líneas del oro. La capa superficial es la única que produce el espectro.

Condiciones del experimento: radiación monocromática de línea de excitación Al K_{α} . [Ref.: Siegbahn, K. 1982. *Science*. 2,113.]

do una partícula o fotón entra (absorción) o abandona (emisión) el sólido, el camino medio libre permanece igual. De esta forma, si un electrón choca con un sólido, sólo puede penetrar unos pocos nanómetros para excitar un átomo. Y, si un electrón se genera dentro de un sólido, sólo puede escapar cuando lo hace a unos pocos nanómetros de la superficie. Esto se muestra en el esquema de la Figura 9.35.

Tabla 9.5. Profundidades de muestreo aproximadas de radiación (fotones) y partículas*

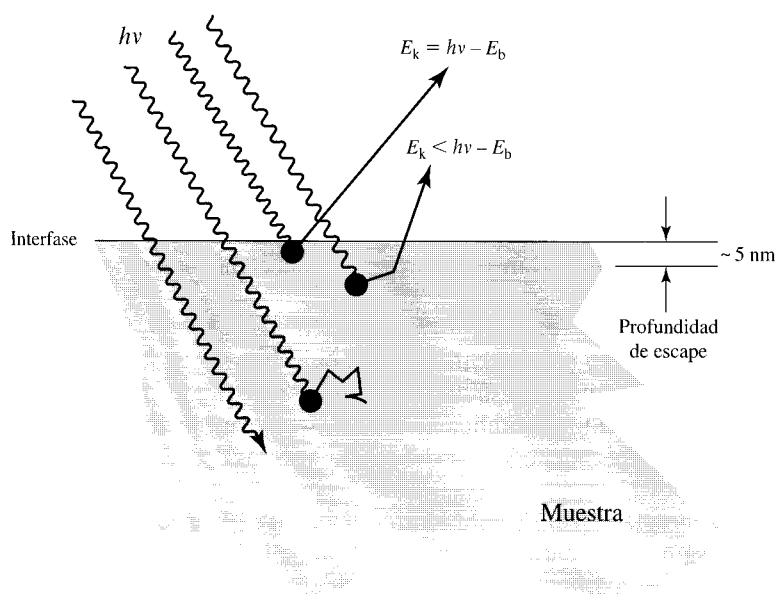
Radiación	Energía/eV	Profundidad de penetración/nm
Infrarroja	0,5	100
UV-VIS	2-3	20
Rayos X	1000	1000
Electrón	2	0,5
Electrón	1000	2
Ion	1000	2
Ion (protón)	10^7	10000

* Sólo aproximadas. Varían según la composición de la muestra y la energía de las partículas de manera desigual, pero generalmente dependen de la inversa de la carga de Z. Cuanto más alta sea la carga, más pequeña será la profundidad de la muestra para los fotones y partículas. [Refs.: Hercules, D. M. 1978. *Anal Chem.* 50, 734A-742A. Eastman, D. E., Nathan, M. I. 1975. *Physics Today*. 28(4), 44-51. Carlson, T. A. 1972. *Physics Today*. 25(1), 30-39. Park, R. L. 1976. *Experimental Methods in Catalytic Research*. Vol. 3, R. B. Anderson y P. T. Dawson, Eds, New York: Academic Press. Capítulo 1.]

Teniendo esto *in mente*, y con la información de la Tabla 9.5, se puede hacer la siguiente aseveración general:

Para limitar las medidas espectrométricas a las capas superficiales sólo se necesita, bien una partícula cargada que bombardee, o bien una partícula cargada emitida por la muestra.

Las técnicas que se estudian a continuación son espectrometrías que implican bombardeo con partículas o emisión de partículas desde las superficies. Los métodos se diferencian por las identidades de las partículas que se usan y las técnicas de detección.



◀ FIGURA 9.35
Profundidad de escape en el análisis de superficie.

La radiación (líneas ondulantes) puede penetrar en los sólidos, en general, a mucha mayor profundidad que las partículas (líneas rectas), como los electrones. Por consiguiente, las partículas determinan la profundidad de la materia muestreada. En la Tabla 9.5 se recogen las profundidades de penetración y escape de las partículas elementales. El valor de E_k no tiene ninguna función de trabajo o energía de carga. La E_k se hace menor cuando un electrón no escapa directamente.

Tabla 9.6. Otros métodos empleados en análisis cuantitativo de superficie

1. Espectrometría de masas: bombardeo rápido del átomo, desorción por láser y espectrometría de masas de ion secundario.
2. Espectrometría ultravioleta, visible e infrarroja, medidas todas en reflectancia.
3. Espectrometría Raman de sólidos.
4. Espectrometría Mossbauer en el modo de emisión. Una capa que tenga un grosor medio de unos pocos átomos del ion radiactivo originario se puede utilizar para investigar la composición química de la superficie de los átomos. Los espectros se miden en relación con la emisión.
5. La espectrometría de RPE puede emplearse para detectar radicales libres en las superficies.
6. Los métodos electroquímicos pueden utilizarse para investigar la composición química y estructura de la superficie. (Estos métodos son formas sofisticadas de las técnicas que se presentaron en el Capítulo 7.)
7. Métodos de superficie de difracción por rayos X.

Los métodos de análisis de superficie estudiados en otros capítulos incluyen la espectrometría infrarroja (Capítulo 10) y la espectrometría de masa (Capítulo 12).

En este capítulo no se incluyen todos los métodos de superficie. En la Tabla 9.6 se da una lista de los métodos de análisis de superficie o de caracterización.

9.15. Espectroscopia de fotoelectrón y de Auger

Electrones emitidos por las muestras

Los átomos y moléculas pueden emitir electrones al irradiarlos con luz de energía suficientemente alta. Esto es la **fotoemisión**, y los electrones emitidos se llaman **fotoclectrones**. Cada electrón emitido posee una energía cinética relacionada con la longitud de onda de la luz incidente (no con la intensidad) y con la **energía de enlace** del electrón. Un aumento en la intensidad de la irradiación sólo aumenta el número de electrones emitidos, no sus energías cinéticas, E_k .

En la Sección 9E encontramos una descripción breve del funcionamiento de los espectrómetros de electrón.

Escribamos el efecto cuantitativamente. La energía de un fotón se define como $E = h\nu$. Comencemos por una descripción simplificada. La energía que se necesita para separar al electrón del átomo, pero *sin que quede energía cinética*, es la energía de enlace del fotoelectrón E_b . La energía cinética de un electrón disminuye según aumenta su energía de enlace, y esto se comprueba experimentalmente. Si éstos fueran los únicos factores que hacen que una muestra produzca un electrón, podríamos escribir:

$$E = h\nu = E_b + E_k \quad (9-8a)$$

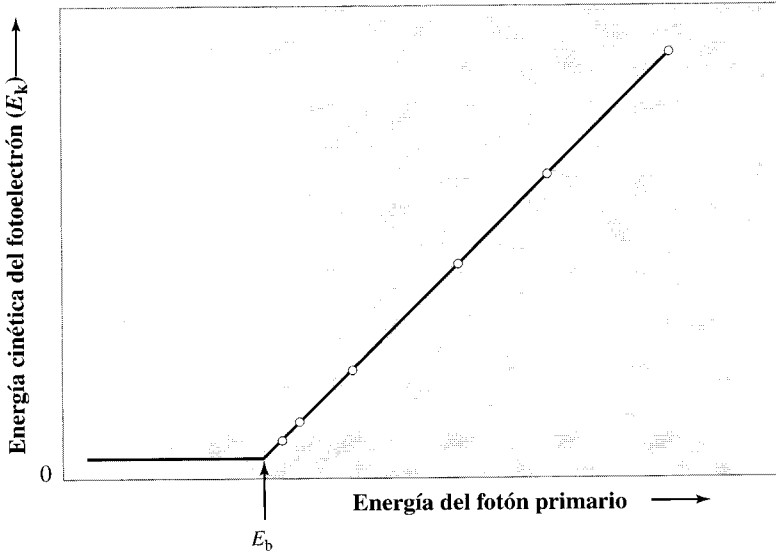
Como la energía cinética es la cantidad medida, arreglemos la ecuación como sigue:

$$E_k = h\nu - E_b \quad (9-8b)$$

Este comportamiento simplificado se muestra en la Figura 9.36.

Sin embargo, la Ecuación 9-8 no explica el fenómeno en su totalidad cuando se compara con las mediciones experimentales. Se deben añadir otros dos términos de energía a esta ecuación descriptiva.

En primer lugar, la energía requerida para ionizar el átomo en la matriz sólida E_b no es la misma que la que se necesita para separar al electrón de la capa más alta del sólido, en contacto con el vacío. La diferencia de energía se denomina **función de trabajo**, abreviado E_w . La energía de trabajo es la mínima pérdida posible de energía que necesi-



◀ FIGURA 9.36
El efecto fotoeléctrico.

Gráfico de los resultados simplificados de un experimento para determinar la energía de enlace de un electrón. La línea representa la energía cinética de los electrones emitidos, en función de la energía de la radiación que choca con la superficie limpia de un material puro. La Ecuación 9-8b define los resultados.

ta un electrón para escapar de una superficie (suponiendo que la superficie no tenga todavía carga eléctrica). Por eso, aunque los electrones no estuvieran «enlazados» con los átomos del sólido, todavía se necesitaría algo de energía para separar a los electrones de la materia. Así, la energía cinética de los electrones queda mejor definida como:

$$E_k = h\nu - E_b - E_w \quad (9-9)$$

El valor de la función del trabajo depende de la identidad de la muestra. No se puede calcular para las muestras analíticas. Sin embargo, su contribución se puede explicar usando un pico de referencia de un estándar interno. El pico del carbono se utiliza frecuentemente como referencia.

En segundo lugar, la Ecuación 9-9 sólo define la energía cinética de un fotoelectrón emitido por *conductores* eléctricos. Si las muestras son semiconductores o aislantes, se debe añadir un efecto más al modelo. Como la muestra emite partículas cargadas, los iones se quedan en el sólido. Consiguientemente, a medida que avanza el experimento, se puede acumular carga en la superficie. Aquélla, como la muestra es un aislante, no se puede perder, como sí ocurriría en una superficie de metal. Llamemos E_{sc} a la energía debida a la reacción del fotoelectrón con la carga superficial. Entonces, para los semiconductores y aislantes, la energía cinética del fotoelectrón queda descrita por la igualdad:

$$E_k = h\nu - E_b - E_w - E_{sc} \quad (9-10)$$

E_{sc} depende del número y signo de las partículas que escapan, así como de la velocidad a la que cualquier carga residual pueda perderse. Luego el valor de E_{sc} puede ser impredecible. Entonces, ¿cómo pueden realizarse mediciones exactas en esas muestras? La aportación de la carga superficial puede eliminarse por los siguientes medios:

1. Hacer la muestra lo más fina posible, de modo que la carga superficial pueda fluir.
2. Inundar la muestra de electrones de baja energía (<3 eV), que pueden ser captados para neutralizar la carga.

3. Mezclar la muestra pulverizada con polvo de grafito. La matriz de grafito dirige la carga afuera, y sólo se deja notar significativamente en los picos de carbono del espectro.
4. Recubrir la superficie con una monocapa de oro. Esto se hace rociándolo, y se utiliza una pieza de oro puro. El oro ayuda al dejar que la carga superficial fluya, y también puede servir como átomo de referencia para calibrar E_k . (El E_b para Au $4f_{7/2}$ es igual a $83,8 \pm 0,2$ eV.)¹ La capa de oro es tan fina que no entorpece la emisión de la superficie sobre la que está.

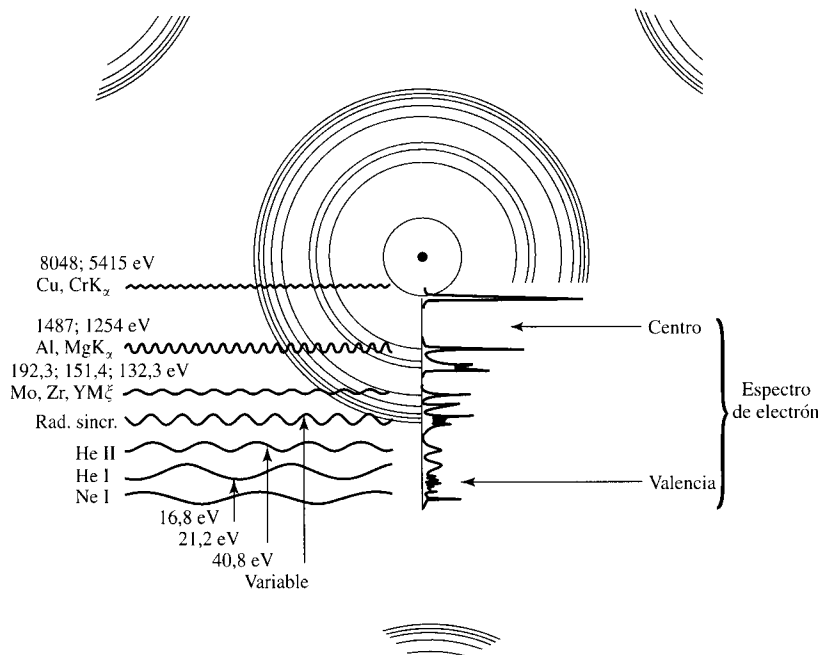
¿Qué electrones emiten?

A medida que se elevan las energías de los fotones primarios, los electrones que se encuentran a niveles de enlace «más profundos» pueden ionizarse. Esta progresión puede verse en la Figura 9.37, que muestra las fuentes de radiación que se utilizan normalmente con sus respectivas energías. Cuando se usa radiación ultravioleta, la espectrometría se denomina **espectrometría fotoelectrónica ultravioleta (UPS)**. Si la fuente de energía ionizada es la radiación de rayos X, entonces la espectrometría se denomina **espectrometría fotoelectrónica de rayos X (XPS)**. Otra denominación del XPS es **espectrometría electrónica para análisis químico**, o ESCA. Estas dos clasificaciones diferentes se estudian juntas porque ahora se puede disponer de la luz que se encuentra en el intervalo de longitud de onda que hay entre ellas. La fuente se llama **radiación sincrotrónica**. En consecuencia, la UPS y la XPS se clasifican juntas como ESCA.

Los picos de los espectros de fotoelectrón por rayos X tienen lugar en energías que son características de especies atómicas. Véase Tabla 9.7. Sin embargo, hay cambios

FIGURA 9.37 ►
Fotoionización.

La energía del fotón ha de ser mayor que el potencial de ionización de un electrón en un orbital específico, para separar al electrón e ionizar el átomo. A la derecha se muestra el espectro del fotoelectrón del átomo. Los círculos representan la distancia media electrón-nuclear: los orbitales del núcleo más cerca, los orbitales de valencia más lejos. A la izquierda se relacionan las fuentes más comunes y sus energías. Sus posiciones en relación al espectro indican las ionizaciones que pueden inducir. Las fuentes de baja energía sólo pueden ionizar electrones de valencia. La radiación de sincrotrón varía a lo largo de un gran intervalo. [Ref. Siegbahn, K. 1982. *Science*. 217, 113.]



¹ Esta nomenclatura significa que el electrón viene de un electrón de un átomo de oro, con números cuánticos $n = 4$, $l = 3$, $(m + s) = 7/2$.

Tabla 9.7. Selección de energías de enlace ESCA

Número atómico	Elemento	Energía de enlace E_b (eV)	Órbita espectrométrica de origen
3	Li	55	1s _{1/2}
4	Be	111	1s _{1/2}
5	B	188	1s _{1/2}
6	C	284	1s _{1/2}
7	N	399	1s _{1/2}
8	O	532	1s _{1/2}
9	F	686	1s _{1/2}
10	Ne	867	1s _{1/2}
11	Na	1072; 63	1s _{1/2} , 2s _{1/2}
12	Mg	89	2s _{1/2}
13	Al	74; 73	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
14	Si	100; 99	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
15	P	136; 135	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
16	S	165; 164	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
17	Cl	202; 200	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
19	K	297; 294	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
20	Ca	350; 347	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
21	Sc	407; 402	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
22	Ti	461; 455	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
23	V	520; 513	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
24	Cr	584; 575	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
25	Mn	652; 641	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
26	Fe	723; 710	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
27	Co	794; 779	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
28	Ni	872; 855	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
29	Cu	951; 931	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
30	Zn	1044; 1021	2p _{1/2} , 2p _{3/2}
32	Ge	129; 122	3s _{1/2} , 3p _{3/2}
47	Ag	373; 367	3d _{3/2} , 3d _{5/2}
78	Pt	74; 70	4f _{5/2} , 4f _{7/2}
79	Au	87; 83	4f _{5/2} , 4f _{7/2}

Fuente: Siegbahn, K., *et al.* 1967. ESCA: *Atomic, Molecular, and Solid-State Structure Studied by Means of Electron Spectroscopy*. Uppsala: Almqvist and Wiksells.

relativamente pequeños en la posición de la línea (energía de enlace) que depende del estado de oxidación del elemento y del enlace químico del mismo. Este cambio positivo de la línea se denomina **desplazamiento químico** que, como puede verse, provocan la aparición de líneas separadas en la Figura 9.38.

Las energías de fotoelectrones ultravioleta son menos características de especies atómicas específicas. Electrones UV abandonan los orbitales de valencia y los de enlace y cambian según el enlace químico. Como resultado, aunque se utiliza el UPS para investigar la composición química de la superficie de la materia, es menos útil para el análisis elemental que el XPS.

Espectrometría de electrones Auger

Tal como indican las denominaciones de la Figura 9.39, cuando un átomo se excita por un fotón de rayos X o por una partícula, los electrones pueden emitirse por dos medios

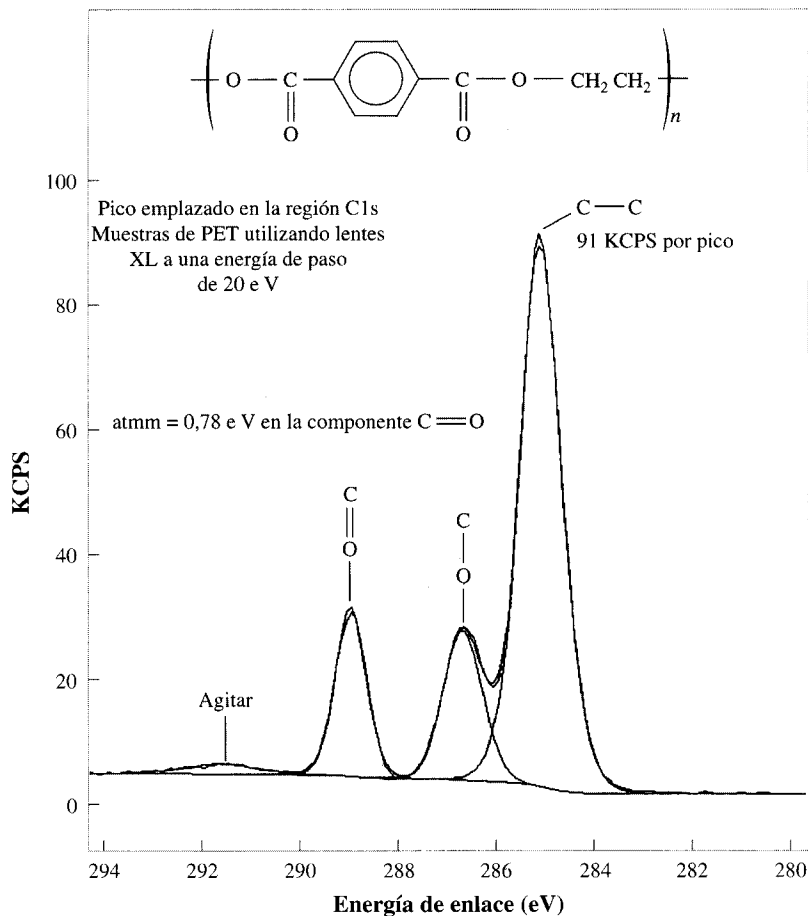


FIGURA 9.38 ▲
Espectros ESCA y estados de oxidación.

Para determinar los estados de oxidación de los elementos puede utilizarse un espectro de fotoelectrón (ESCA) con alta resolución. La muestra es el tereftalato de polietileno (ETP). Aquí pueden resolverse los picos del carbono en los distintos entornos químicos. El área del pico es proporcional al número de cada tipo. Las causas de las diferencias en las posiciones de las líneas se denomina desplazamiento químico. El intervalo total es de 20 eV. [Ref.: Cortesía de VG Scientific.]

diferentes: por emisiones de fotoelectrones y por emisiones Auger. En la figura, con radiaciones de excitación diferentes, los electrones Auger aparecen desplazados en relación a las energías de enlace de los fotoelectrones. De hecho, las energías cinéticas de los electrones de Auger se mantienen igual, mientras que se desplaza la escala de la energía. La razón por la que las energías de emisión de los electrones de Auger son independientes de las energías de irradiación se explicará en breve.

Cuando se produce un impacto de electrón o una irradiación de rayos X originando como resultado una vacante en *K*, la probabilidad relativa de emisiones de electrones Auger es alta para los elementos más ligeros que el zinc si se compara con las emisiones de los rayos X. Para los elementos más pesados que el zinc, las emisiones de rayos X son más probables. Esta tendencia se muestra en la Figura 9.40. Como resultado, la espectrometría de Auger se complementa con la fluorescencia de los rayos X. Sin embargo, como puede verse en la Figura 9.5, los rayos X muestrean una capa más gruesa que la que se consigue en la emisión de electrones Auger.

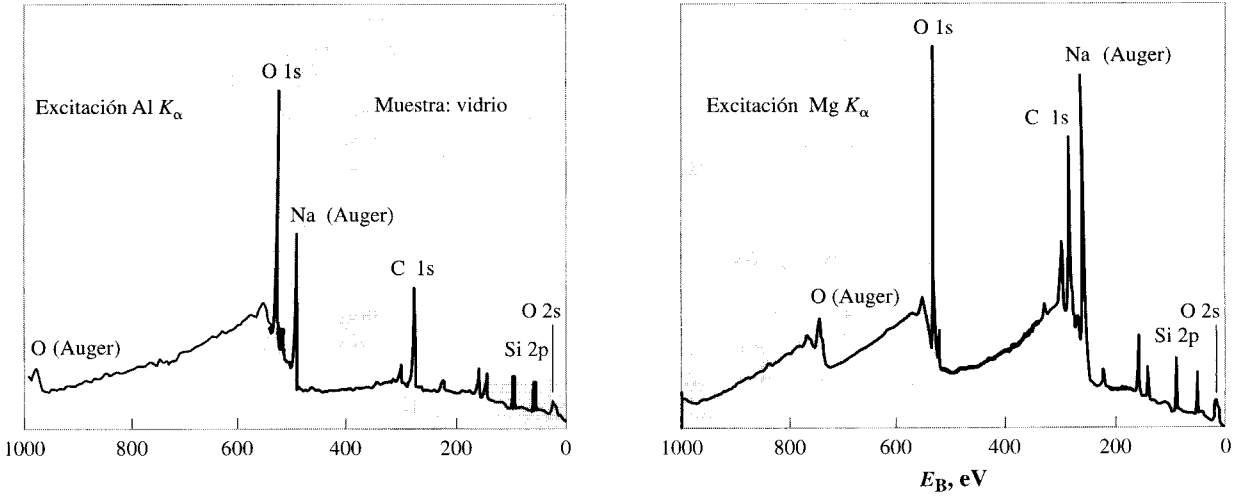


FIGURA 9.39 ▲
XPS de muestras de vidrio.

Se utilizaron dos energías distintas de excitación: (izquierda) $Al K_{\alpha}$ y (derecha) $Mg K_{\alpha}$. Cambiando la longitud de onda de los rayos X, se pueden identificar y clasificar las líneas Auger, ya que sus posiciones cambian según la escala de las energías de enlaces. (Ref.: Impreso de Rendina, J. F. 1974. *Spectroscopy*, Series 1, Vol II. 261-267. Copyright 1974 by International Scientific Communications, Inc.]

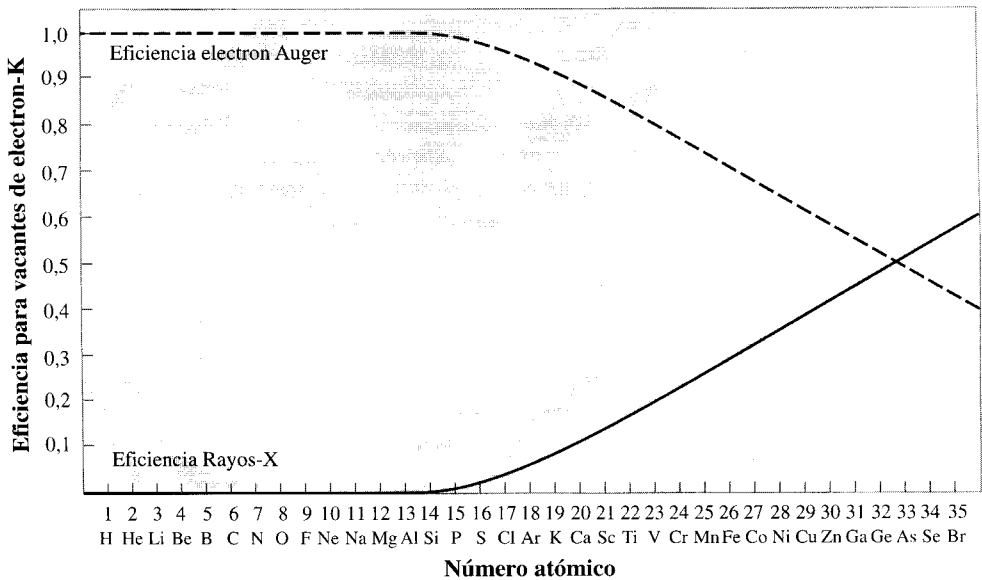


FIGURA 9.40 ▲
Auger y la emisión de rayos X.

En los análisis químicos las emisiones de Auger y las emisiones de rayos X son complementarias cuando se excitan por medio de electrones. Para una excitación dada, la emisión relativa de los electrones de Auger está a máximo nivel con masas atómicas bajas y descende con masas atómicas altas. La emisión de rayos X crece con la masa atómica. Las curvas de aproximación son aplicables para la fluorescencia de K_{α} y para el proceso asociado de Auger. [Ref.: Siegbahn, K., et al. 1967. *Atomic Molecular, and Solid State Structure by Means of Electron Spectrometry*. Uppsala: Almqvist and Wiksells.]

La espectrometría de Auger se utiliza principalmente para determinar la composición elemental de la superficie. Las líneas de Auger pueden obtenerse para todos los elementos excepto H y He. Su sensibilidad es tal que puede detectarse menos de una monocapa de 0,01. Los espectros de Auger también se caracterizan por una intensidad relativamente alta, dada nuestra habilidad para detectar las emisiones de electrones. Esto produce una alta sensibilidad espectrométrica en las superficies, para los elementos más ligeros.

Nomenclatura Auger

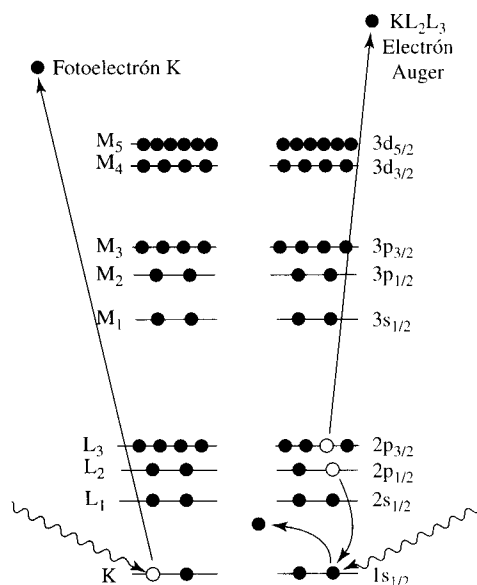
Mientras la energía total se conserve, un electrón puede salir despedido con números diferentes de energía cinética concreta. Como se muestra en la Figura 9.41, los fotoelectrones se excitan directamente por un fotón de rayos X y son despedidos de un orbital específico del átomo excitado. Para indicar sus órbitas originales, los picos de los *fototelectrones* se denominan *K*, *L*₂, y así sucesivamente. (Otra forma de nomenclatura puede verse en la Figura 9.40, donde se utiliza *O*_{1s}.)

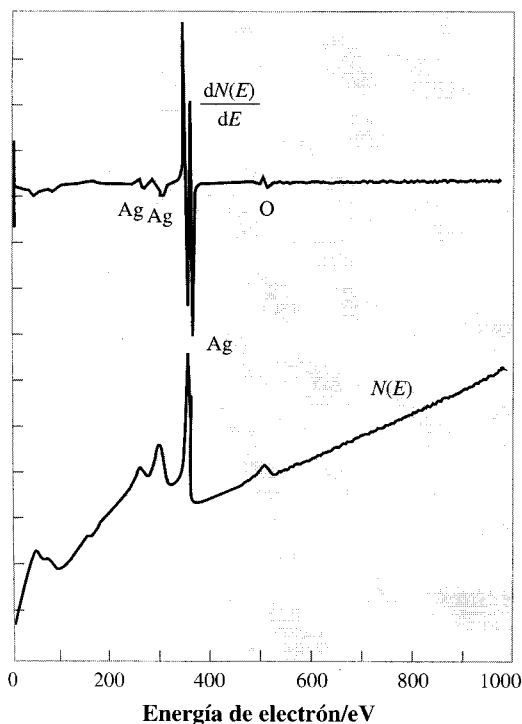
Sin embargo, en la emisión Auger intervienen tres electrones. El primero se promociona fuera de su órbita a un nivel mayor de energía; la promoción puede incluir emisiones fotoelectrónicas. Consecuentemente, el «agujero» que queda se rellena por un segundo electrón que proviene de algún nivel de energía superior. El electrón Auger es el tercero; es el que sale despedido. Una vez que se ha retirado el primer electrón, las reorganizaciones posteriores dependen únicamente de los niveles de energía de los átomos. Por eso la energía cinética del electrón Auger se mantiene independiente de la energía de irradiación. En la Figura 9.39, los picos de Auger permanecen al mismo nivel de energía. Sólo parecen moverse desde que la escala se desplazó para tener las energías de enlaces constantes con las dos fuentes diferentes.

El mecanismo de la emisión Auger y su nomenclatura están íntimamente relacionados. Los electrones Auger pueden denominarse por la serie de órbitas que intervienen antes de la emisión del electrón. Se muestra un ejemplo en la Figura 9.41 como *KL₂L₃*. Las líneas asignadas para análisis químicos de las superficies se realizan a menudo por el nombre del elemento, como Si y Al, según se muestra en las Figuras 9.42 y 9.43.

FIGURA 9.41 ►
Nomenclatura de espectros de fotoelectrones.

Se aplican diversas denominaciones a las líneas de los espectros de fotoelectrones dependiendo de sus orígenes. En la figura se muestran mecanismos representativos de los espectros de fotoelectrones de rayos X y de la espectrometría de Auger. La nomenclatura *K*, *L*, *M* para las órbitas se muestra a la izquierda, y la nomenclatura espectroscópica a la derecha. Las tres denominaciones para los electrones Auger son, de izquierda a derecha, la órbita desde donde el fotoelectrón es despedido y la órbita desde la cual el electrón Auger se emite. El eje de la energía no está a escala.





◀ FIGURA 9.42
Espectros derivados Auger.

La gran interferencia residual que aparece en los espectros Auger se puede suprimir derivando el espectro original. Las dos gráficas corresponden a espectros de la plata. (**Abajo**) Trazado de $N(E)$, el número de electrones Auger en cada energía versus la energía de enlace. (**Arriba**) Trazado del $dN(E)/dE$. [Ref.: Reimpresión con permiso de Palmberg, P. W. 1973. *Anal. Chem.* 45, 552A. Copyright 1973 American Chemical Society.]

Como se aprecia en la Figura 9.39, el espectro de emisión de electrón tiene interferencias de fondo relativamente grandes. Para reducir el efecto de la interferencia de fondo, el resultado se puede representar derivando el espectro, tal como se ve en la Figura 9.42.

La irradiación por rayos X es, en comparación con otras, ineficaz a la hora de generar electrones Auger. La irradiación con electrones acelerados (unos pocos cientos de eV más o menos) es mucho más efectiva. Por ello podemos obtener una sensibilidad de análisis mayor para el método Auger mediante la irradiación con electrones.

Si el haz de electrones que provoca la emisión Auger se dirige a un punto pequeño (una fracción de un micrómetro), los electrones Auger sólo se emitirán desde el lugar de la excitación. Las Figuras 9.43b y c ilustran esta capacidad de localización.

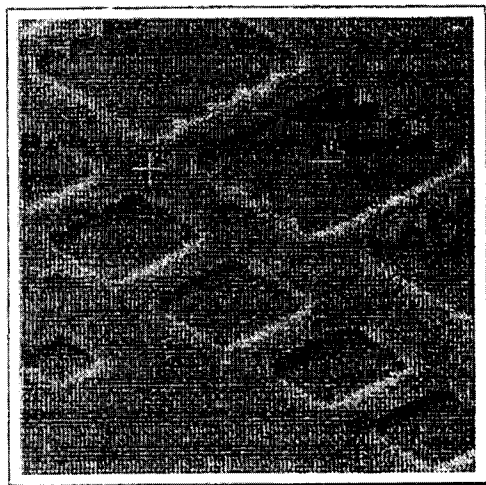
Los electrones Auger se utilizan para producir la imagen en un microscopio electrónico. Además, si el haz de electrones de excitación se barre siguiendo un modelo ráster sobre la muestra (como el haz electrónico de una pantalla de televisión barre para producir la imagen), entonces se puede realizar la distribución espacial de la respuesta Auger. Este análisis se denomina **microscopía Auger de barrido**. En las Figuras 9.43d y e se muestran resultados típicos de este tipo de análisis.

Además de los electrones Auger, las energías de emisiones de rayos X provenientes de puntos concretos se pueden registrar, cuantificando así los elementos en esa pequeña parte de la superficie. El análisis de emisión de rayos X se denomina **análisis por microsonda electrónica**.

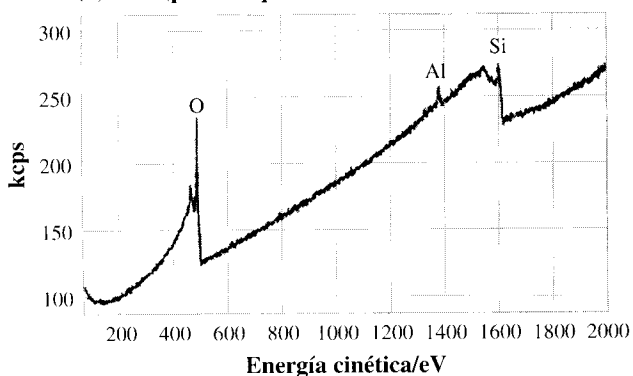
9.16. Dispersión de Rutherford

La dispersión residual de Rutherford (RBS) es una técnica de análisis de superficie que sólo trata partículas, por lo que la RBS no es estrictamente una espectrometría. Las energías cinéticas de las partículas son las cantidades medidas.

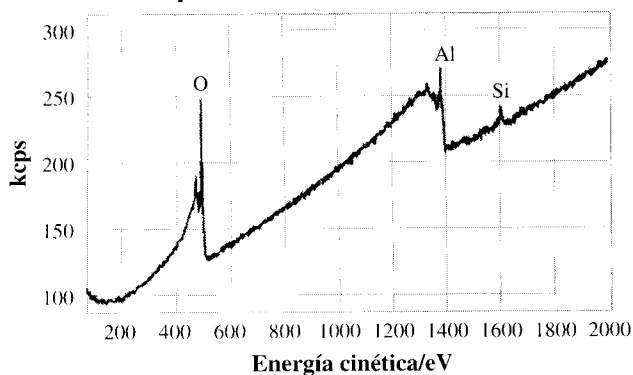
(a) MSE



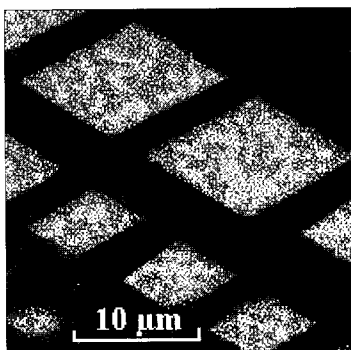
(b) AES (punto izquierdo)



(c) AES (punto derecho)



(d) Si MSA



(e) Al MSA

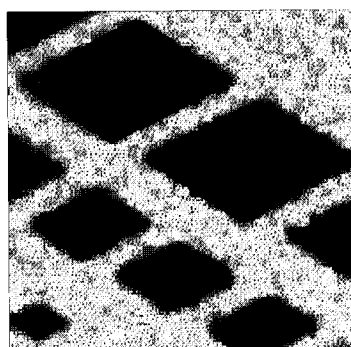


FIGURA 9.43 ▲

Imágenes de elementos de una parrilla de aluminio sobre una oblea de silicio.

Las imágenes se forman barriendo al mismo tiempo la muestra y la salida de la pantalla, como se describe en el texto. Ajustando el espectrómetro de fotoelectrones a distintas energías características se pueden hallar distribuciones de diferentes elementos. (a) Visualización de una micrografía electrónica de la superficie. Las dos cruces indican los puntos desde los cuales se registraron los espectros Auger (b) y (c). Los espectros Auger muestran que tanto el área de silicio como la de aluminio tienen oxígeno en la superficie. Esto es inevitable si la muestra ha entrado en contacto con el aire. (d) y (e) son VMA de silicio y aluminio respectivamente.

Condiciones experimentales. Haz electrónico: 15 keV, 3 nA. Tiempos de adquisición: (a) y (b), 1 minuto 54 s; (d) y (e) 16 minutos 23 s, adquisición simultánea del pico y el fondo. [Figuras por cortesía de VG Scientific, Fisons Instruments.]

La dispersión de Rutherford implica, en efecto, hacer rebotar partículas de alta energía sobre los núcleos de los átomos de la superficie. Las partículas son normalmente iones de helio, y sus energías cinéticas del orden de unos pocos *millones* de electrón-voltios. De la misma forma que una bola de billar pierde velocidad cuando choca con otras, en la RBS parte de la energía de las partículas que entran se trasfiere a los átomos estacionarios y los movimientos de las partículas se retardan. La cantidad de la energía transferida depende de las masas de los átomos objetivo. Como resultado, la composición de la superficie puede determinarse midiendo después de la colisión el cambio sufrido en la energía cinética de las partículas incidentes. Sólo se miden las partículas que rebotan en la misma dirección en que venían (las partículas **dispersadas**).

La técnica es independiente del enlace químico de los átomos de la superficie, lo que hace que se trate de un método de análisis atómico cuantitativo. La resolución de la masa no es lineal con respecto a la masa atómica del analito, y depende también de la calidad del instrumento. Por ejemplo, con partículas de ${}^4\text{He}$ 2-MeV, las masas atómicas pueden resolverse para átomos aproximadamente más ligeros que el cloro, y, en el extremo más alto de la escala de masa atómica —cerca de 200 daltons—, sólo se pueden resolver las masas que difieran en unos 20 daltons. Se pueden obtener valores absolutos de la superficie sin calibrar cada tipo de muestra, porque las propiedades de dispersión del núcleo de cada elemento permanecen constantes en las diversas muestras. Puede cuantificarse

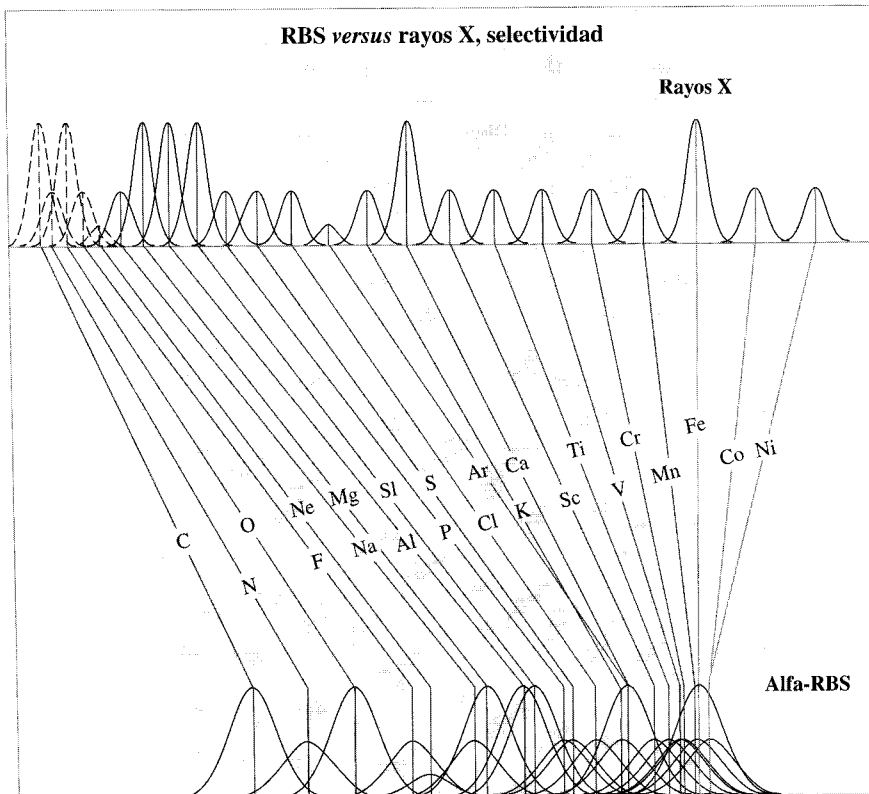


FIGURA 9.44 ▲ Ilustración sobre la complementariedad entre la dispersión de Rutherford y la fluorescencia de los rayos X en el análisis de elementos.

[Ref.: Rieder, R., Wanke, H., Economou, T., Turkevitch, A., 1997. *J. Geophys. Res.-Planets* 102: (E2), 4027-4044. Publicado por AGU.]

menos de una monocapa en la superficie, si la capa superficial está compuesta de átomos más pesados situados sobre un sólido compuesto de átomos de peso mucho menor. El depósito de átomos pesados de metal sobre la superficie de silicón cristalina, que se investiga en la producción de chips microprocesadores, puede servir de ejemplo.

Como muestra la Figura 9.44, la dispersión de Rutherford complementa la fluorescencia de los rayos X, debido a la capacidad que tienen de resolver átomos en diferentes intervalos de masa atómica. La diferencia se empleó para el análisis de la composición elemental del suelo de Marte, como se describe en el Caso Práctico 9-3.

9A. Profundizando: espectros de emisión y de absorción y la distribución de Boltzmann

Toda emisión o absorción de un fotón luz se debe a la transición entre estados de energía cuantizada. Sin embargo, todavía no hemos tenido en cuenta que aunque un grupo de la misma especie atómica (o molecular) puede estar absorbiendo y emitiendo radiación al mismo tiempo, un átomo individual no puede absorber y emitir radiación a la vez. Entonces surge la siguiente pregunta: ¿cuál es la relación entre las propiedades de los átomos individuales y las propiedades de todo el conjunto? Quizá, sorprendentemente, esta pregunta tenga una aplicación muy directa en la elección de un determinado método de análisis por espectrometría atómica.

Como ya hemos visto, en condiciones espectrométricas normales (esto es, no iluminados por láseres de alta potencia), los átomos en estado fundamental sólo pueden absorber luz y los átomos en estado excitado sólo pueden emitirla. En particular, para la emisión proveniente de especies m , la intensidad de la emisión a una anchura de línea λ es proporcional al número de átomos presente, N_m .

$$P_m(\lambda) = C_c(\lambda, m) \cdot N_m \quad (\text{en emisión}) \quad (9A-1)$$

El valor específico de la constante $C_c(\lambda, m)$ depende de todas las condiciones del experimento, y de la intensidad a una longitud de onda específica.

Sin embargo, las especies atómicas tienen que estar en un estado excitado específico para producir una emisión a la longitud de onda λ . No todos los átomos presentes están en ese estado. Podemos incluir esta consideración transformando un poco la Ecuación 9A-1:

$$P_m(\lambda) = C'_c(\lambda, m) \cdot N_m^* \quad (\text{en emisión}) \quad (9A-2)$$

aquí la prima (') indica un valor diferente de la constante. El asterisco indica que el número de átomos que emite no es el total de todos los átomos, sino sólo el de los átomos en estado excitado que proporcionan una emisión en λ . Con otras palabras, podemos expresar algebraicamente la intensidad determinada experimentalmente por lo menos de dos maneras; las Ecuaciones 9A-1 y 9A-2 se pueden aplicar por igual al análisis de los elementos. Sin embargo, la Ecuación 9A-1 es mucho más útil.

Del mismo modo, en la absorción, la absorbancia A viene dada por:

$$A_m(\lambda) = C''_a(\lambda, m) \cdot N_m \quad (\text{en absorción}) \quad (9A-3)$$

donde C_a es análogo a C_e . Una forma de esta ecuación es la ley de Beer. Sin embargo, como solamente absorben los átomos en estado fundamental, también se puede escribir:

$$A_m(\lambda) = C'''_a(\lambda, m) \cdot N_{m, \text{estado fundamental}} \quad (\text{en absorción}) \quad (9A-4)$$



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 9-3

Soy un vagabundo, sí, soy un vagabundo... en Marte

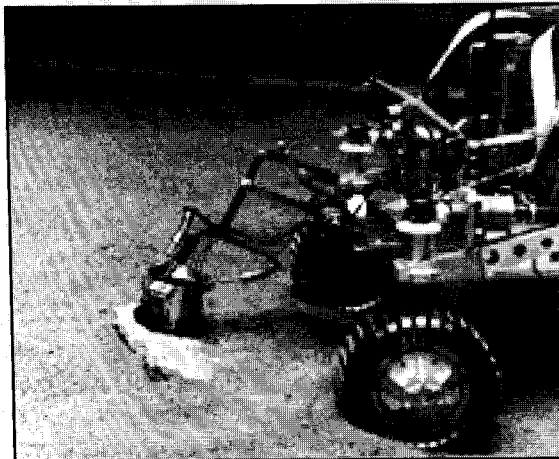
En julio de 1997 un pequeño robot con instrumentos aterrizó en la superficie de Marte para llevar a cabo una serie de estudios fotográficos y análisis químicos de rocas. Los análisis químicos se realizaron con un espectrómetro de rayos X alfa protón (APXS). Fue diseñado específicamente para la misión Mars Pathfinder, y proporcionó un análisis completo y detallado de los elementos químicos del suelo marciano y de las rocas cercanas al lugar de aterrizaje. Este instrumento se trasladó en el microtransportador Pathfinder, que se utilizaba como medio de transporte a los lugares interesantes de la superficie marciana. El espectrómetro estaba compuesto de una cabeza sensora, montada sobre un brazo móvil, que permitía sujetar la cabeza contra el suelo y las muestras de roca y así realizar los análisis químicos *in situ*. En la figura adjunta se muestra el plano general de la cabeza sensora. También se puede ver la cabeza sensora, llamada Sojourner, en la fotografía del microtransportador.

El espectrómetro APXS trabaja bombardeando la superficie con partículas α emitidas por una fuente de Curcio (^{244}Cm). Cuando las partículas golpean la superficie tienen lugar tres tipos diferentes de reacciones. El análisis del espectro de estas tres reacciones proporciona el análisis cuantitativo de los elementos. Dos de estas reacciones —la dispersión de Rutherford y la fluorescencia de los rayos X— se tratan brevemente en este capítulo. La tercera reac-

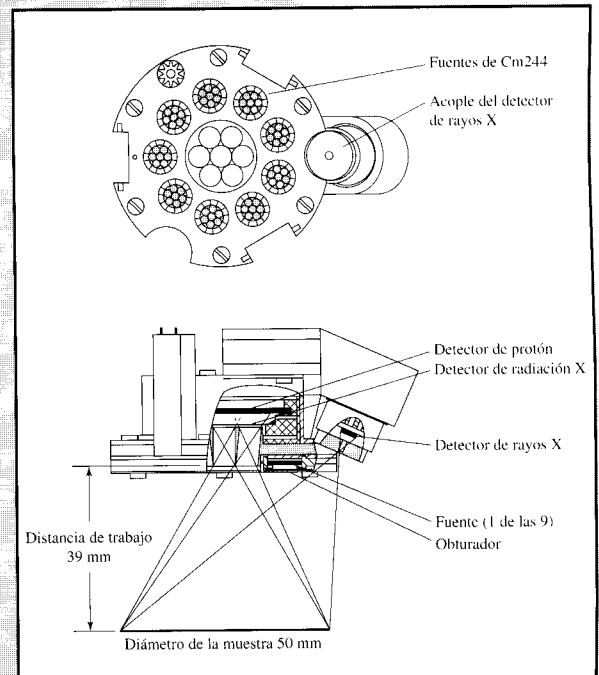
ción es nuclear, y hace que se produzcan protones al reaccionar las partículas α con los núcleos de los elementos ligeros.

La medición de las intensidades y las distribuciones de energía de los tres espectrómetros en conjunto proporciona información sobre la abundancia de elementos químicos de la muestra. Los tres espectrómetros son en parte repetitivos y en parte complementarios: la dispersión Rutherford de las partículas α es superior en elementos ligeros (C, O), mientras que la emisión de protones es sensible principalmente al Na, Mg, Al, Si y S. La emisión de rayos X es más sensible a los elementos pesados (del Na al Fe y posteriores). La combinación de las tres medidas permite la cuantificación de todos los elementos (con excepción del H y el He) cuando sus concentraciones son mayores del 0,2% (p/p) más o menos.

[Ref.: RIEDER, R., WANKE, H., ECONOMOU, T., TURKEVICH, A. 1997. «Determination of the chemical composition of Martian soil and rocks: The alpha proton X-ray spectrometer.» *Journal of Geophysical Research*. Vol. 102, No. E2. pp. 4027-4044. Publicado por AGU.]



▲ Sojourner.



▲ APXS cabeza sensora.

Como veremos más adelante, mientras las constantes de emisión C_e y C'_e son bastante diferentes, las constantes de absorción C''_a y C'''_a normalmente son casi iguales.

¿Hay alguna manera de calcular o estimar la proporción de átomos en los estados fundamental y excitado? Ocurre que sí la hay, y los números dependen de la temperatura. En consecuencia, tanto la precisión como la sensibilidad de los métodos ópticos de espectrometría atómica dependen en segundo lugar de la temperatura de los átomos de la muestra (en primer lugar dependen de los efectos de la anchura de línea). Las relaciones entre las concentraciones de los estados fundamental y excitado se describen mediante la **distribución de Boltzmann**, en condiciones de equilibrio térmico.

La distribución de Boltzmann se expresa mediante una simple ecuación, la Ecuación 9A-5, que describe la propiedad de un gran número de partículas: átomos, iones o moléculas. Nos referiremos específicamente a los niveles de energía que los átomos pueden tener como $E_1, E_2, E_3, \dots, E_N$. Todos los átomos están a una temperatura T , y para calcular cualquier distribución de Boltzmann la temperatura está en K . Ahora, llamemos a dos niveles cualquiera de los niveles de energía E_i y E_j , siendo $i \neq j$. La proporción de los números de átomos que hay en cada nivel de energía E_i y E_j es:

$$\frac{N_i}{N_j} = \text{factor} \cdot e^{-(E_i - E_j/k_B T)} \quad (9A-5)$$

N_i y N_j son la población de partículas que hay en cada estado, y k_B es la constante de Boltzmann, $1,381 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$. Hemos omitido la clasificación de la especie m y nos olvidaremos de ella de ahora en adelante.

Obsérvese el factor introducido en el lado derecho de la Ecuación 9A-5. Este factor representa la cantidad llamada **degeneración** del nivel de energía específico. El valor del factor de degeneración es, en general, un número entero pequeño. Para los casos que hemos considerado aquí el valor es 1, 2 ó 3. Para una proporción como N_i/N_j el factor de degeneración es despreciable comparado con el valor del factor exponencial. Por eso, vamos a omitir la degeneración en los cálculos siguientes; esto clarifica el cálculo y sólo supone una pequeña pérdida de información.

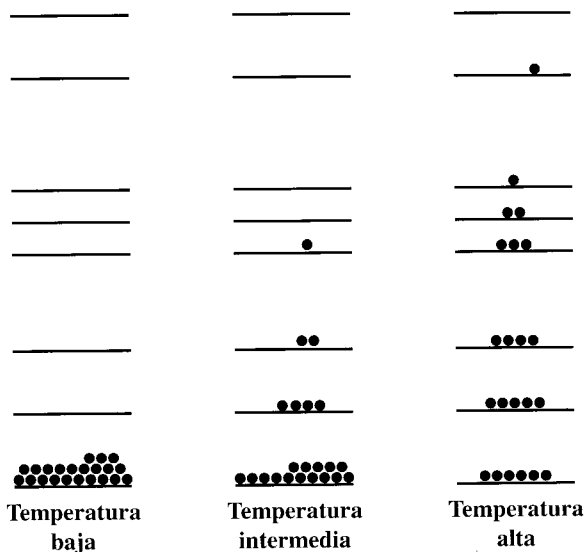
Si el estado j de la Ecuación 9A-5 es el estado fundamental, entonces, al definir el estado fundamental de energía como cero ($E_0 = 0$) se tiene que:

$$\frac{N_{\text{estado excitado } i}}{N_{\text{estado fundamental}}} = \exp\left(\frac{N_{\text{estado excitado } i}}{k_B T}\right) \quad (9A-6)$$

La Figura 9A.1 recoge un esquema con los cambios en los estados fundamental y excitado en función de la temperatura.

Como el exponente de la ecuación es una proporción de energías se deben usar las mismas unidades para expresar E_i que para expresar $k_B T$. En la Tabla 9A.1 se recogen algunas temperaturas y valores representativos de $k_B T$ en cm^{-1} . Debemos, por tanto, convertir los valores de $k_B T$ y las energías de E_i a cualquier unidad de energía que entendamos mejor.

Veamos cómo cambian las distribuciones de los átomos de sodio y de zinc en sus estados fundamental y primer excitado según la temperatura. Para el sodio, el primer estado excitado se sitúa a $17.000 \text{ cm}^{-1} = 2,1 \text{ eV} = 589 \text{ nm}$ por encima del nivel de energía fundamental. A 589 nm aparecerá una transición entre este nivel de energía y el estado fundamental (en la zona amarillo-naranja del espectro visible). En el zinc, el primer estado excitado se sitúa a los $46750 \text{ cm}^{-1} = 5,8 \text{ eV} = 214 \text{ nm}$. Esta longitud de onda está en el ultravioleta. Como se puede ver en la Tabla 9A.1, incluso a la temperatura más



◀ FIGURA 9A.1
Cambio en la población de los niveles de energía de átomos idénticos según la variación de temperatura.

Para el ejemplo empleamos sólo 22 átomos; cada punto grande representa un átomo en un nivel cuantizado específico. Se han descrito las poblaciones mediante la distribución de Boltzmann.

Tabla 9A.1. Valores representativos de $k_B T$ en cm^{-1} junto con poblaciones de niveles de energía de Na(I) y Zn(I)^a

$T(\text{K})$	$k_B T/\text{cm}^{-1}$	Na, $\lambda = 589 \text{ nm}$ N_1/N_0	Zn, $\lambda = 214 \text{ nm}$ N_1/N_0
298	207	2×10^{-36}	8×10^{-99}
1000	695	2×10^{-11}	6×10^{-30}
5000	3476	8×10^{-3}	1×10^{-6}

NOTA: Se ha omitido el factor que representaba la degeneración de los niveles energéticos.

^a Nomenclatura de espectrometría atómica.

alta la mayor parte de los átomos de sodio y zinc se encontrarán todavía en estado fundamental².

Una de las razones por las que las conclusiones de la distribución de Boltzmann son importantes tiene que ver con la elección del método de análisis por espectrometría atómica. Por ejemplo, pensemos en el ejemplo del sodio. A *cualquier* temperatura, una parte significativamente grande (pero todavía pequeña) de los átomos de sodio estará en estado excitado. Por la ecuación de Boltzmann se espera que cuanto más baja sea la energía de los niveles de energía excitados de los átomos, tanto más sensible será un análisis por emisión. Si el resto de los efectos es igual, la emisión atómica es mejor para el análisis de elementos fácilmente excitables. Además, como la sensibilidad de la espectrometría de emisión depende de la diferencia de energía entre los estados fundamental y excita-

² Este resultado es bastante paradójico. La emisión amarillo-naranja que se puede ver cuando se calienta una varilla de cristal en un quemador Bunsen es bastante brillante. Sin embargo, dicha emisión proviene de la pequeña porción de átomos de sodio que se evaporan de la superficie de la varilla de cristal. Y, dado que la temperatura de la llama es de unos 800 K, lo que ocurre, obviamente, es que la evidente y brillante emisión procede sólo de una pequeña parte de los relativamente pocos átomos vaporizados, es decir, los que están en estado excitado.

do, una regla general de la experiencia establece que la sensibilidad hacia un elemento es aproximadamente inversamente proporcional a su potencial de ionización.

Fluctuaciones de la temperatura e interferencia

Hagamos un cálculo mediante la ecuación de Boltzmann para ilustrar qué cambios relativos de concentración podemos encontrarnos en los estados excitado y fundamental cuando cambia la temperatura de una fuente de emisión. Consideremos que la temperatura cambia en ± 10 K. Si la temperatura es de 2000-3000 K, 10 K supone un cambio pequeño, como el que podría derivar de variaciones en el caudal al que los gases se introducen en una fuente de emisión de ICP, o a fluctuaciones en la potencia suministrada por un generador de radiofrecuencias.

Como se puede ver en las ecuaciones 9A-4 y 9A-2 los cambios en la población de los estados fundamental y excitado debidos a las fluctuaciones de temperatura provocarán cambios en la absorción o en la emisión, respectivamente. Dependiendo de la rapidez de estas fluctuaciones los efectos se considerarán interferencia (relativamente rápida) o desviación (interferencia de baja frecuencia); los dos empeoran el grado de precisión y detección de los métodos.

Sigamos, como ejemplo, el cálculo para el sodio que comenzamos arriba y se recoge en la Tabla 9A.1. Supongamos que la temperatura es de 3000 K, una temperatura de excitación normal en la espectrometría ICP. La longitud de onda de la emisión es de 589,59 nm, lo que significa que el estado excitado para esta línea de emisión (la línea amarilla de sodio) es de 16951 cm^{-1} o de $3,3692 \times 10^{-19} \text{ J atom}^{-1}$. La proporción *calculada* de poblaciones (sin tener en cuenta la constante de degeneración) del estado excitado en relación al estado fundamental ($E_0 = 0$) es:

$$\begin{aligned} \frac{N_1}{N_0} &= \exp\left(\frac{-E_1}{k_B T}\right) \\ &= \exp\left(\frac{-3,3692 \times 10^{-19}}{1,3806 \times 10^{-23} \cdot 3000}\right) \\ &= 2,93 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

Y, a una temperatura diez grados mayor, 3010 K:

$$\begin{aligned} \frac{N_1}{N_0} &= \exp\left(\frac{-3,3692 \times 10^{-19}}{1,3806 \times 10^{-23} \cdot 3010}\right) \\ &= 3,01 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

¿Qué significan estas proporciones?

Comparados con la población del estado fundamental, sólo alrededor de un 0,03% de todos los átomos de Na emiten luz amarilla a 3000 K. Sin embargo, elevando la temperatura tan sólo 10 K más, la población del estado excitado —y esta emisión específica— aumenta en casi un 3% (de la población de 0,03%).

$$\frac{(3,01 - 2,93) \times 10^{-4}}{2,93 \times 10^{-4}} = 0,027$$

El cálculo es independiente de la degeneración de los niveles, que es una constante.

EJEMPLO 9A.1

¿Cuál es el cambio relativo en la población del estado fundamental al elevar 10 grados la temperatura de una línea de emisión amarilla de sodio?

Solución:

Hay que tener precaución a la hora de hallar el cambio en la población del estado fundamental, porque la disminución del número de átomos en estado fundamental es igual a la *suma* de aumentos de todos los estados excitados. En este caso es necesario valorar dos estados excitados que tienen prácticamente la misma energía, porque los otros están tan elevados que contribuyen relativamente poco al cambio de la población. Anteriormente se ha calculado un N_i/N_0 .

Calculamos:

$$\Delta \frac{N_i}{N_0} = (3,01 - 2,93) \times 10^{-4} = 0,08 \times 10^{-4}$$

Como las poblaciones de los estados excitados son tan pequeñas, se puede aproximar que:

$$N_0 + 2N_i = \text{número total de átomos}$$

para el estado fundamental y los dos excitados. El cambio en la población que está en estado fundamental es:

$$2 \cdot \frac{\Delta N_i}{N_0 + 2N_i} \approx 2 \cdot \Delta \frac{N_i}{N_0} \approx 1,6 \times 10^{-5}$$

Con una variación de 10 grados en T hay un cambio en la población de unos 16 ppm solamente.

¿Qué consecuencias tiene este comportamiento? Según los cálculos que hemos efectuado, podemos concluir que para los átomos que absorben y emiten en la zona UV-visible (250-750 nm), la espectrometría de absorción atómica es menos sensible a las fluctuaciones de temperatura (0,0016%) que la espectrometría de emisión (3%). La temperatura de atomización es más crítica en la emisión, por lo que los factores que influyen en la temperatura deben controlarse con más cuidado, incluyendo las velocidades del flujo de gas y manteniendo el mismo disolvente para todas las muestras y estándares.

9B. Profundizando: ensanchamiento de línea por efecto Doppler

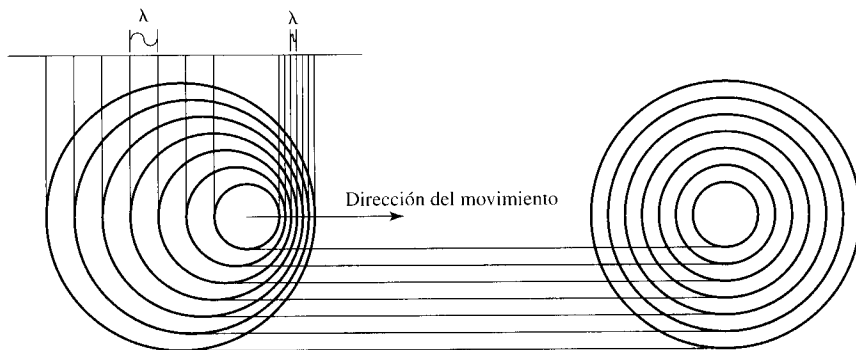
Un átomo que no se mueve en relación al observador muestra un ancho de línea más estrecho que el que se observa en espectros de emisión atómica. Si no se está moviendo, la anchura de la línea depende de la duración del estado excitado. Esta duración es más corta (y el ancho de línea más grande) que la duración de un átomo aislado, porque la colisión con otros átomos estimula la emisión. Esta estimulación proviene de los campos eléctricos ocasionados por las colisiones.

Cuando los átomos se mueven en relación al observador, el efecto Doppler produce un ensanchamiento de línea, aparte del ensanchamiento natural ocasionado por las colisiones. Como es sabido, el sonido del silbato de un tren o de la bocina de un coche cambia de tono dependiendo de cómo se mueva en relación a uno: más alto si se está acercando y más bajo si se aleja. La Figura 9B.1 ilustra la diferencia. En la figura, una fuente de sonido de una sola frecuencia se propaga en todas direcciones. Si está quieta, los picos de las ondas

En la Sección 17B se estudia en detalle cómo depende la anchura de línea de la duración.

FIGURA 9B.1 ►
Ilustración del
desplazamiento por efecto
Doppler.

La distancia entre círculos representa una longitud de onda del campo eléctrico. Si el emisor permanece quieto, una instantánea sería como el dibujo de la derecha. Cuando la fuente se está moviendo, las ondas se hacen más cortas en la dirección del movimiento y se alargan en dirección contraria. La longitud de onda sigue igual en la perpendicular al movimiento.



de sonido se propagan como se muestra en la derecha. Sin embargo, cuando se mueve, la longitud de onda se acorta en la dirección del movimiento y se hace más larga en la dirección contraria, mientras que permanece igual en dirección perpendicular a éste.

Para la luz el desplazamiento de la frecuencia viene dado por la ecuación del movimiento relativista. Si la fuente de la frecuencia es f_0 y el observador se acerca a velocidad v , la frecuencia desplazada por el efecto Doppler es f_{dopp} . Estas frecuencias se relacionan así:

$$f_{\text{dopp}} = f_0 \frac{1 + v/c}{\sqrt{1 - (v/c)^2}} \quad (9B-1)$$

donde c es la velocidad de la luz en las condiciones de la medida. La simplicidad final del resultado no queda clara en la Ecuación 9B-1, y, como las velocidades atómicas son extremadamente pequeñas comparadas con c , hacemos la simplificación típica desarrollando la ecuación en un número infinito de series y eliminando la mayor parte de los términos. Aquí, el desarrollo de las series de la Ecuación 9B-1 es:

$$f_{\text{dopp}} = f_0 \left[1 + \frac{v}{c} + \frac{1}{2} \left(\frac{v}{c} \right)^2 + \dots \right] \quad (9B-2a)$$

Podemos eliminar los términos cuadráticos y los más altos. El resultado queda así:

$$f_{\text{dopp}} = f_0 \left(1 + \frac{v}{c} \right) \quad (9B-2b)$$

lo que demuestra que el desplazamiento de la frecuencia (o de la longitud de onda) es simple y linealmente proporcional a la velocidad del movimiento en relación al observador. (Si la dirección de la traslación implica alejarse del observador, el signo de la Ecuación 9B-2b cambia: $-v$ sustituye a v .)

Como resultado de esta relación lineal simple entre la velocidad y el desplazamiento de la frecuencia, el ensanchamiento de línea observado se relaciona simplemente con la distribución de las velocidades de los átomos. Las velocidades se describen en cada dirección x , y y z de manera independiente, por las estadísticas de Maxwell-Boltzmann. Para las partículas que se mueven en la dirección x a velocidad v_x hacia o alejándose del observador, y usando cantidades molares para las variables, el número de partículas que viaja a v_x es (a temperatura constante):

$$dN(v_x) = \text{constante} \cdot \exp\left(-\frac{Mv_x^2}{RT}\right) dv_x \quad (9B-3)$$

donde R , T y M son, respectivamente, la constante de gas, la temperatura y la masa molar en g mol^{-1} .

Para conseguir que la emisión quede en función de la frecuencia tenemos que hacer que el número que se encuentra en función de la velocidad pase a estar en función de la frecuencia. Esto es, reajustando la Ecuación 9B-2b, tenemos que:

$$v_x = \left(c \frac{f_{\text{dopp}}}{f_0} - c \right) \quad (9B-2b)$$

Para obtener el ancho de línea, hay que sustituir v_x por esta expresión en la Ecuación 9B-3, y luego admitir que la emisión, a cada frecuencia, es proporcional a $N(f)$. La ecuación resultante es:

$$I(f) = I_0 \exp\left(-\frac{Mc^2}{2RT} \cdot \frac{(f_0 - f_{\text{dopp}})^2}{f_0^2}\right) \quad (9B-4)$$

donde I_0 es la emisión en el máximo, que aparece a la frecuencia de la línea sin ensanchar. Ésta es una línea gaussiana, y comparando la Ecuación 9B-3 con la Ecuación 2-9 se puede ver que μ corresponde a f_0 y x corresponde a f_{dopp} . La desviación estándar queda entonces:

$$\sigma_{\text{dopp}} = \frac{f_0}{c} \sqrt{\frac{RT}{M}}$$

Las anchuras de la línea espectral se caracterizan por la atmm más que por la desviación estándar. La relación entre las dos es:

$$\text{atmm}_{\text{dopp}} = 2 \cdot \sigma_{\text{dopp}} \sqrt{2 \ln 2}$$

por lo que:

$$\Delta f_{\text{dopp}} = \text{atmm}_{\text{dopp}} = \frac{2f_0}{c} \sqrt{\frac{2RT \ln 2}{M}} = 7,16 \times 10^{-7} f_0 \sqrt{\frac{T}{M}} \quad (9B-5)$$

Se mantiene la misma forma de la ecuación para la frecuencia, números de onda y longitud de onda por la pequeña proporción del efecto y la simetría de la línea gaussiana (la velocidad aparece como v^2). Esto es, $\Delta f/f_0 = \bar{v}/\bar{v}_0 = \Delta\lambda/\lambda_0$.

EJEMPLO 9B.1

Calcular la anchura de línea $\Delta\bar{v}_{\text{dopp}}$ que se espera en la línea de sodio, a 589,0 nm y 3000 K.

Solución:

Para el sodio, $M = 23,0 \text{ g mol}^{-1}$, y usamos la forma de longitud de onda de la ecuación:

$$\frac{\Delta\lambda_{\text{dopp}}}{\lambda_0} = 7,16 \times 10^{-7} \sqrt{\frac{3000}{23,0}} = 8,2 \times 10^{-6}$$

luego la anchura de línea esperada es:

$$\Delta\lambda_{\text{dopp}} = 589,0 \text{ nm} \cdot 8,2 \times 10^{-6} = 4,8 \times 10^{-3} \text{ nm}$$

Como se ve en la derivación, la línea ensanchada por el efecto Doppler tiene un perfil gaussiano, lo que se sigue directamente de la distribución Maxwell-Boltzmann. No es Lorentziana, como la línea dependiente sólo del tiempo de vida del nivel. También, la

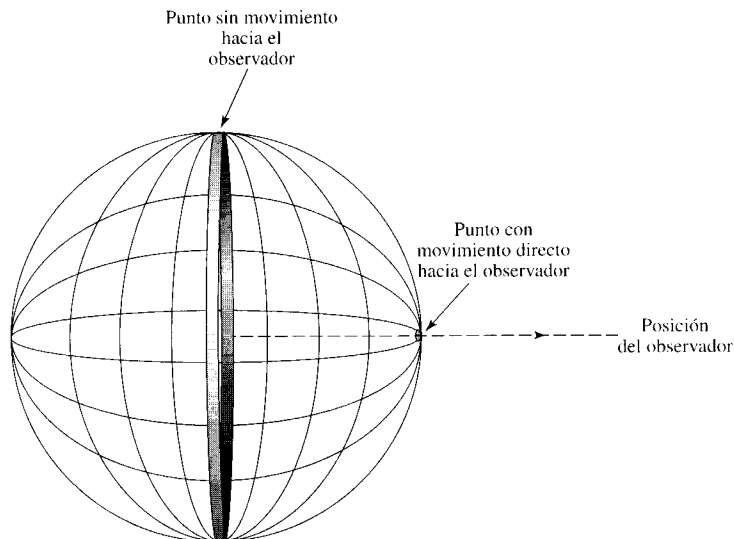


FIGURA 9B.2 ►
Distribución direccional de
fuentes que se mueven al azar.

anchura de línea decrece, al igual que la raíz cuadrada de la temperatura, por partículas que se mueven al azar.

Alguien puede razonablemente preguntarse: si los movimientos de los átomos amplían la línea de emisión, ¿por qué esta línea sigue teniendo un pico alto y aparece con la misma frecuencia original? La respuesta es que muy pocos átomos se mueven directamente hacia el observador, o alejándose de él. La razón se puede ver en la Figura 9B.2. La esfera representa las direcciones aleatorias del movimiento de los átomos. El número fraccionario que se dirige al punto de observación es la pequeña área gris atravesada por la línea de puntos. Por otro lado, el número de moléculas que tienen movimiento nulo hacia esa dirección es proporcional al área mucho mayor de la línea gris, que forma una circunferencia. Los átomos que se mueven entre estos dos extremos aportan una cantidad proporcional al área correspondiente. Esta diferencia de distribución direccional asegura que el pico central se mantenga en la misma posición, con independencia de la magnitud de ensanchamiento por el efecto Doppler. Si las partículas no se están moviendo al azar, toda la línea espectroscópica se mueve, como en la luz desplazada hacia el rojo de las estrellas que se alejan.

9C. Profundizando: espectrómetros de rayos X de longitud de onda dispersiva

La óptica holográfica se estudia en la Sección 8A.

La relación entre la dispersión y la separación de las líneas de la red de difracción se explica en la Sección 8A.

Los espectrómetros de rayos X de longitud de onda dispersiva emplean, al igual que otros instrumentos fluorescentes, monocromadores con red de difracción para descomponer la luz emitida. Se consigue una mejor descomposición si las «líneas» de la red de difracción están más cerca unas de otras. Sin embargo, para la longitud de onda de rayos X de unos 100-200 pm (1-2 Å), la red de difracción que se utiliza es un cristal. Funciona de forma similar a la óptica holográfica. Los planos de densidad variable de la red de difracción son los planos de los átomos del cristal. Esto se ilustra en la Figura 9C.1. La condición para la interferencia constructiva es:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (9C-1)$$

Esto recordará a la ecuación para la difracción por multirranuras, que describe los ángulos que producen zonas iluminadas. La ecuación se diferencia de la ecuación 8A-4 en el factor 2, porque los planos de reflexión se encuentran uno detrás de otro, y la luz

FIGURA 9C.1 ►
Cristal monocromador.

Un cristal actúa, para los rayos X, como una red de difracción holográfica. Esto se explica mediante una descripción que suponga que cada plano de átomos hace de reflector de los rayos X.

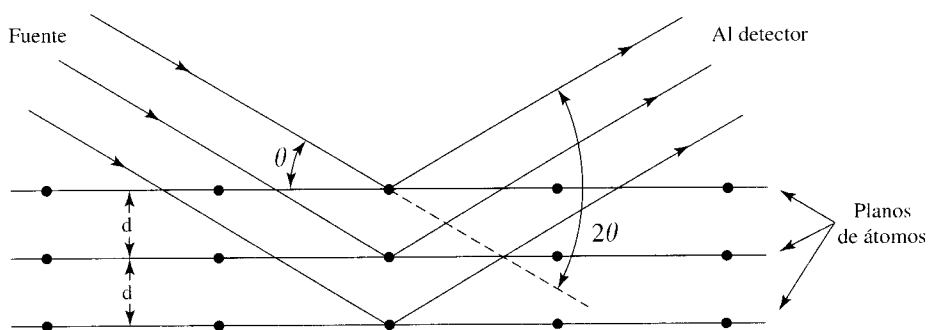
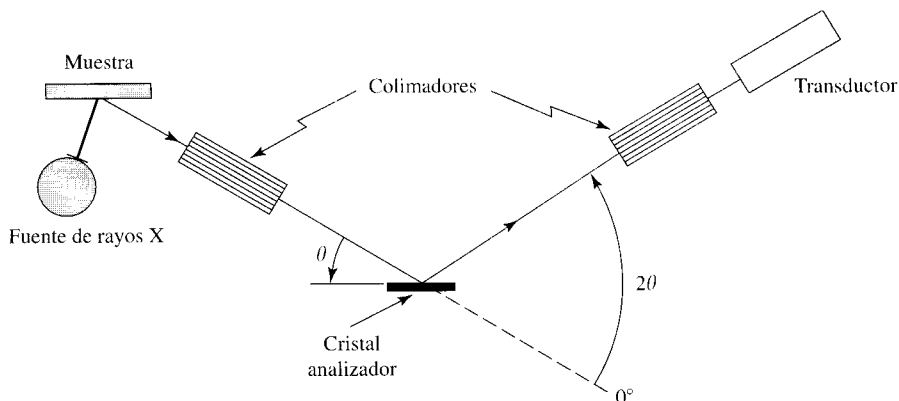


FIGURA 9C.2 ►
Disposición general de los componentes de un espectrómetro fluorescente de rayos X de longitud de onda dispersiva.

La radiación que proviene de la muestra pasa a través de un colimador hasta un cristal analizador. La radiación difractada pasa entonces a un detector. La longitud de onda se examina haciendo rotar el cristal una serie de ángulos y moviendo el detector el doble del ángulo rotado.



tiene que viajar dos veces a lo largo de la distancia entre planos. En el caso de rayos X que reaccionen con cristales la Ecuación 9C-1 se denomina normalmente **ecuación de Bragg**. El ángulo θ es el que aparece en las Figuras 9C.1 y 9C.2.

Para detectar la radiación en la serie de longitudes de onda de rayos X, mientras el cristal de dispersión está rotando, el detector de rayos X ha de moverse al doble de la velocidad angular a la que gira el cristal (véase Figura 9C.2). Esto se debe hacer porque el ángulo de incidencia y de refracción son iguales a θ , como en la reflexión de un espejo. Por consiguiente, los espectros de dispersión de longitud de onda pueden representarse como intensidad *versus* 2θ , el ángulo del detector. Mediante la ecuación de Bragg este ángulo puede transformarse en escalas de longitud de onda o de energía.

La estructura del instrumento obliga a que el cristal monocromador tenga un requisito más. Ha de haber un espaciado « d » tal que la longitud de onda más corta del espectro tenga un valor 2θ mayor que unos 10° . De otra forma, con las longitudes de onda más cortas el haz primario de rayos X iluminaría directamente al detector, añadiendo un fondo ajeno.

Las cualidades del cristal que produce la difracción son cruciales para el funcionamiento efectivo del instrumento. Además de difractar los rayos X, la materia de que está compuesto el cristal no debe ser fluorescente en la zona de rayos X que interesa. Por esta razón, los cristales que se emplean están compuestos de elementos con números atómicos bajos, como LiF, NaCl, SiO₂, Si, etilendiamina ditratrato y grafito. Si bien estos materiales emiten en la zona de rayos X, las emisiones de relativa baja energía son fuertemente absorbidas por el aire del interior del instrumento y por la ventana del detector. Así, apenas ocasionan radiación de fondo (luz dispersa) del instrumento.

Los transductores utilizados con espectrómetros de dispersión de longitud de onda tienen algunas características comunes. Todos pueden registrar fotones individuales de rayos X, por lo que a estos detectores se los denomina «contadores». Todo contador de

rayos X tiene un límite en la velocidad a la que puede contar fotones de forma precisa. Por ejemplo, si dos fotones entran en la zona activa de un contador exactamente al mismo tiempo, el contador sólo registrará una entrada. Si el segundo fotón llega unos pocos μs después que el primero, se registran dos sucesos por separado. Se denomina **tiempo muerto** al tiempo más corto transcurrido entre dos llegadas, dentro del cual el instrumento pueda separar los dos sucesos. Si los fotones llegan demasiado rápido y el contador no los cuenta todos, la cantidad que registra es más baja que el número real de fotones. Este error se denomina **pérdida de tiempo muerto**. La pérdida de tiempo muerto puede ser tenida en cuenta y corregida. A pesar de todo, esta propiedad limita la intensidad de la radiación que puede usarse para obtener espectros de fluorescencia de rayos X.

9D. Profundizando: espectrómetros de rayos X (EDX) de energía dispersiva

Los espectrómetros dispersivos de energía funcionan sin monocromador que disperse los rayos X secundarios. En lugar de esto, la fluorescencia de la muestra incide en el mismo transductor. El transductor y la electrónica asociada producen un espectro de rayos X de intensidad *versus* energía de los rayos X (longitud de onda), siempre que cada vez sólo reaccione un fotón con el transductor. En la Figura 9D.1 se recoge la estructura general del instrumento.

Un tipo de detector de estado sólido —el corazón del instrumento— es un diodo compuesto de silicio puro barnizado de un lado a otro con litio, que se mantiene a un voltaje (denominado **voltaje parcial**) de unos 1000 V. El voltaje parcial se aplica a electrodos de oro que se encuentran sobre las caras del cristal barnizado. Nos referiremos a este transductor como detector de Si(Li). El detector se mantiene a $-196\text{ }^\circ\text{C}$, el punto de ebullición del nitrógeno líquido, para reducir las interferencias electrónicas. Se aísla del área de la muestra mediante una ventana de hoja de berilio, un elemento de bajo número atómico, y relativamente transparente a los rayos X de los elementos analizables.

Como en cualquier espectrometría, cuanto más cerca estén las líneas mejor resolución habrá. Para detectores de Si(Li) la resolución espectral (atmm) para la línea de

En la Sección 8C se amplía la explicación sobre el funcionamiento de un detector de Si(Li).

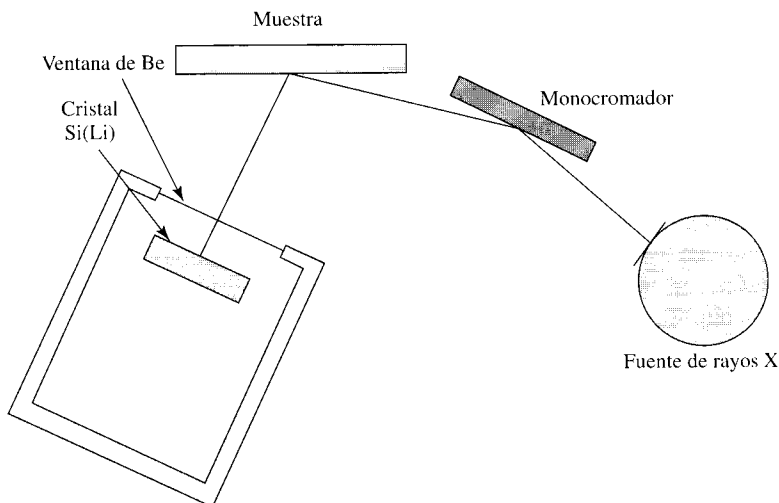


FIGURA 9D.1 ►
Esquema general de un
espectrómetro de rayos X
dispersivo de energía.

El detector de Si(Li) se mantiene a una temperatura cercana a la del nitrógeno líquido ($77\text{ }^\circ\text{K}$).

MnK_{α} está dentro del intervalo de 150-180 eV. Los resultados se pueden ver en la Figura 9.27: las líneas K de los elementos pueden resolverse.

La electrónica asociada para el cálculo de pulsos es tan importante para la resolución como las propiedades del transductor. La corriente de un fotón individual de rayos X que se produce en el detector de Si(Li) se amplifica e introduce en un analizador multicanal (AMC). Con la adecuada calibración, la escala del número de canal puede ser reconvertida en energía.

La clasificación de los pulsos de energía tarda un tiempo limitado. Mientras se están realizando el cálculo y la clasificación no se pueden registrar los nuevos pulsos de corriente. Este lapso se denomina **tiempo muerto** del sistema. Por consiguiente, hay un límite superior a la intensidad de la radiación procedente de la muestra, que puede utilizarse para llevar a cabo análisis cuantitativos exactos. El intervalo lineal se amplía corrigiendo las propiedades, correctamente comprendidas, de la estadística de cálculo de impulsos.

El tiempo real de recogida de información se denomina **tiempo vivo**. Éste es un dato del que se suele informar junto con los datos de fluorescencia de los rayos X de energía dispersivos. Los datos se van añadiendo a lo largo de un período de tiempo, para hacer la media de la interferencia.

Las fuentes de rayos X pueden ser tubos ordinarios de rayos X, en los que se bombardea un objetivo metálico con electrones kV. También pueden generarse como resultado de transformaciones nucleares de isótopos radiactivos, o en un sincrotrón.

9E. Profundizando: espectrómetros de electrones

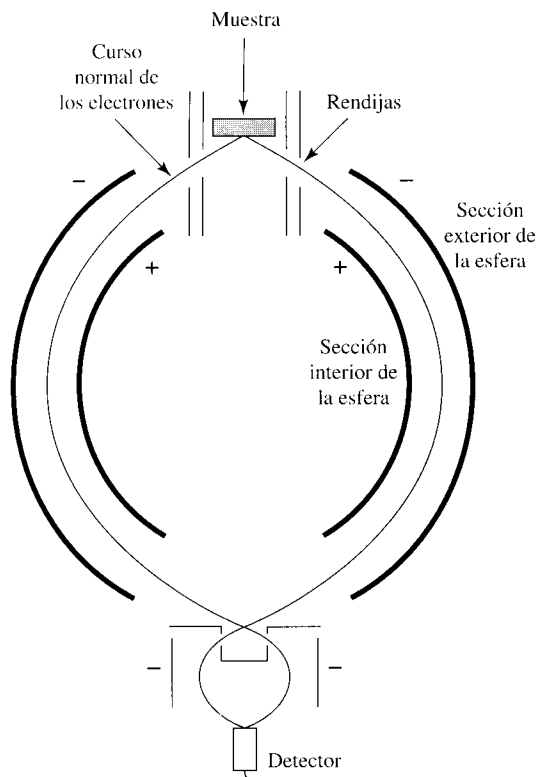
La fuente de energía de excitación para espectrómetros de electrones puede ser, bien fotones (para UPS, XPS o ESCA), bien un haz de electrones acelerados (para microsondas Auger y de electrones), o bien un haz de iones acelerados (para PIXE o SIMS).

En el otro extremo de un espectrómetro de electrones se encuentra un analizador de la energía cinética de los electrones, que es el equivalente de un monocromador en espectrometría óptica. Hay varias técnicas para realizar este análisis de energía. La mayoría emplean campos electrostáticos para separar y enfocar las partículas cargadas que emite la muestra. A continuación se explican dos de los tipos que se suelen utilizar. Las bases de su funcionamiento están representadas en las Figuras 9E.1 y 9E.2.

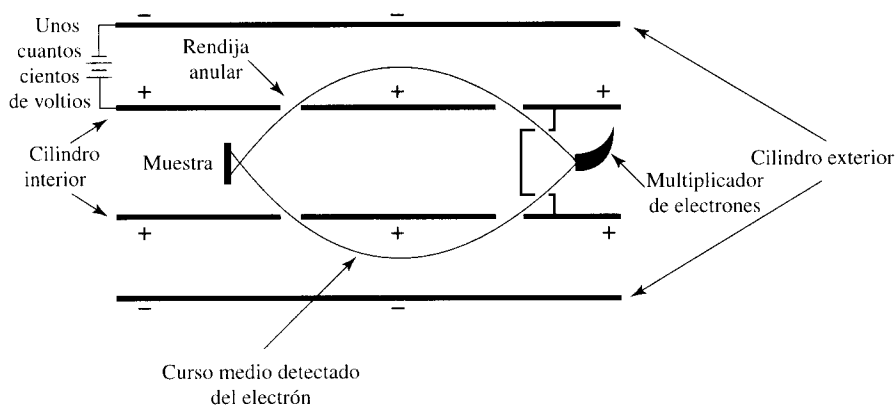
El **deflector hemisférico** se compone de placas cargadas —secciones de dos esferas concéntricas—, como se ilustra en el corte transversal de la Figura 9E.1. Eligiendo el potencial adecuadamente, los electrones con una energía cinética específica pueden ser dirigidos hacia la ranura del detector.

El **espejo cilíndrico** se denomina espejo porque los electrones son reflejados por un campo electrostático homogéneo que se genera entre dos cilindros concéntricos. Los electrones se introducen en el campo a través de la rendija del cilindro interior, y son canalizados de nuevo a través de otra rendija hacia el detector. Las rendijas rodean el cilindro completamente. Una de las ventajas importantes de este detector es su alta eficacia. Hasta un 10% de los electrones emitidos se canalizan hacia el detector. Cambiando el campo se logran dirigir diferentes energías cinéticas.

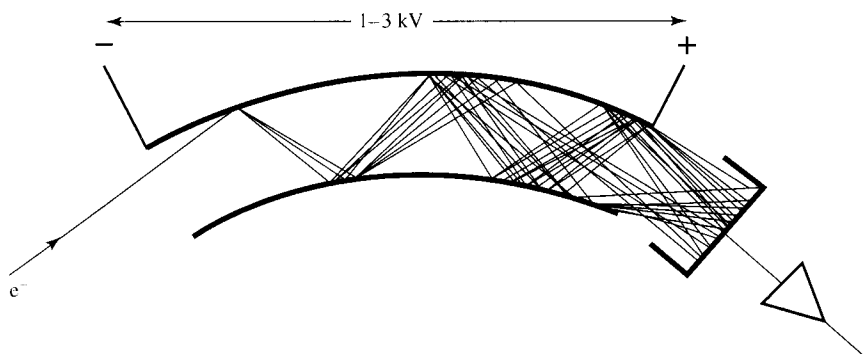
Como la espectrometría de electrones origina una corriente eléctrica, no se necesita transductor, pero sí es necesario amplificar la corriente significativamente. Buena parte de esta amplificación puede llevarse a cabo en un canal cilíndrico vacío, cuyas paredes están recubiertas de un material que emite electrones secundarios con facilidad. Véase la Figura 9E.3. En este caso, los electrones de la muestra son electrones primarios. Las paredes del canal son resistencias, con lo que unos pocos kV que circulan por toda



◀ FIGURA 9E.1
Esquema de deflector hemisférico, parte de la óptica de electrones de un XPS o espectrómetro Auger.



◀ FIGURA 9E.2
Diagrama de un espejo cilíndrico empleado para recoger y focalizar los electrones emitidos por los espectrómetros XPS y Auger.



◀ FIGURA 9E.3
Esquema del modo de operar de un multiplicador de electrones.

la longitud del cilindro, tal como se muestra en la figura, proporcionan una caída continua de potencial a lo largo de éste. El potencial acelera los electrones, haciendo que se forme una cascada amplificadora de electrones secundarios. Como se ve, este detector se parece al fotomultiplicador, pero sin los diodos separados.

Para los fotomultiplicadores véase figura 8C.4.

Bibliografía recomendada

AA, EEA, FRX

VARMA, A. 1991. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*. Boca Raton, FL: CRC Press.

VARMA, A. 1991. *Handbook of Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Trata dos de los sistemas más frecuentes de atomización. Con una buena introducción general a la técnica, incluye todos los factores que hay que tomar en cuenta y tiene una lista exhaustiva de aplicaciones (tanto para elementos específicos como para tipos específicos de muestras).

EBDON, L., EVANS, E. H., FISHER, A., HILL, S. J. 1998. *Analytical Atomic Spectrometry*. Chichester: John Wiley & Sons.

Más detallado que el presente texto, especialmente en absorción atómica con horno de grafito y anchuras de línea.

MONTASER, A., GOLIGHTLY, D. W. 1992. *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry*, 2ª ed., New York: VCH.

Todo lo que se desea saber sobre antorchas y plasmas para detección óptica y de masa. Una gran cantidad de información tanto teórica como práctica.

PAYLING, R., JONES, D., BENGTON, A. 1997. *Glow Discharge Optical Emission Spectrometry*. Chichester: John Wiley & Sons.

Un amplio estudio sobre la materia, con algunos capítulos realmente buenos sobre emisión atómica en general.

VAN LOON, J. C. 1980. *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy: Selected Methods*. New York: Academic Press.

La mayor parte de este libro se dedica a las aplicaciones de AA a áreas específicas de análisis. La información es valiosa a pesar de su antigüedad.

PARSONS, M. L., FORSTER, A., y ANDERSON, D. 1980. *An Atlas of Spectral Interferences in ICP Spectroscopy*. New York: Plenum.

Una relación de longitudes de onda analíticas para cada elemento y las posibles interferencias, junto con las longitudes de onda interferentes.

METCALFE, E. 1987. *Atomic Absorption and Emission Spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons.

Una guía sencilla de la mayoría de los aspectos del análisis convencional mediante AA y EA (hasta el año de su publicación).

LACHANCE, G. R., CLAISSE, F. 1995. *Quantitative X-ray Fluorescence Analysis: Theory and Application*. Chichester: John Wiley & Sons.

El Capítulo 9 (Analitical Strategies) debería ser leído por cualquiera que trate resultados de rayos X o suministre muestras. La mayor parte de este libro es un estudio especializado de los algoritmos y física de la medición, y de los efectos de matriz en análisis cuantitativo por fluorescencia de rayos X.

POTTS, P. J. 1987. *A Handbook of Silicate Rock Analysis*. Glasgow, London: Blackie.

A pesar de su título de manual especialista este libro constituye una magnífica introducción a numerosos detalles experimentales de casi todos los métodos instrumentales. Los capítulos sobre espectrometría de rayos X son especialmente buenos. Muy recomendable.

JENNIS, S. W., KATZ, S. A., LYNCH, R. W. 1997. *Applications of Atomic Spectrometry to Regulatory Compliance Monitoring*, 2ª ed. New York: Wiley-VCH.

Este trabajo contiene referencias a los análisis específicos de elementos requeridos por los cuerpos reguladores de los Estados Unidos, así como breves nociones generales de estos análisis. Hay distintos capítulos para el agua, aire, residuos, muestras biológicas y alimentos.

Artículos sobre AA y AES

MEEKS, F. F. 1993. «Electron number density in a slightly ionized gas (argon inductively coupled plasma).» *Spectrochim. Acta*. 48B. 1537-1549.

Muestra cómo las temperaturas del ICP giran en torno a los 3000 K, y las de las llamas en torno a los 500 K, y cómo una sola temperatura tiene que caracterizar un plasma. Escrito con claridad.

YAN, X.-P., NI, Z.-M. 1994. «Vapour generation atomic absorption spectrometry.» *Anal. Chim. Acta*. 291: 89-105.

Un repaso útil de las técnicas de generación de hidruro y de su posterior atomización por espectrometría atómica.

STEPHENS, R. 1980. «Zeeman Modulated Atomic Absorption Spectroscopy.» *Crit. Rev. Anal. Chem.* 9, 167-195.

ALCOCK, N. 1993. «Flame, Flammness, and Plasma Spectroscopy.» *Anal. Chem.* 65, 463-469R.

JACKSON, K. W., CHEN, G. 1996. «Atomic Absorption, Atomic Emission, and Flame Emission Spectroscopy.» *Anal. Chem.* 68, 231R-256R.

OLESIK, J. W. 1996. «Fundamental Research in ICP-OES and ICPMS.» *Anal. Chem.* 68, 469A-474A.

BROWN, S. D. 1977. «Zeeman Effect-Based Background Correction in Atomic Absorption Spectrometry.» *Anal. Chem.* 49, 1269A-1281A.

ALDERDICE, D. S., COLLINS, G., FOON, R. 1971. «Induced Electron Emission Processes and the Einstein Photoelectric Law.» *J. Chem. Ed.* 48, 720-724.

Métodos de superficie

O'CONNOR, D. J., SEXTON, B. A., SMART, R. S. C. 1992. *Surface Analysis Methods in Materials Science*. Berlin: Springer-Verlag.

Un libro bien escrito, y a un nivel excelente para continuar aprendiendo después de este libro de texto. Informa sobre aspectos importantes de los métodos de superficie sin entrar al detalle.

VICKERMAN, J. C. 1997. *Surface Analysis-The Principal Techniques*. Chichester: John Wiley & Sons.

Un libro notable, ilustrado con profusión y bien escrito, que trata la ESCA, la AES, la SIMS, la RBS, la LEED, la EXAFS el STM, ATM, la EELS y la INS.

SMITH, G. C. 1991. *Quantitative Surface Analysis for Materials Science*. Londres: The Institute of Metals.

Un libro corto con descripciones actualizadas de los métodos de análisis de superficie. Bueno, con un nivel elemental. Pocos ejemplos de aplicaciones.

WATTS, J. F. 1990. *An Introduction to Surface Analysis by Electron Spectroscopy*. New York: Oxford University Press.

Una pequeña monografía que muestra todo lo que pueden hacer las distintas técnicas de superficie, con ejemplos de aplicaciones de cada una. Vale la pena leer el capítulo que compara los métodos.

SMITH, G. C. 1994. *Surface Analysis by Electron Spectroscopy, Measurement and Interpretation*. New York: Plenum.

Un esclarecedor estudio sobre los factores que intervienen en la

realización de análisis cuantitativos y la obtención de imágenes mediante XPS y APS.

BARR, T. L. 1994. *Modern ESCA, The Principles and Practice of X-ray Photoelectron Spectroscopy*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Una monografía excelente. Libro notable, que explica con franqueza las dificultades de la práctica, los tipos de información de los detalles espectrales y los resultados prácticos que se pueden lograr en el análisis de superficie efectuado mediante ESCA. Muchos espectros en el interior.

BRIGGS, D., SEAH, M. P. 1990. *Practical Surface Analysis*. Vol. 1. *Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons.

BRIGGS, D., SEAH, M. P. 1990. *Practical Surface Analysis*. Vol. 2. *Ion and Neutral Spectroscopy*, 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons.

Describe prácticamente todo lo que la espectrometría de Auger y la XPS pueden hacer, y cómo se puede hacer. El volumen 2 trata sobre lo mismo con relación con la SIMS y la SNMS.

FERGUSON, I. F. 1989. *Auger Microprobe Analysis*. Bristol: Adam Hilger.

Un libro sumamente práctico, que comenta los análisis que se pueden hacer mediante espectrometría de Auger, y cómo hacerlos. Con desarrollos matemáticos sencillos cuando éstos se necesitan.

NAA

PARRY, S. J. 1991. *Activation Spectrometry in Chemical Analysis*. New York: John Wiley & Sons.

Una notable introducción al análisis de activación neutrónica, escrita con claridad. Hay un buen equilibrio entre la teoría básica y la información práctica y útil.

Ejercicios

9.1. Se ha diseñado un método para determinar el aluminio en suero y sangre mediante espectrometría ICP. Los datos de la tabla muestran las variaciones en la intensidad de emisión de

g/L. de Catión	Emisión de Al en presencia del catión			
	K	Na	Ca	Mg
3	—	195	—	—
1	192	188	—	—
0,75	186	182	—	—
0,50	178	174	181	152
0,25	166	159	172	146
0,10	149	142	159	133
0,05	139	134	148	127
0,01	118	116	126	116
0,00	100	100	100	100

aluminio (por encima de la línea de base y corregidas las impurezas de aluminio de los reactivos) en presencia de otros iones. Los aniones no tienen ningún efecto sobre la emisión a la longitud de onda de 396,15 nm. Los datos son registrados como emisión de aluminio, donde la intensidad para 1 mg/l de disolución se ajusta exactamente a 100. Los niveles normales del suero de la sangre se sitúan alrededor de 140 mM de Na, 6,5 mM de K, 3,4 mM de Ca y 1,6 mM de Mg. [Ref: Allain, P., Mauras, Y. 1979. *Anal. Chem.* 51, 2089.]

- (a) Los niveles normales de los cationes listados con suero pueden variar en un $\pm 2,5\%$. Estas variaciones pueden producir errores en el contenido del aluminio medido. ¿Qué catión producirá el mayor error en la medida del aluminio si su concentración normal en suero varía en un $\pm 2,5\%$?
- (b) El protocolo de análisis requiere que toda la sangre se diluya por un factor 10 antes de ser aspirada en un ICP. Si se realiza esta dilución, ¿qué catión producirá el

mayor error en la medida de aluminio si su concentración varía en un $\pm 2,5\%$?

- (c) ¿Cómo reduciría al mínimo el problema ocasionado por las variaciones de intensidad en el contenido metálico del suero?

9.2. Dados los potenciales de ionización del potasio, rubidio y cesio (419, 403 y 376 kJ/mol respectivamente):

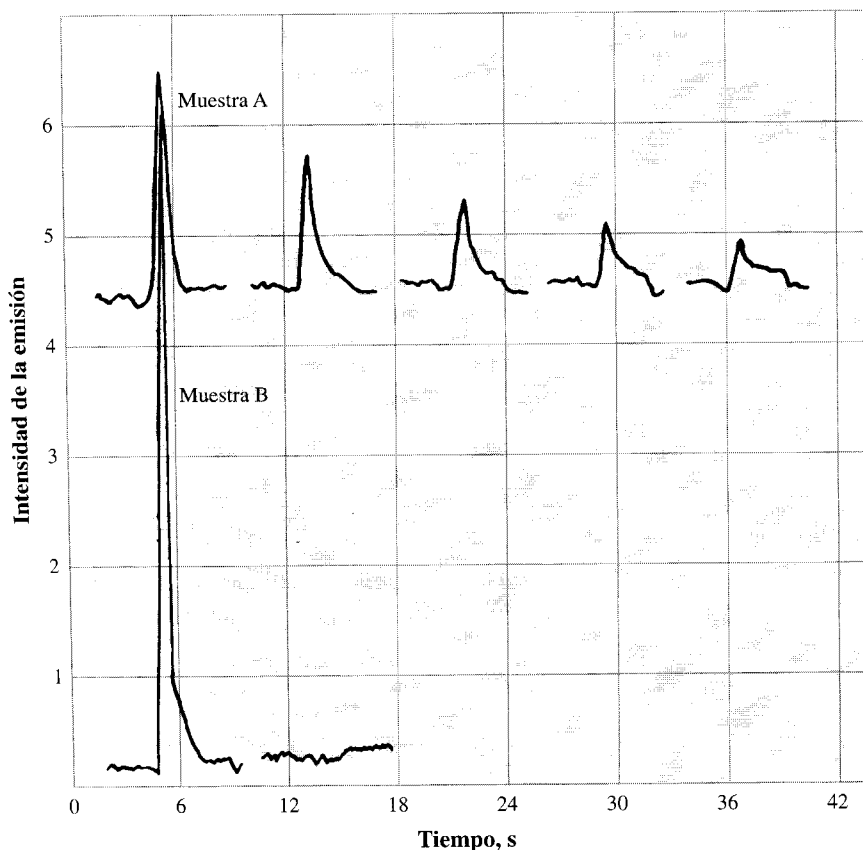
- (a) Calcúlese el potencial de ionización de un solo átomo de cada uno de los elementos.
 (b) Utilizando las respuestas de (a) calcúlese el valor de N/N_0 para cada uno de los elementos, a 2200 °K (una temperatura normal de horno de grafito) y a 3000 °K (más o menos la temperatura del ICP).

9.3. La Figura 9.3.1 muestra las señales de emisión de litio, que se producen cuando se evaporan las muestras dentro de un horno de grafito y se introduce el vapor en un espectrómetro de ICP. El grafito es algo poroso, por lo que para mejorar la calidad de la vaporización de la muestra se trata la superficie interior del tubo de grafito de dos maneras. Para comprobar los efectos del tratamiento, antes de introducir la muestra se calienta el horno, se deja enfriar, y se vuelve a calentar como al principio. La señal se examina en cada ciclo de calentamiento. Observando la figura queda claro el comportamiento bien distinto de los dos tratamientos. En la

muestra B (1 ng de Li en la superficie del horno) todo el litio que aparentemente puede desprenderse lo hace en un solo calentamiento; el calentamiento de descontaminación no presenta ninguna otra señal de Li. En la muestra A (10 ng de Li) hubo un «efecto memoria» bastante más prolongado de la muestra. [Ref.: Ng, K. C., Caruso, J. A. 1982. *Anal. Chim. Acta.* 143, 209.]

- (a) Suponiendo que el área de la señal de B se produce por todo el litio de la muestra, ¿qué parte de la muestra A se vaporizó y fue llevada al ICP en el primer calentamiento?
 (b) Después de calentar la muestra A cinco veces, ¿qué parte del Li original se ha vaporizado y ha llegado hasta el ICP?

9.4. Debido a la inestabilidad de la llama y a la complejidad de la matriz es complicado determinar el sodio y potasio en suero o sangre mediante la emisión de llama de baja temperatura sobre instrumentos simples. Una forma de solucionar estos problemas es añadir un exceso de litio que sirva tanto para suprimir la ionización como de estándar interno. La razón de que pueda servir de estándar interno es que la emisión de litio responde a los cambios de las condiciones de la llama de forma parecida a como lo hacen el Na y el K. En la tabla inferior se recogen las respuestas halladas para las disoluciones de calibración de la tabla superior.



◀ FIGURA 9.3.1

Concentración (ppm)

Muestra	Na	K	Li
a	0,5	0,5	500
b	1,0	1,0	500
c	5,0	5,0	500
d	10,0	10,0	500

Señal (relativa al Na en muestra de Na de 1,0 ppm)

Muestra	Na	K	Li
a	0,43	0,57	31,2
b	1,00	1,25	36,3
c	4,9	6,4	36,2
d	8,8	11,7	31,7

- (a) Trazar las curvas de calibración de Na y K estando presente Li como estándar interno.
- (b) Se diluyó una muestra de sangre de 10 μL en 1,00 mL de 5000 ppm de disolución de Li. Esto se diluyó otra vez en 10,00 mL de agua doblemente destilada, y se introdujo en el espectrómetro. Resultaron unas lecturas de 2,9 de Na, K por debajo de nivel de detección, y 32,5 de Li. Se toma una segunda muestra de 10 μL y se diluye en 2,00 mL de una disolución de Li. Ahora la lectura es 13,6 de Na, 1,34 de K y 30,4 de Li. ¿Cuáles son las concentraciones en mM en suero de Na y K? Suponemos que el Na y el K no se interfieren.

9.5. Como se dijo en la Sección 9.11, la fluorescencia de rayos X no es muy sensible para elementos de bajo número atómico como el carbono, que tiene un rendimiento de fluorescencia de 0,0026. (En otras palabras, se producen 26 fotones de rayos X por cada 10000 vacantes de electrón generadas.) Los avances de los últimos años en monocromadores, ventanas y detectores han hecho que determinar el carbono sea por lo menos factible. La exactitud de los ensayos está limitada principalmente por las estadísticas de cálculo de cuentas en la medición. En las condiciones aquí expuestas el número total de cuentas M tiene una desviación estándar de \sqrt{M} .

	% C	Cálculos medidos (M)	Velocidad de cálculo, R (cps)
Acero rico en carbono	0,34	2500	
Acero bajo en carbono	0,030	287	
Fondo	—	31	

Una acería produce aceros con diferente contenido en carbono. Se quiere analizar el contenido de carbono de todos ellos en un tiempo razonable y con el mismo instrumento de longitud de onda dispersiva. También se quiere saber el tiempo que se tarda para el análisis de acero bajo en carbono, y compararlo con el del acero rico en carbono, siempre que resulte la misma desviación estándar. Se obtuvieron los siguientes datos en cuanto a los estándares, con períodos de conteo de 200 s.

- (a) Complétese la tabla determinando las cuentas por segundo, R .
- (b) Suponiendo que se pueda determinar el tiempo de manera mucho más precisa que el número de cuentas, demuéstrese que la desviación estándar relativa (RSD) para la velocidad de conteo viene dada por:

$$\frac{r}{R} = \frac{1}{\sqrt{M}}$$

- (c) Demuéstrese que la desviación estándar absoluta de la velocidad de conteo es:

$$r = \sqrt{\frac{R}{t}}$$

- (d) El trazado de calibración es una gráfica de la velocidad de conteo corregida, R_{corr} , versus %C, donde:

$$R_{\text{corr}} = R_{\text{medido}} - R_{\text{fondo}}$$

¿Cuál es la ecuación de r_{corr} , la desviación estándar absoluta de R_{corr} ?

- (e) Calcúlese el tiempo mínimo de conteo requerido en el acero bajo en carbono para conseguir una DER de menos del 5%.

9.6. La Figura 9.6.1 muestra resultados duplicados obtenidos mediante absorción atómica con horno de grafito con corrector Zeeman, en donde se representa la absorción a 228,8 nm versus tiempo. El análisis implica determinar el Cd existente en un zumo de fruta. Se introduce el zumo en el horno de grafito sin tratamiento previo. Cada punto se corresponde con una vaporización en el horno de grafito de 10 μL de muestra, adicionada como se muestra en la figura. ¿Qué concentración de Cd hay en el zumo de fruta?

9.7. En un horno de grafito, la velocidad de atomización de los analitos se controla cinéticamente, y depende de la composición de la matriz. La Figura 9.7.1 muestra el efecto del calcio sobre la señal del aluminio. Las muestras consistían, respectivamente, en 1,0 ng de Al solo y una mezcla de (1,0 ng de Al + 10,0 ng de Ca). Evidentemente, la altura de los picos no es la misma, y no se pueden comparar.

- (a) ¿Pueden emplearse las áreas del pico para cuantificar el Al si se considera aceptable una precisión de $\pm 5\%$?
- (b) ¿Qué condiciones proporciona la mayor sensibilidad?

9.8. El hidrógeno atómico posee uno de los espectros de emisión más simples de todos los elementos. A pesar de eso, como las líneas de emisión pueden surgir de

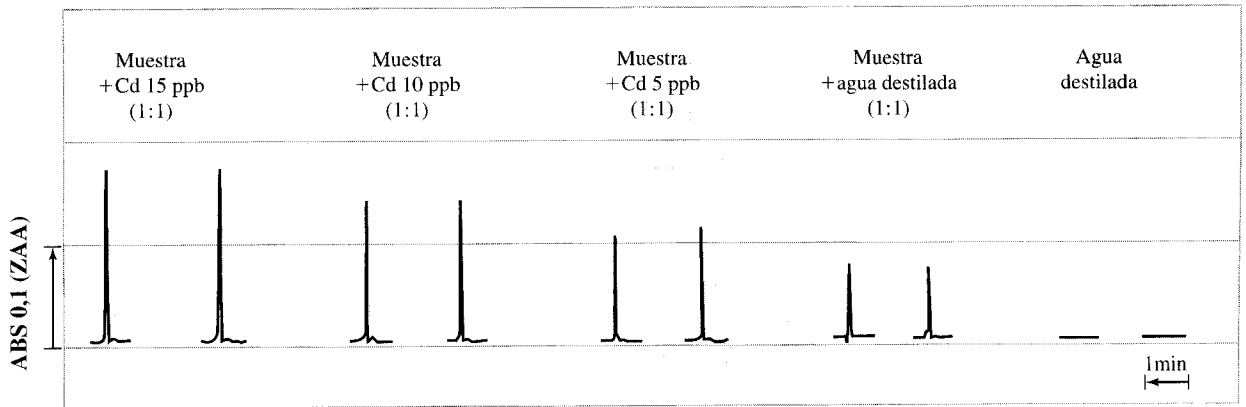


FIGURA 9.6.1 ▲
[Figura por cortesía de Hitachi Instruments.]

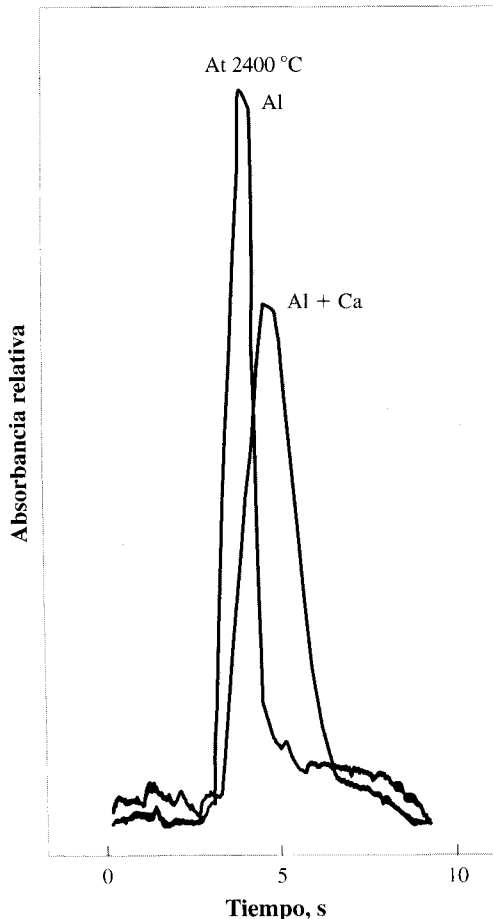


FIGURA 9.7.1 ▲
[Figura reimpressa de Hwang, J. Y., Thomas, G. P. 1977. In «Spectroscopy» Series II, Vol. II, p. 88. Fairfield, CT: Intl. Scientific Communications. Copyright 1977 by International Scientific Communications, Inc.]

transiciones entre dos niveles cualesquiera, surgen numerosas líneas de sólo unos pocos niveles. La emisión de longitudes de onda de hidrógeno puede calcularse con la expresión simple:

$$\frac{1}{\lambda} = R \cdot \left(\frac{1}{m^2} - \frac{1}{n^2} \right); \quad n > m$$

en la que $R = 109677,8 \text{ cm}^{-1}$ para el espectro en un vacío. Dicho espectro se recoge en la siguiente tabla:

Espectro de emisión de longitudes de onda del hidrógeno atómico (en nm), de 365,6 a 656,3 nm

365,66	366,22	366,94	368,28	371,19	379,79	434,05
365,76	366,34	367,13	368,68	372,19	383,54	486,13
365,80	366,46	367,37	369,15	373,44	388,90	656,28
366,03	366,61	367,63	369,71	375,01	397,00	—
366,12	366,77	367,94	370,38	377,00	410,17	—

- (a) Calcúlense los valores de las diferencias entre los niveles de energía. ¿Cuántas líneas del espectro estudiado pueden señalarse? Puede usarse un programa corto de computadora o una hoja de cálculo para las operaciones.
- (b) Puede que los números calculados no cuadren muy bien con los valores medidos, porque el espectro se midió en aire. Considerando la diferencia entre los valores calculados y los medidos, hállese el índice de refracción del aire. (Recuérdese que el índice de refracción es siempre mayor que 1.)

*9.9. Analizar iones metálicos en piedra caliza es complicado, porque las concentraciones de Ca cambian de una muestra a otra. Las sensibilidades relativas (comparadas con la sensibilidad en $[\text{Ca}^{2+}] = 0$) del Co y del Cu quedan descritas por las siguientes ecuaciones (las concentraciones de calcio se dan, para las muestras, en $\mu\text{g mL}^{-1}$):

Concentración de calcio ppm (p/v)	Nivel de emisión esperada de metal solo	Nivel de emisión con Ca^{2+} presente	Diferencia porcentual
Cu	500		
	1000		
	2000		
	5000		
	10000		
Co	500		
	1000		
	2000		
	5000		
	10000		

Para el Cu:

$$\text{Sensibilidad relativa} = 0,996 - 9,86 \times 10^{-6}[\text{Ca}] + 4,07 \times 10^{-10}[\text{Ca}]^2$$

Para el Co:

$$\text{Sensibilidad relativa} = 1000 - 5,15 \times 10^{-5}[\text{Ca}] + 2,81 \times 10^{-9}[\text{Ca}]^2$$

Supóngase que en las condiciones experimentales empleadas las sensibilidades del Co y el Cu fueran 42 ppm^{-1} y 74 ppm^{-1} (intensidad de emisión en unidades arbitrarias en una escala lineal) para estándares sin calcio. Realícense cuatro tablas que recojan la emisión esperada con varios niveles de calcio en presencia de cuatro concentraciones de ion metálico para el Co y el Cu. Las concentraciones de Co y Cu son:

- 0,10 ppm
- 0,50 ppm
- 1,0 ppm
- 5,0 ppm

En la tabla se dan las concentraciones de calcio. [Ref.: Thompson, M., Ramsey, J. J. 1985. *Analyst*, **110**, 1413.]

***9.10.** La intoxicación por cadmio afecta al riñón, y puede acabar por provocar una disfunción renal. Esto ocurre a niveles tan pequeños como $50 \mu\text{g/g}$ en corteza del riñón. Por eso,

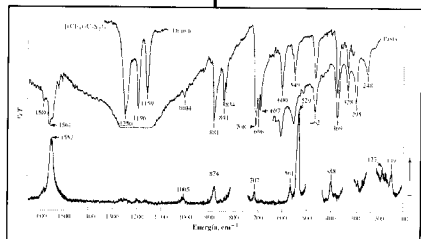
analizar el riñón *in vivo* en busca de cadmio es importante para controlar a los trabajadores de factorías donde se fabriquen pilas de NiCad. Por otra parte, fumar es una manera de exponer al cadmio al público en general. Según los valores de abajo, ¿está limitando de forma correcta la fábrica de pilas Zot Energetics los niveles de exposición al cadmio? Con otras palabras, ¿hay alguna diferencia en la media de los niveles de cadmio de los dos grupos examinados, comparados con el público en general, con un nivel de confianza del 95%? Compárese los trabajadores fumadores con los no fumadores, y luego a los trabajadores fumadores y no fumadores *versus* sus grupos de control respectivos.

Grupo de control (no trabajan en la fábrica)			
	[Cd], ppm	s	N
Fumadores	20	± 15	10
No fumadores	5	± 2	8

Datos de los trabajadores de la fábrica			
Muestra	Cuentas	Muestra	Cuentas
Estándares (riñones de caballo)			
1,0 ppm	585	50,0 ppm	27263
5,0 ppm	2670	100,0 ppm	58999
10,0 ppm	6024	500,0 ppm	272466
Trabajadores fumadores			
Trabajador 1	15437	Trabajador 5	10410
Trabajador 2	2074	Trabajador 6	12444
Trabajador 3	7233	Trabajador 7	3665
Trabajador 4	4220	Trabajador 8	10167
Trabajadores no fumadores			
Trabajador 1	2033	Trabajador 4	1673
Trabajador 2	6344	Trabajador 5	7110
Trabajador 3	6001	Trabajador 6	4337

[Valores de niveles típicos de Cd, basados en datos de Nilsson, U., Skerfving, S. 1993. *Scand. J. Work. Environ. Health*, 19 suppl. 1:54-58.]

CAPÍTULO



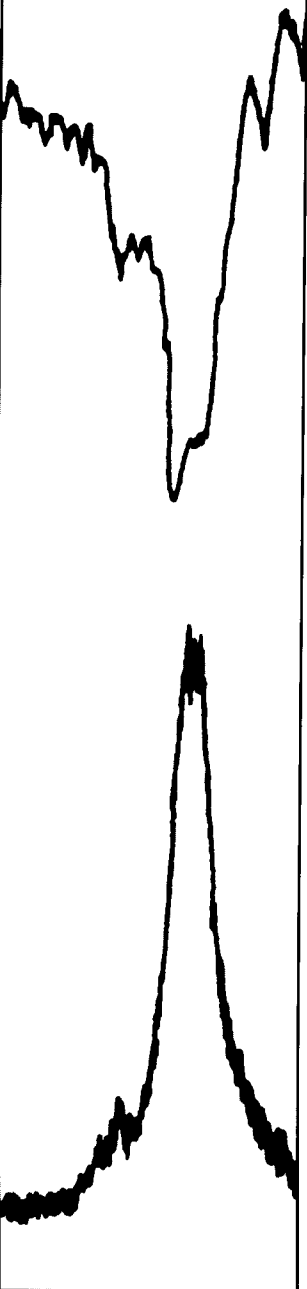
Espectroscopias infrarroja y Raman: espectroscopias vibracionales

Contenido

- 10.1. Introducción
- 10.2. Frecuencias vibracionales
- 10.3. Modos normales vibracionales
- 10.4. Información cualitativa de los espectros IR
- 10.5. Espectros Raman
- 10.6. Muestras para espectroscopia infrarroja y Raman
- 10.7. Intensidades de banda de los espectros vibracionales
- 10.8. Análisis cuantitativo
- 10.9. Microespectroscopia infrarroja y Raman

Profundizando

- 10A. Espectroscopios Raman
- 10B. Frecuencias características



10.1. Introducción

Las espectroscopias Raman e infrarroja (IR) se utilizan para analizar las características vibracionales de moléculas, estructuras cristalinas y cristales, utilizando para ello diferentes tipos de muestras y diferentes instrumentaciones.

Los espectros aparecen con numerosas bandas características en el intervalo del espectro infrarrojo (sobre 100 cm^{-1} a 1000 cm^{-1}), cada una con un fwhm de $4\text{--}7\text{ cm}^{-1}$. Aparecen bandas significativamente más estrechas en los espectros de los gases. Se pueden asociar bandas individuales con grupos químicos específicos, tales como el grupo carbonilo, $>\text{C}=\text{O}$, o cloro orgánico, $-\text{C}-\text{Cl}$. Como ocurre en todas las espectroscopias, las energías a las cuales aparecen las bandas dependen de las propiedades de las moléculas, mientras que se pueden utilizar las magnitudes de las bandas individuales para determinar las concentraciones.

Los espectros son a menudo complicados, y rara vez se puede asignar cada banda de una molécula a grupos específicos. Únicamente en las moléculas más simples se pueden asignar todas las bandas con movimientos atómicos específicos. Sin embargo, un conocimiento incompleto de los espectros no disminuye su utilidad para realizar análisis cuantitativos y cualitativos. La espectroscopia infrarroja, en combinación con la espectroscopia de masas y con la resonancia magnética nuclear, forma la base del análisis químico orgánico cualitativo contemporáneo: la identificación de la estructura molecular de compuestos y mezclas desconocidas. Sin embargo, después de una breve introducción, centraremos nuestra atención en el análisis cuantitativo.

Casi todos los instrumentos utilizados en espectroscopia infrarroja están equipados con sistemas de análisis que utilizan transformadas de Fourier de haz sencillo. Los espectros de las pruebas en blanco se obtienen y archivan, consultándose posteriormente estas pruebas para cada muestra analizada bajo idénticas condiciones. La descripción de estos instrumentos se tratará en el Capítulo 17, donde se incluyen sus principios de operación y algunos conceptos necesarios para comprender sus propiedades. Los espectrómetros Raman se describen en la Sección 10A.

Espectros infrarrojos

Tal y como se puede ver en la Figura 10.1, en espectroscopia infrarroja es habitual presentar los espectros como un gráfico de % T frente al número de ondas, cm^{-1} . Nótese que la escala del número de ondas no es lineal en todas las regiones. A menudo los espectros tienen una escala de longitud de onda en micras (μm), además de una escala en cm^{-1} . Además de disponer de las computadoras actuales, capaces de analizar los espectros de transformadas de Fourier, variar la escala de la absorbancia en la ordenada es tan sencillo como pulsar el botón del ratón de una computadora. Dependiendo del instrumento utilizado, el eje y será % T o A , y el eje x será cm^{-1} o μm . Se pueden encontrar en la literatura las cuatro combinaciones posibles.

La longitud de onda a la cual la energía se absorbe depende de:

a) la identidad de los átomos en la molécula;

b) la estructura molecular (por ejemplo, CH_3CHO , $\text{H}_2\text{C}-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_2$ y $\text{CH}_2=\text{CHOH}$: todos los isómeros de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ tienen espectros significativamente diferentes);

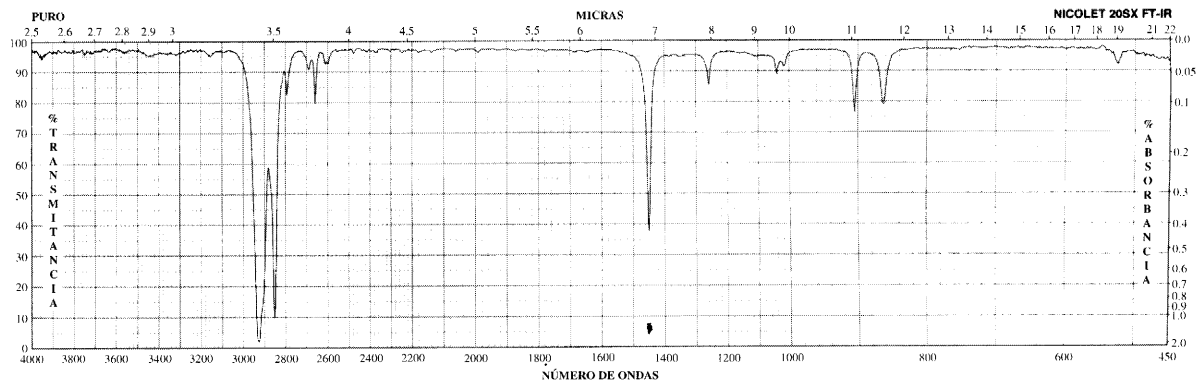
y
c) el enlace de los átomos (por ejemplo, $>\text{C}=\text{O}$ es distinto de $-\text{CH}_2-\text{O}-$).

Aldrich 15,474-1 CAS [110-82-7]
Ciclohexano, 99+%, A.C.S. Grado espectrofotométrico

C_6H_{12}
FW 84.16
mp 7°C

bp 81°C
d 0.779
 n_D^{20} 1.4260

Fp -1°F
FT-NMR: 1, 46C
VP-FT-IR: 3, 48D



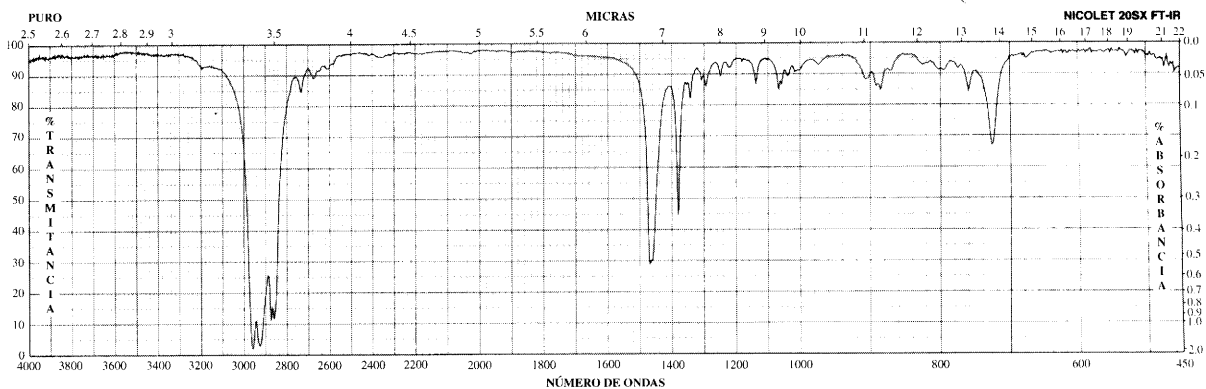
Aldrich 13,938-6
Hexano, 99+%

CAS [110-54-3]

C_6H_{14}
FW 86.18
mp -95°C

bp 69°C
d 0.659
 n_D^{20} 1.3750

Fp -10°F
FT-NMR: 1, 1B
VP-FT-IR: 3, 2B



Aldrich M6,580-7
2-metilpentano, 99+%

CAS [107-83-5]

C_6H_{14}
FW 86.18
mp -154°C

bp 62°C
d 0.653
 n_D^{20} 1.3710

Fp -10°F
FT-NMR: 1, 10C
VP-FT-IR: 3, 10A

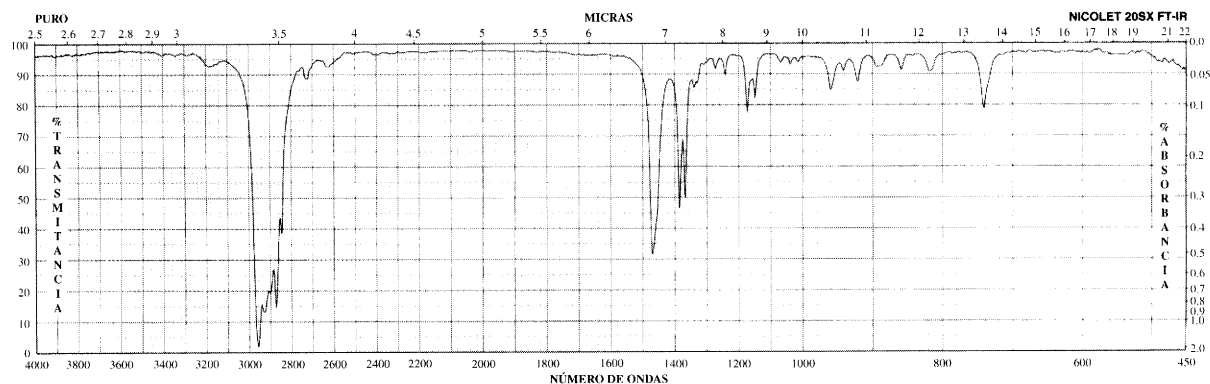


FIGURA 10.1 ▲
Espectros infrarrojos del (a) *n*-hexano, (b) 2-metilpentano y (c) ciclohexano.

Cada una de las muestras es un líquido puro. Los espectros (a) y (b) son isómeros; (c) es un compuesto cíclico y necesita únicamente dos protones. Los tres espectros juntos muestran la sensibilidad de los espectros infrarrojos con diferentes estructuras moleculares, así como la persistencia de algunas bandas asociadas a grupos químicos específicos.

El espectro de la energía de absorción debido a la excitación de las vibraciones moleculares es muy sensible a diferencias en la estructura. La sensibilidad se puede observar en los espectros infrarrojos de las tres moléculas parecidas mostradas en la Figura 10.1. Los espectros (a) y (b) provienen de dos isómeros del hexano. Aunque hay tres semejanzas evidentes en los espectros, también aparecen algunas diferencias significativas en el número de bandas y las longitudes de onda de las absorciones. Las tres diferencias más obvias son:

- la división de la banda a 1360 cm^{-1} ,
- las bandas alrededor de 1150 cm^{-1} , y
- la división del pico de longitud de onda entre 725 cm^{-1} y 740 cm^{-1} . (Son significativos los desplazamientos de esta magnitud en los espectros infrarrojos.)

Se observan mayores diferencias entre los espectros de las dos especies de hexano y el espectro del ciclohexano. Especialmente obvias son:

- las dos bandas entre 850 y 900 cm^{-1} ,
- el grupo de bandas entre 2700 y 3000 cm^{-1} ; y
- el ancho de banda entre 725 y 750 cm^{-1} , no presente en el espectro del ciclohexano.

No sólo son útiles las diferencias entre los espectros, las similitudes también son importantes. Por ejemplo, para estos tres alcanos, las bandas persistentes se encuentran en el intervalo $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ y $1450\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$. Debido a la sensibilidad a los enlaces y a la estructura, estas bandas pueden provenir de las vibraciones de grupos de átomos que aparecen en las tres moléculas: éstos son los grupos vibracionales C—H y C—C.

Estos espectros sencillos de la Figura 10.1 muestran que, en los espectros infrarrojos, algunas bandas son características para algunos grupos químicos específicos en las moléculas, tales como C—C y C—H, mientras que otros se utilizan para reconocer las estructuras de las moléculas. Veamos a continuación más en detalle algunos de los factores que determinan las frecuencias de las bandas vibracionales.

Por otra parte, merece la pena notar que las absorciones individuales estrechas de los espectros tienen anchuras de media altura (en % T) de menos de 10 cm^{-1} . Tal y como se puede ver en la Figura 10.2, las anchuras *aparentes* dependen de la transmitancia. Esto es una consecuencia de haber dibujado los espectros como una escala de % T .

10.2. Frecuencias vibracionales

Explicaremos el origen y los cambios de los espectros vibracionales utilizando las ideas del modelo siguiente, tal y como se ilustra en la Figura 10.3. Cada enlace químico actúa como un muelle que conecta dos átomos con masas M_1 y M_2 . El muelle sigue la ley de Hooke, que nos dice que el muelle ejerce una fuerza proporcional, cuando se ha comprimido o alargado, a la distancia desde su posición de equilibrio. La expresión algebraica es la siguiente:

$$\text{Fuerza} = -k \Delta x \quad (10-1)$$

donde k es una constante y Δx la distancia recorrida desde la posición de equilibrio, x_0 . El signo negativo indica que la fuerza tiene dirección opuesta a la posición del muelle respecto la posición de equilibrio: cuando se comprime el muelle, la fuerza que aparece tiende a estirarlo; cuando se estira, aparece una fuerza de compresión.

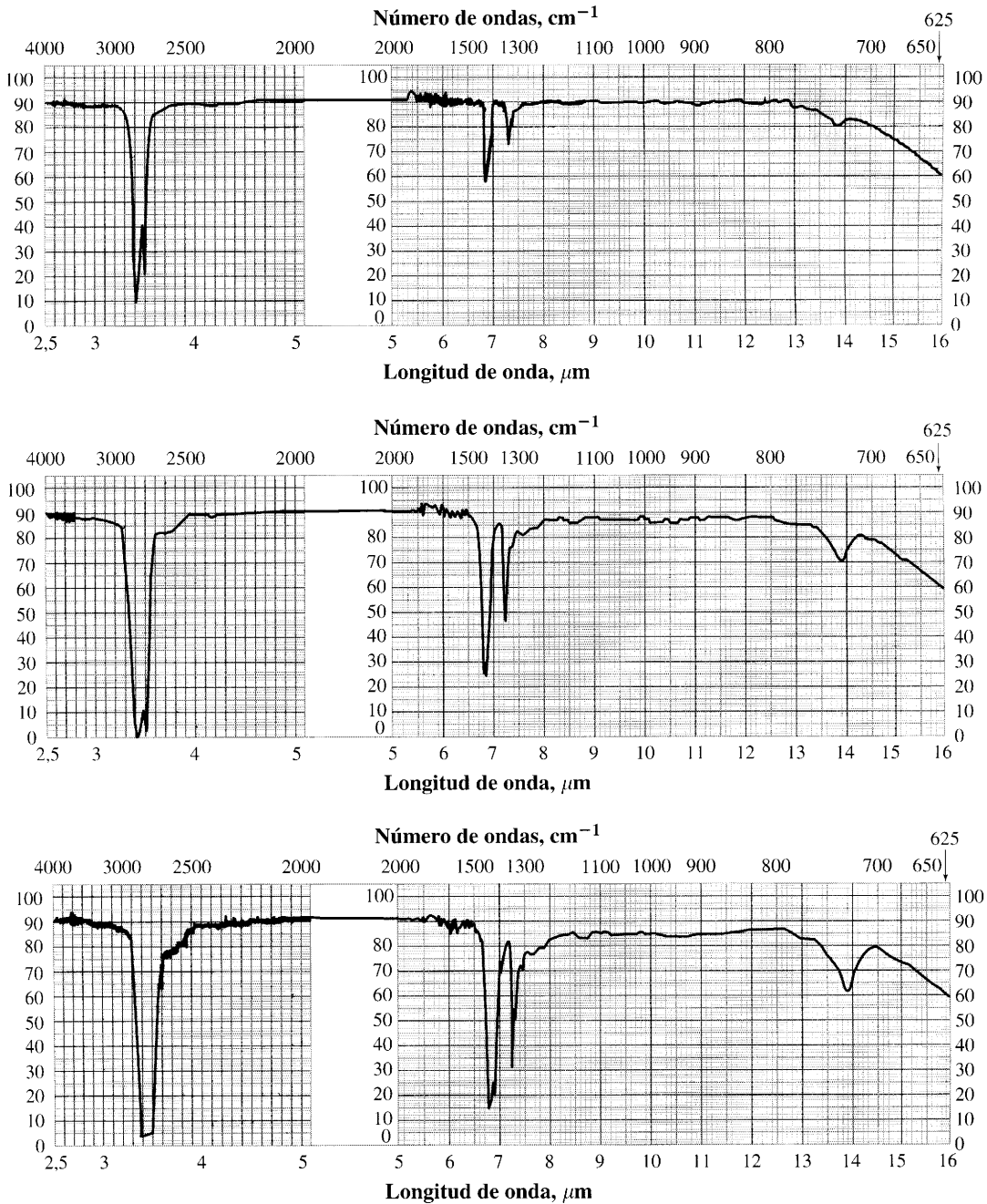


FIGURA 10.2 ▲

Los registros en % T tergiversan la relación entre la concentración y la altura de los picos.

Los registros de estos tres espectros son del mismo material, un aceite mineral (llamado *Nujol*). El líquido se dispone entre unos cristales de cloruro sódico. Aquí se pueden ver tres diferentes grosores de la lámina de este aceite. El decrecimiento en % T de la derecha se debe a la absorción del NaCl (tal y como podemos sospechar, ya que no aparecen cambios según el grosor de la lámina de *Nujol*).

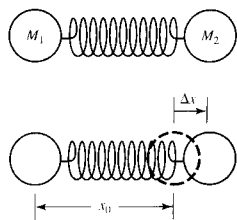


FIGURA 10.3 ▲
Los espectroscopistas describen las vibraciones moleculares como si las moléculas fuesen masas conectadas por muelles.

Para una molécula diatómica, la frecuencia natural vibracional es ν , y está relacionada con la constante de fuerza del muelle k , y las masas M_1 y M_2 , tal y como se muestra aquí. Δx es el desplazamiento desde el punto donde el muelle no está ni comprimido ni estirado.

Un grupo de masas unidas mediante muelles tiende a asentarse de manera natural con un movimiento específico cuando se agitan. Las masas vibran con una frecuencia que depende de las masas y de la fortaleza del muelle. Estas vibraciones, que aparecen con sus **frecuencias características**, son las que medimos en los espectros vibracionales.

Para moléculas diatómicas, la vibración se describe por la Ecuación 10-2:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (10-2)$$

donde:

ν es la frecuencia natural de vibración de las masas,
 k es la **constante de fuerza** del «muelle» del enlace químico, e indica la rapidez de cambio de la fuerza cuando ocurre una compresión o elongación (así, un valor alto de k indica un muelle «fuerte»), y
 μ es la **masa reducida**.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2} \quad \text{o} \quad \mu = \frac{M_1 M_2}{M_1 + M_2} \quad (10-3)$$

Obsérvese cómo cambia la frecuencia con el valor k y con las masas M_1 y M_2 . Si k fuese mayor, lo que conllevaría que el muelle fuese más rígido, entonces aparecería la frecuencia natural; la vibración sería más rápida. Por el contrario, si el muelle fuese más débil, k sería menor y la frecuencia natural desaparecería.

¿Qué ocurriría si cada una de las masas disminuyese utilizando el mismo muelle? En este caso, el valor de μ sería menor. Así, $1/\mu$ sería mayor, y, tal y como se puede deducir de la Ecuación 10-2, aparecería la frecuencia natural. De esta manera, una disminución en las masas produce el mismo efecto que un aumento de la fortaleza del muelle, y viceversa.

A continuación se muestran las reglas en las cuales hemos basado nuestra comprensión intuitiva de los cambios en los espectros vibracionales de las moléculas:

- A) *Cuanto más fuertes son los enlaces químicos mayores son las frecuencias observadas.*
- B) *Las masas atómicas menores tienden a originar frecuencias observadas mayores.*

La regla A sugiere que la frecuencia aumenta según trabajamos con grupos con enlaces C—N, C=N y C≡N, o cuando lo hacemos con grupos C—C a C=C ó C≡C. Esta tendencia se observa experimentalmente tal y como se expresa en la pequeña tabla de correlación (Tabla 10.1). Las moléculas que contienen los grupos especificados en la tabla, tienen espectros infrarrojos o Raman con bandas en las regiones de longitud de onda asociadas.

De la regla B, se espera que la frecuencia varíe con un cambio de las masas vibrantes. Una manera apreciable de observar estos efectos del cambio de las masas sin variar la constante de fuerza, es comparar los espectros vibracionales de moléculas iguales excepto en un átomo que ha sido sustituido por un isótopo. Los cambios más apreciables aparecen cuando el deuterio, ^2H , es sustituido por el hidrógeno, ^1H . La masa del deuterio es, aproximadamente, el doble que la del hidrógeno. Se observa un ejemplo sencillo de tal cambio en el espectro de la Figura 10.4, con el espectro infrarrojo del metanol con dos formas isotópicas diferentes, CH_3OD y CD_3OD . Todos los desplazamientos de las bandas con deuterio tienen menor frecuencia, conforme nos indica la regla B anteriormente descrita.

Tabla 10.1. Energías (cm^{-1}) de las vibraciones típicas y diferencias según el tipo de enlace

Grupo	Intervalo de frecuencias (cm^{-1})
C—C	800–1200
C=C	1600–1680
C≡C	2100–2250
C—N	1000–1350
C=N	1640–1690
C≡N	2240–2260

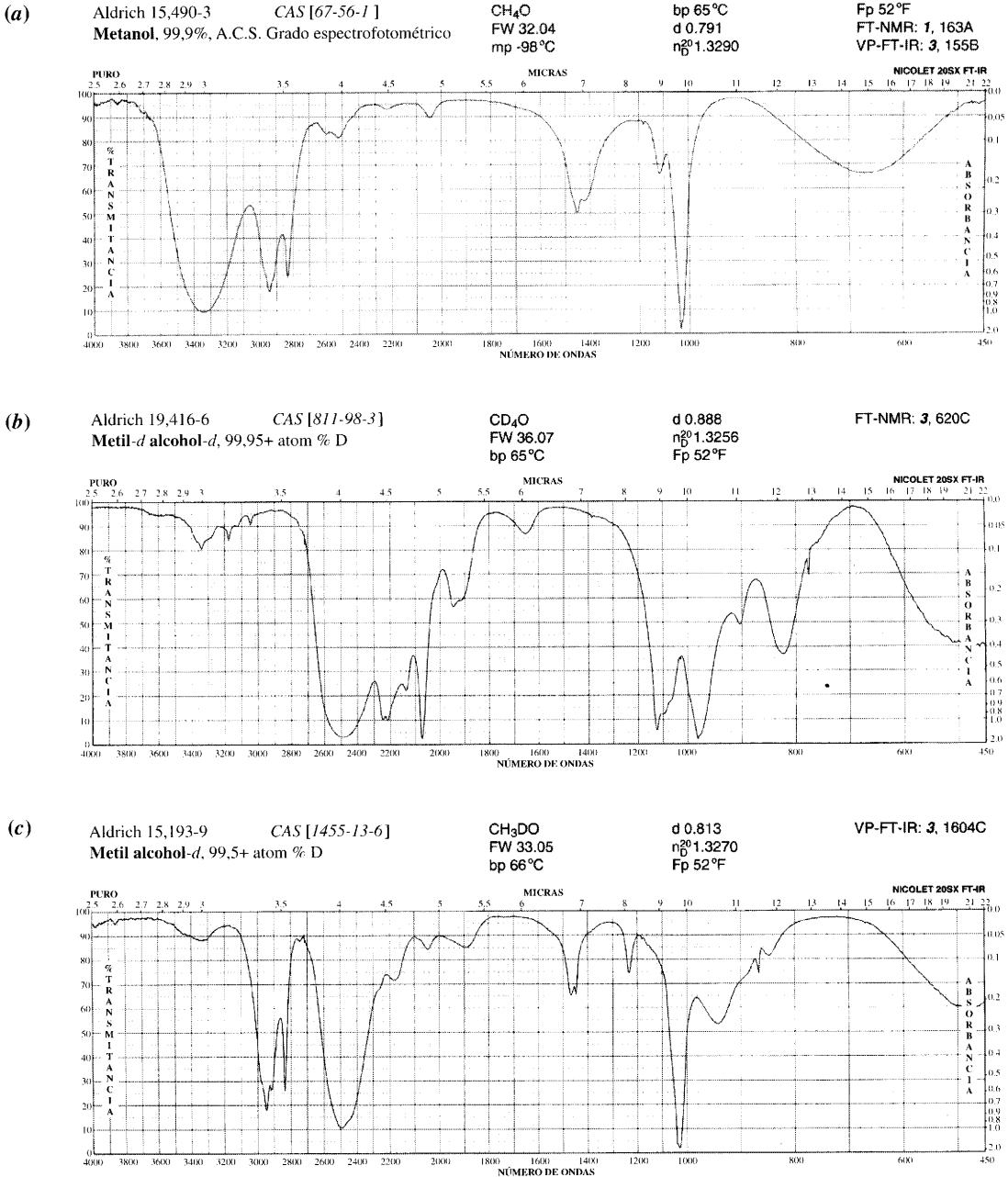


FIGURA 10.4 ▲

Se pueden conseguir asignaciones de las vibraciones de diferentes partes de una molécula observando los cambios de los espectros vibracionales cuando se sustituyen diferentes isótopos en la molécula.

En el ejemplo que se observa aquí, se han estudiado las vibraciones del metanol CH_3OH . (b) tiene el hidrógeno del grupo alcohólico sustituido por deuterio, resultando CH_2OD . Las bandas que se desplazan hacia menores energías se deben a los modos normales que han sufrido el cambio de $\text{O}-\text{H}/\text{O}-\text{D}$.

(c) es el espectro de CD_3OD . Las bandas espectrales se desplazan hacia (b) debido a la contribución $-\text{CH}_2-\text{CD}_3$ en los modos normales.

Tabla 10.2. Bandas infrarrojas en el metanol y cambios que aparecen en la sustitución de H/D (de la Figura 10.5)

Banda en CH_3OH (cm^{-1})	Desplazamiento en CH_3OD	Desplazamiento en CD_3OD	Asignación
3340	Sí	Sí	OH (vibración por tensión)
2840 y 2940	No	Sí	CH_3 (vibración por tensión)
1029	No	Sí	$\text{H}_3\text{C}-\text{O}$ (vibración por tensión)
1400	Parcialmente	Sí	CH_3 y $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ (vibración por flexión)

Téngase en cuenta que las bandas espectrales se desplazan con cada sustitución de deuterio. Cuando se sustituye un protón del grupo hidroxilo, las bandas entre 3000 y 2700 cm^{-1} muestran los desplazamientos más obvios. Cuando se sustituyen los tres hidrógenos del grupo metilo, las vibraciones alrededor de 2900 cm^{-1} se desplazan a 2300 cm^{-1} . Debido al hecho de que aparezca un desplazamiento, podemos asignar las bandas a vibraciones de grupos químicos específicos. Este razonamiento y las asignaciones de las **frecuencias de grupo** del metanol se exponen en la Tabla 10.2. Siguiendo tales procedimientos, se verifica la información en las tablas de correlación tal y como se muestra en la Sección 10B. Otra forma de mostrar esta información es mediante las tablas Colthup, que también aparecen en esa sección.

10.3. Modos normales vibracionales

Cuando una molécula está constituida por más de dos átomos, las frecuencias vibracionales no se pueden describir con una ecuación tan sencilla como la Ecuación 10-2. Las vibraciones provienen de movimientos simultáneos de más de dos átomos, y se denominan **modos normales**. Para el análisis químico general no será necesario conocer los detalles del cálculo de las variaciones en las frecuencias de los modos normales al cambiar la masa atómica o la fortaleza del enlace. Por ello, no incidiremos más en este aspecto. Sin embargo, las características generales de las vibraciones más complicadas se pueden mostrar sencillamente de forma gráfica.

Consideremos el ejemplo de una molécula triatómica lineal como el CO_2 , mostrada en la Figura 10.5. Podríamos esperar que exista una frecuencia vibracional, debida al estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$ (y compresión). Sin embargo, cada enlace $\text{C}=\text{O}$ no se estira separadamente. Al contrario, la molécula tiene dos modos normales que vibran a diferentes frecuencias. Los movimientos vibracionales se observan en la Figura 10.5. Las flechas muestran la dirección del movimiento inicial de cada átomo para una parte de una vibración. La vibración entera comienza con los enlaces dilatándose, hasta que este movimiento atómico cesa. Entonces los átomos retornan con la dirección opuesta hasta que se comprimen; en este punto, nuevamente el movimiento cesa, para repetirse otra vez la expansión del enlace.

Para la molécula de CO_2 , el movimiento de un modo normal consiste en dos oxígenos moviéndose juntos ambos hacia adentro y hacia fuera, mientras que el carbono permanece fijo en su posición; esto se denomina **tensión simétrica**. El modo normal en el cual los átomos de oxígeno se mueven juntos en la misma dirección, mientras que el carbono se mueve en la dirección opuesta, se denomina **tensión asimétrica**.

La flexión molecular es otro modo normal del CO_2 . Aquí, los oxígenos se mueven hacia arriba mientras que el carbono se mueve hacia abajo. El resultado es un ángulo de



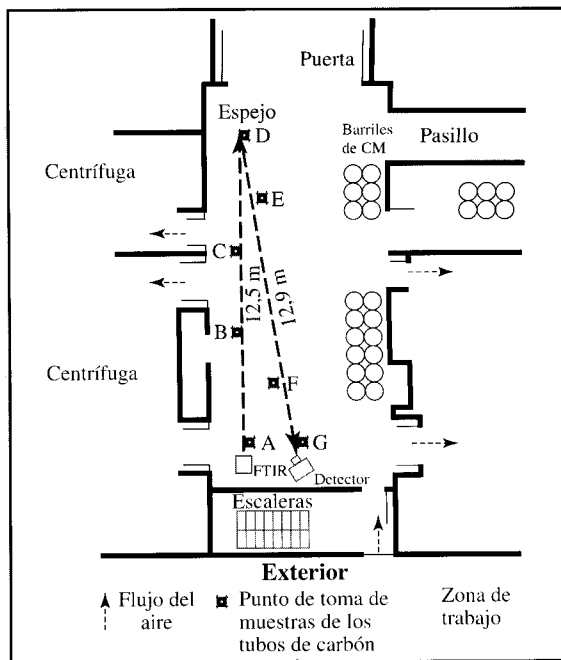
CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 10-1

Algunos sensores remotos

Un método ideal de monitorización del aire debe ofrecer niveles exactos en tiempo real de exposición a materiales potencialmente peligrosos, tanto para conocer los efectos en la salud como para servir de sistema de alarma. Cuando un haz de FTIR pasa a través de un área de trabajo, mide la concentración promedio a través de la trayectoria del haz, integrándola en un tiempo de medida, que está en el intervalo de segundos a unos pocos minutos. Esta medida se denomina concentración promedio de la trayectoria del haz, y se puede expresar en ppm-metro. Sin embargo, el haz de luz se debe disponer con cuidado, y el sistema debe ser capaz de rechazar los datos cuando la trayectoria del haz se interrumpa —por alguien que corte dicha trayectoria—. También debe ser posible compensar los cambios por las interferencias —tales como variaciones por la concentración de vapor de agua—. La figura muestra el paso de un haz IR en un área de trabajo donde se utiliza diclorometano (cloruro de metileno, CM). Aquí, un compuesto farmacéutico se separa de su disolvente CM en una centrífuga, posteriormente el disolvente se transfiere a unos barriles de almacenamiento. El plano también muestra dónde se dispusieron diversos tubos cargados con carbón vegetal, que se utilizaron para hacer análisis en el mismo espacio, pasando gas de la estancia a través de ellos a una velocidad constante. Las sustancias absorbidas en los tubos se analizaron por cromatografía de gases. Debido a los datos recogidos por cromatografía se pudo validar el método FTIR remoto.

La altura de la trayectoria del haz se colocó a cinco pies del suelo, de tal manera que pasaba a través de la zona de respiración de los trabajadores. Debido al tránsito, el haz se cortaba a menudo por el tráfico normal de gente y equipos. Sin embargo, se observó que el tiempo que el equipo estaba bloqueado no era suficientemente grande para afectar al análisis cuantitativo.

Los resultados mostraron que la cromatografía de gases únicamente detectó la presencia de CM durante dos días de medidas, mientras que el FTIR remoto mostraba que además del CM también había metanol presente. (Los compuestos de referencia



▲ Localización de los equipos de análisis del CH_2Cl_2 en una zona de trabajo.

Este mapa muestra los puntos de toma de muestras remota del equipo FTIR, y la trayectoria del haz en la zona de trabajo. A lo largo de esta trayectoria se habían dispuesto los tubos de muestras de carbón vegetal. [Cortesía Am. Hyg. Assoc.]

para cromatografía de gases incluían metanol, etanol, acetona, isopropanol, cloruro de metileno, acetato de etilo, cloroformo de metilo, tricloroetileno y acetato de amilo. Así, la ausencia de metanol no se puede decir que fuese por un fallo en el equipo.)

Las desviaciones estándar relativas de los tubos de carbón vegetal eran mucho mayores que las del haz, aunque esto debería esperarse, ya que se hallaba una concentración promedio de toda la trayectoria. Como se esperaba, el FTIR proporcionaba mejores variaciones de los datos temporales, y los tubos de carbón vegetal proporcionaban mejores medidas de las variaciones espaciales de la concentración.

[Ref.: XIAO, H., LEVINE, S. P., NOWAK, J., PUSKAR, M., 1993. «Analysis of Organic Vapors in the Workplace by Remote Sensing Fourier Transform Infrared Spectroscopy.» *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 54(9), 545-556.] ■

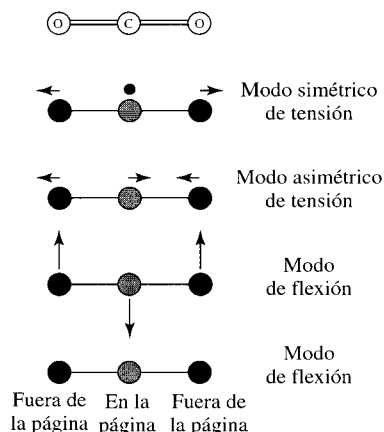


FIGURA 10.5 ►
Modos normales de una molécula triatómica lineal, es este caso, dióxido de carbono, CO_2 .

Hay dos modos de tensión, simétrico y asimétrico, y también dos modos de flexión. Los dos modos de flexión —uno en el plano de la página y otro similar perpendicular al plano— son **modos degenerados**.

enlace: **vibración por flexión**. Estas vibraciones por flexión aparecen a mayores longitudes de onda que las vibraciones por tensión del mismo grupo. Esta diferencia de frecuencia se debe a la fuerza restauradora, caracterizada por k , y es menor para vibraciones moleculares por flexión que para tensiones moleculares.

Ya hemos visto alguno de los ejemplos de los modos normales en los espectros del metanol en la Figura 10.4. Los movimientos atómicos asociados con los modos normales del metanol se muestran en la Figura 10.6. Las bandas a 2840 cm^{-1} y 2940 cm^{-1} se asocian con la tensión del —CH_3 . Uno de éstos es el modo asimétrico y otro es el simétrico. La vibración por flexión del —CH_3 se encuentra alrededor de 1400 cm^{-1} .

Movimiento	Nombre del modo	Abreviatura
	Tensión simétrica	ν_s
	Tensión asimétrica	ν_{as}
	Flexión simétrica (como juntar tres dedos)	δ_s
	Flexión asimétrica (juntar dos dedos y separar uno)	δ_{as}

FIGURA 10.6 ►
Modos normales del grupo metilo.

Hay dos modos de tensión, simétrico y asimétrico, y también dos modos de flexión. De hecho, hay tres maneras de dibujar la tensión asimétrica y la flexión asimétrica; el único hidrógeno podría estar en cualquiera de las tres. Consecuentemente, estos tres modos asimétricos son degenerados, y debido a que existen tres maneras de dibujar las vibraciones idénticas, tanto las flexiones como las tensiones asimétricas son **triplemente degeneradas**.

Sin embargo, los modos normales no son tan locales para que sus frecuencias dependan únicamente de los átomos de los grupos y de la fortaleza entre sus enlaces. Los átomos y los grupos de átomos cercanos también influyen en las frecuencias de los modos normales. Estas influencias ayudan a explicar por qué algunas bandas vibracionales dependen, de forma tan sensible, de las diferencias en la estructura molecular, tal *y como se puede ver* en los espectros de la Figura 10.1.

10.4. Información cualitativa de los espectros IR

Se puede obtener espectros infrarrojos de muestras tan pequeñas como unos pocos μg (aunque es más sencillo con muestras de mg). De esta manera, los espectros IR se utilizan en análisis cualitativos de sólidos, líquidos y gases. Con la excepción de los enantiómeros (isómeros ópticos), dos compuestos no tienen el mismo espectro infrarrojo, esto es, con cada banda emparejada a la posición del pico (número de ondas), intensidad y ancho de banda. Como resultado, los espectros infrarrojos se pueden utilizar para identificar componentes de muestras comparando los espectros de una sustancia desconocida con una colección de espectros. Un ejemplo de tal comparación de espectros se muestra en la Figura 10.7 donde se ha buscado el origen de los asfaltos. El asfalto no es un

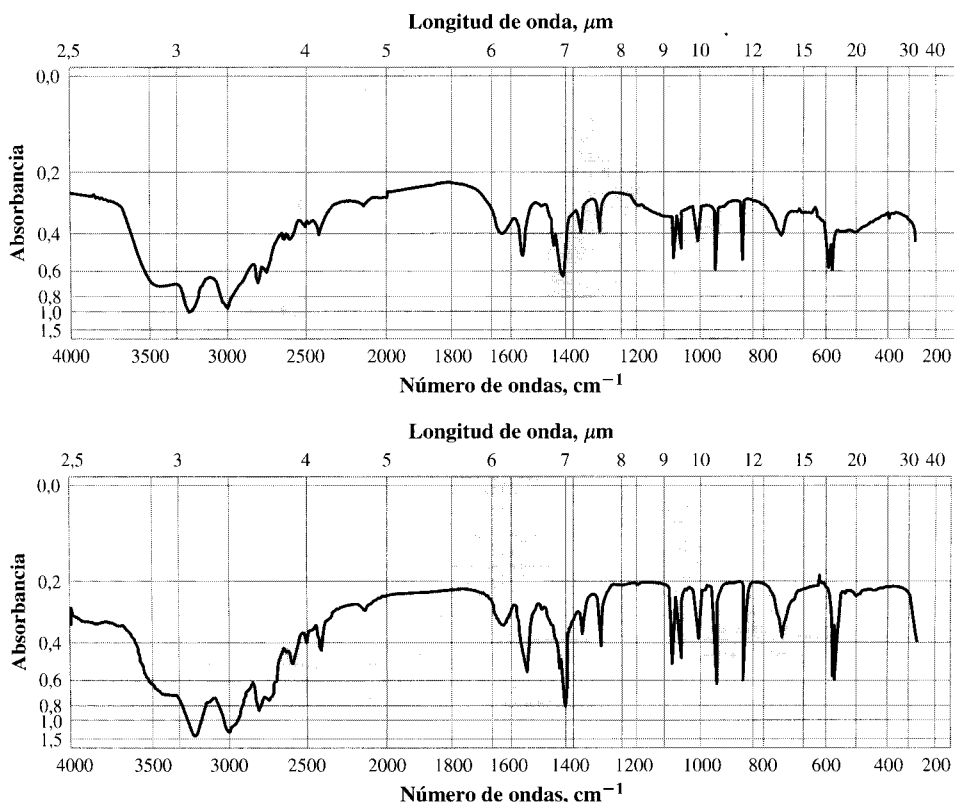


FIGURA 10.7 ▲
Los espectros infrarrojos se pueden utilizar para identificar materiales.

El espectro superior proviene de un sólido no identificado, recogido de las tuberías de una caldera de naftas. El espectro inferior se ha conseguido a partir de asfaltos formados al calentar sales de HCl de un inhibidor de la corrosión. Debido a la sensibilidad de los espectros IR con la estructura, el origen de los sólidos es completamente conocido. [Ref.: Reeditado con permiso de Schmidt, S. A., Gaylor, V. F. 1976. *Anal. Chem.* 48(12), 974A. Copyright 1976 American Chemical Society.]

compuesto simple, pero su comparación es válida. De similar manera, la identificación cualitativa de una muestra inorgánica puede realizarse mediante espectroscopia infrarroja, tal y como se muestra en la Figura 10.8.

Además de la identificación y comparación de componentes, como segundo uso *cualitativo* se puede obtener información estructural. Los grupos funcionales se pueden identificar debido a que sus bandas de absorción se encuentran en zonas relativamente estrechas, en regiones características en la región infrarroja, tal y como se observa en las tablas de correlación de la Sección 10B. Los espectros infrarrojos de los compuestos orgánicos se pueden dividir en las siguientes regiones generales:

La región de **grupos funcionales**: $4000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$.

La región de **huellas características**: $1300\text{-}910\text{ cm}^{-1}$.

La región de los **aromáticos**: $910\text{-}650\text{ cm}^{-1}$.

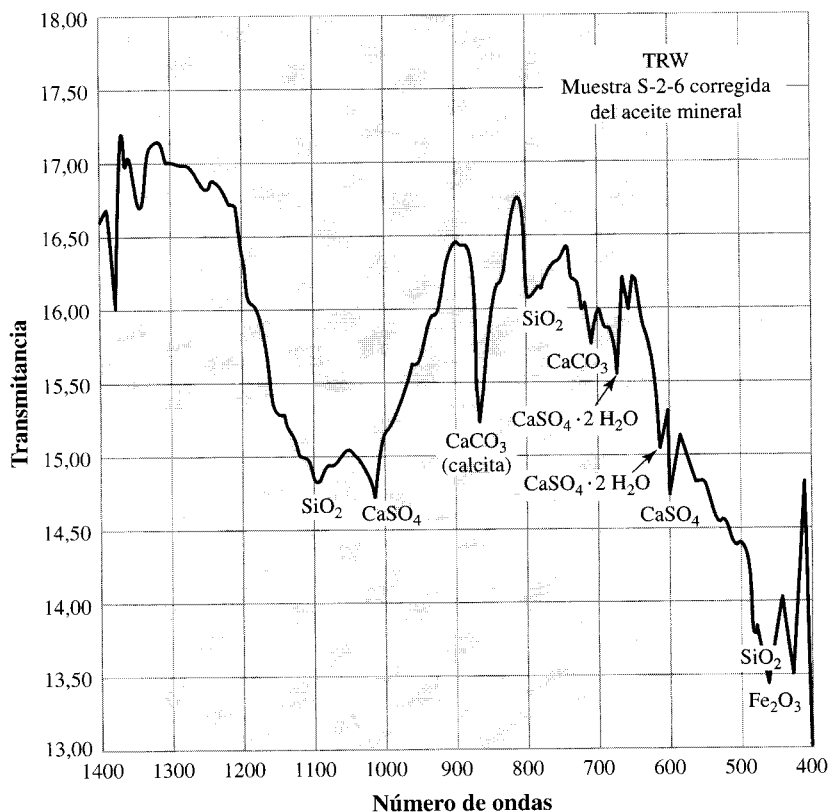


FIGURA 10.8 ▲
Espectro infrarrojo de una partícula procedente de un quemador de lecho fluidizado.

Aquí se muestran las asignaciones de los picos. Se utilizó un espectroscopio de transformadas de Fourier. La muestra es una pasta dispuesta entre dos placas de AgCl, y el espectro produce las líneas de fondo debido al aceite mineral utilizado. [Ref.: Maddalone, R. F., Ryan, L. E., Delumyea, R. G., Wilson, J. A. 1979. «EPA/IERL-RTP Procedures Manual: Level 2 Sampling and Analysis of Oxidized Inorganic Compounds.» EPA-600/2-200: Washington, DC.]

En la región entre 650 cm^{-1} y 200 cm^{-1} , las vibraciones ayudan a la identificación de enlaces inorgánicos y organometálicos. La vibración de los enlaces entre metales e iones metálicos aparecen en esta región.

Las bandas en la región de los grupos funcionales indican la presencia de grupos orgánicos funcionales específicos. Éstos se indica en la Tabla 10B.2. Por ejemplo, entre los grupos funcionales fácilmente identificables se encuentran el grupo carbonilo, $\text{C}=\text{O}$, y el grupo hidroxilo, $-\text{OH}$.

La región de huellas características contiene picos que aparecen por modos normales complicados que conllevan movimientos de flexión y no son fácilmente asignables. Pero, debido a su origen, son los más sensibles a las diferencias en la estructura de los compuestos, es decir, representan la «huella dactilar» para cada compuesto específico. Además de los hexanos de la Figura 10.1, en la Figura 10.9 se ilustran estos efectos sensibles a la estructura, en los espectros de cuatro isómeros de dienos.

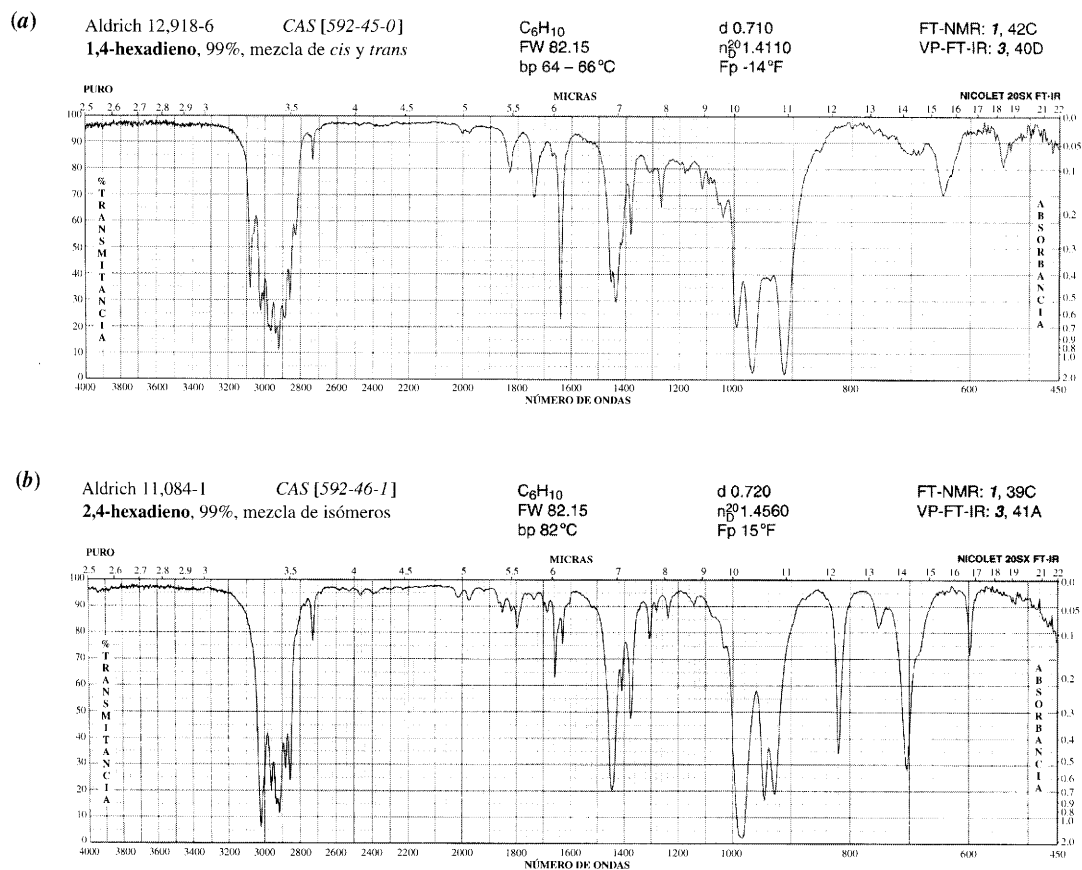


FIGURA 10.9 (a-d) ▲
Ilustración de la información obtenida de la región de los grupos funcionales ($4000\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$) y de la región de huellas características ($1300\text{--}900\text{ cm}^{-1}$) en los espectros infrarrojos vibracionales.

Los cuatro componentes son hexadienos isómeros. Las vibraciones de tensión de $\text{C}-\text{H}$ aparecen en la región entre 2800 y 3100 cm^{-1} . En el intervalo de $1600\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$ se deben a la vibración de los grupos alquenos, $\text{C}=\text{C}$, y todos los hexadienos tienen al menos una banda en esa región. Además, aparece una banda en cada espectro alrededor de 1430 cm^{-1} , debido al movimiento de flexión del grupo $-\text{CH}_3$. Sin embargo, en el intervalo entre 850 y 1000 cm^{-1} —la región de huella dactilar— las bandas de cada compuesto se diferencian significativamente en la forma, intensidad y número de ondas, ya que varían la localización y geometría alrededor del doble enlace.

Los picos en la región de los aromáticos no indican automáticamente la presencia de anillos aromáticos, debido a que aparecen también en esta región las bandas debidas a los enlaces carbono-halógenos. Sin embargo, uno o más picos intensos en la región de los aromáticos indican la posible presencia de compuestos aromáticos. Si no hubiese bandas en esta región es casi seguro que no existirían centros aromáticos. Las bandas aparecen del movimiento de flexión de los enlaces C—H fuera del plano del anillo aromático. Con la práctica, el número y las posiciones de los sustituyentes en un anillo de benceno se puede relacionar con un espectro. Un hecho indicativo de tales cambios en los espectros son los ejemplos que se muestran en la Figura 10.10. En general, se requiere mucha práctica para interpretar esto, ya que aparecen numerosas desviaciones de la apariencia esperada. Sin embargo, para compuestos conocidos, la comparación por computadora de espectros cargados en una base de datos con los medidos se realiza, hoy en día, con gran sofisticación y exactitud.

La sensibilidad de la espectroscopia infrarroja para cambios estructurales hace viable su uso como detector en cromatografía, a pesar del coste. Los instrumentos de transformadas de Fourier pueden obtener espectros en uno o dos segundos, para que posteriormente, utilizando un software que desarrolle la comparación entre los picos, se pueda identificar cada componente. También se pueden diferenciar con esta técnica isómeros estructurales.

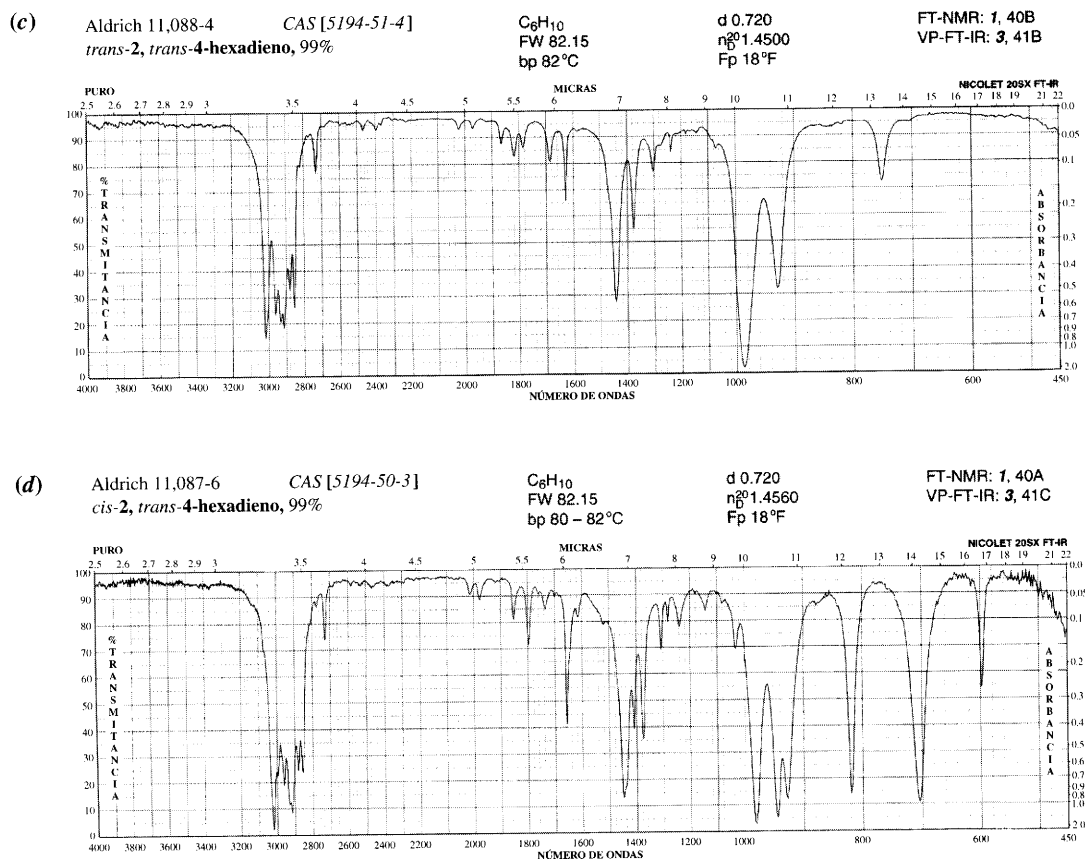


FIGURA 10.9 (continuación) ▲

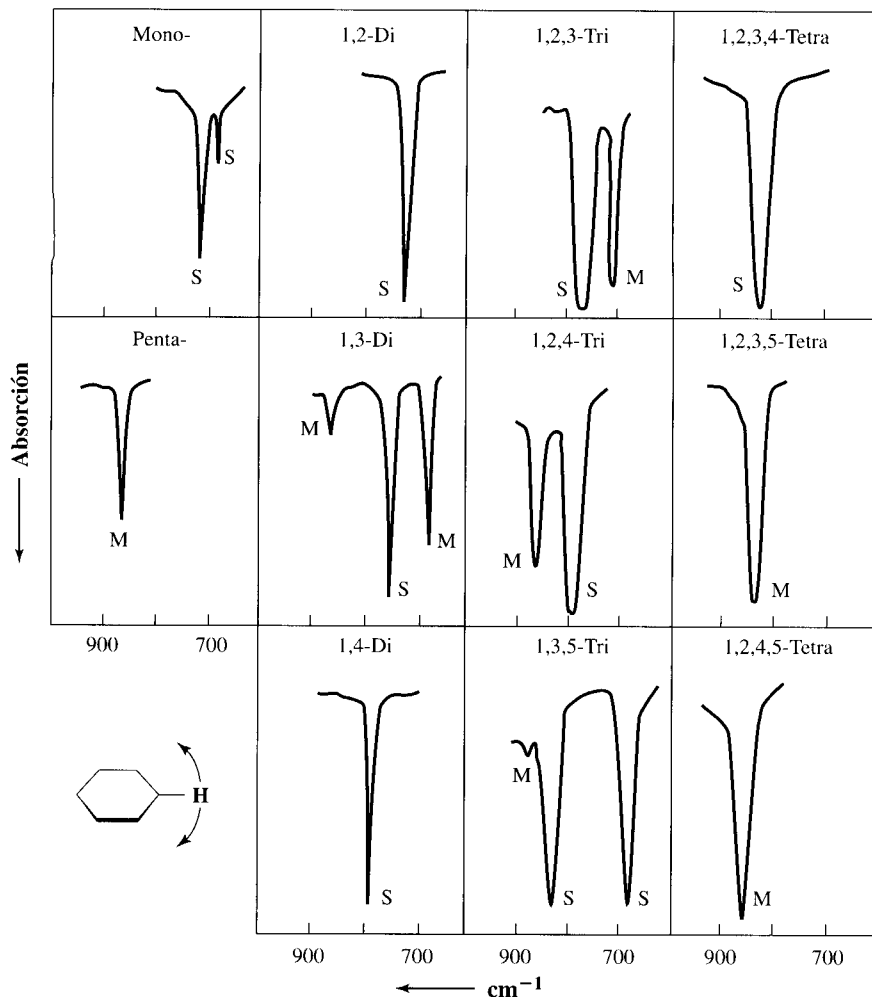


FIGURA 10.10 ▲

Las bandas de la región aromática son sensibles al número y a la posición relativa de los sustituyentes en los anillos.

Las bandas se originan por el movimiento de flexión de los enlaces C(anillo)—H fuera del plano del anillo. Las abreviaturas M y F indican que las bandas son moderadas o intensas en magnitud. Tales patrones pueden ayudar a determinar la sustitución en el anillo. Son mucho más útiles si no hay interferencias de otras bandas de otros grupos. [Ref.: Baker, A. J., Cairns, T. 1996. *Spectroscopic Techniques in Organic Chemistry*. London: Heydon & Son, Ltd. Copyright 1996. Reeditado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd.]

10.5. Espectros Raman

Después de ahondar en las causas de las diferencias entre las absorbancias de las bandas vibracionales, permitámonos un par de pequeñas transgresiones. En la primera, describiremos un espectro Raman típico. Los ejemplos se muestran en las Figuras 10.11 y 10.12. Un espectroscopio Raman opera de modo similar al espectrómetro de fluorescencia, pero con radiación de alta intensidad. Los espectros se representan como la intensidad de la luz reemitida frente a la energía en cm^{-1} . Véase que en la Figura 10.11, aunque los resultados de los espectros Raman provienen de las vibraciones moleculares a

El espectroscopio Raman se describe en la Sección 10A.

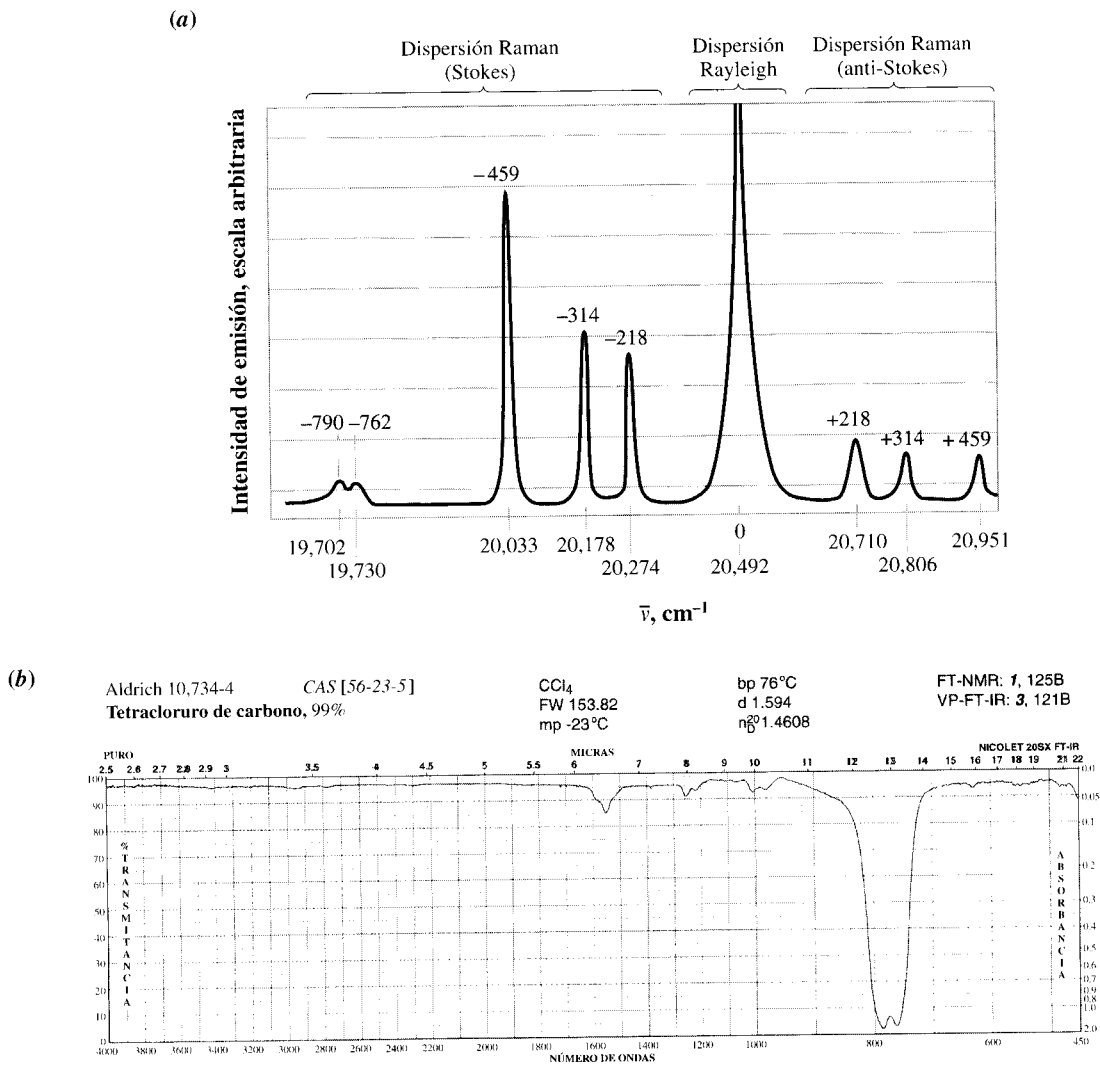


FIGURA 10.11 ▲
Espectro vibracionales Raman e infrarrojo para el tetracloruro de carbono, CCl_4 .

(a) El espectro Raman se obtuvo por radiación láser a 20492 cm^{-1} ($488,0 \text{ nm}$, una línea de un láser de ion-argón). Las bandas Raman se muestran para longitudes de onda tanto positivas como negativas a partir de la línea Rayleigh central. Las líneas de mayor energía de la derecha se denominan bandas **anti-Stokes** y las de menor energía bandas **Stokes**. Las bandas Stokes son las que generalmente se miden en ensayos rutinarios. Las *diferencias* en el número de ondas entre la línea central y las Raman es igual a las frecuencias vibracionales naturales de las moléculas. (b) El espectro infrarrojo se muestra de la forma convencional. [Refs.: (a) Reimpreso de Strommern, D. P., Nakamoto, K. 1981. *Am. Lab.*, Oct., pp. 70-77; Collins, D. W. *et al.* 1977. *Appl. Optics*, 16, 252.]

frecuencias infrarrojas, el espectro se obtiene con luz *visible*. El pico mayor localizado en el centro, que aquí se encuentra en la región azul-verde del espectro visible, se debe a la dispersión de la luz (absorbida y reemitida) por las moléculas de la muestra. Esta radiación se centra en la misma longitud de onda que la luz incidente. A esto se lo denomina línea **Rayleigh**.

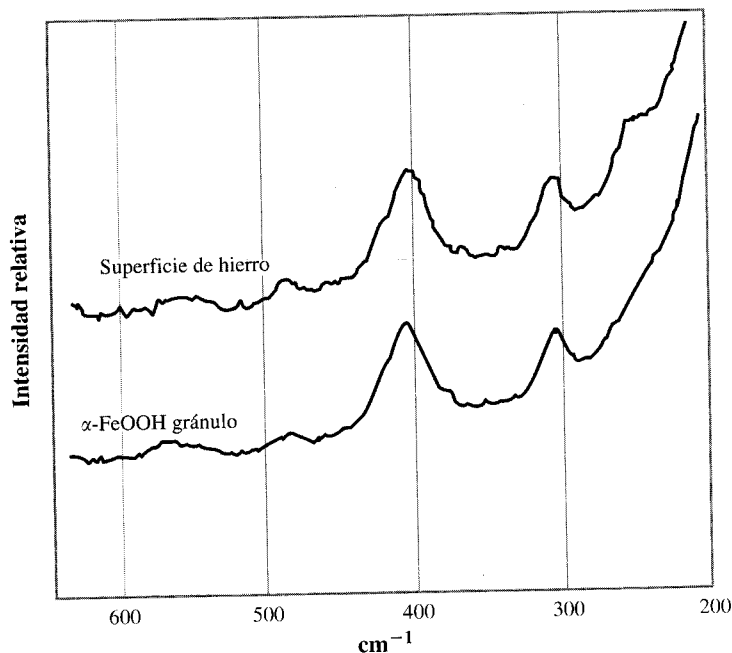


FIGURA 10.12 ▲
Espectro Raman de hierro puro corroído por la exposición a la atmósfera.

El espectro producido se compara con el del α -FeOOH. Se pueden utilizar otras técnicas para análisis de esas láminas de corrosión. Sin embargo, al contrario que en los espectros Raman, no proporcionan información de los enlaces químicos. Además, este espectro se puede obtener sin someter a la muestra a vacío, y si fuese necesario, se puede llevar a cabo en una atmósfera corrosiva. El análisis no es destructivo. [Ref.: Reeditado por Keiser, J. T. *et al.* 1982. *Am. Lab.* 14(4), 17. Copyright 1982 by International Scientific Communications, Inc.]

Además de la línea Rayleigh, hay otras líneas espectrales. Aparecen en grupos, con cada miembro del grupo desplazado en un número de ondas igual a cada lado de cada línea central. Son las líneas **Raman** originadas por las vibraciones de las especies moleculares que provocan la dispersión de la luz. Las diferencias de longitud de onda entre cada una de las líneas Raman y la línea Rayleigh son iguales a las frecuencias de vibración de los modos normales de las moléculas.

La intensidad de luz que se emite como línea Raman es minúscula: sobre 10^{-5} a 10^{-6} de la luz de la línea Rayleigh. Debido a la pequeña proporción de la emisión Raman, se necesita una intensa fuente de luz para obtener unos buenos espectros. Por ello, una luz láser enfocada ilumina la muestra. También, se requieren ópticas de alta calidad para minimizar cualquier interferencia instrumental procedente de la intensa dispersión Rayleigh. De otro modo, las pequeñas bandas Raman serían tapadas por un enorme fondo. Las ópticas holográficas han facilitado la consecución de esta cualidad, y la aplicabilidad de la espectroscopia Raman a la Química Analítica esta aumentando rápidamente en todos los laboratorios de análisis.

La Figura 10.13 muestra la identificación de un sólido por espectroscopia Raman. El óxido encontrado en la superficie de hierro puro oxidado atmosféricamente se encontró como α -FeOOH. Existen varias formas de FeOOH, y cada forma — α -, γ -, δ - y FeOOH amorfo— tiene un espectro Raman característico. Se describe otro uso en el Caso de Estudio 10-2, donde se encontraron reparaciones recientes en un bronce chino de 2000 años de antigüedad.

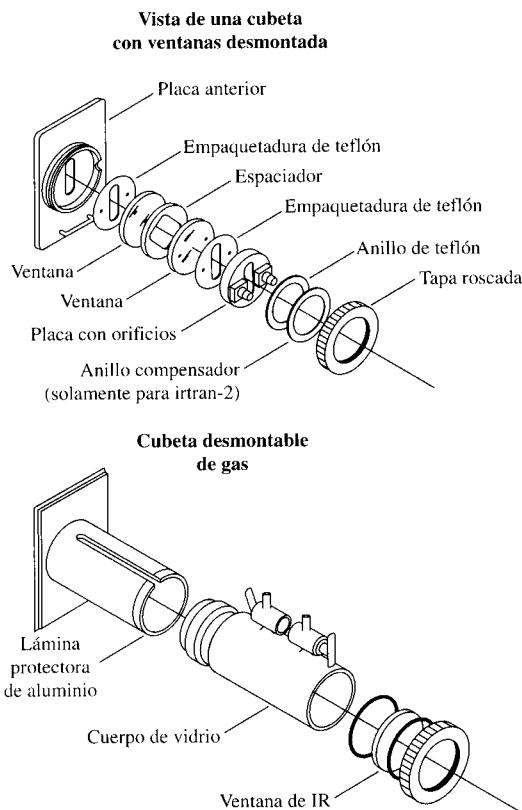


FIGURA 10.13 ▲

Dos diseños de cubetas IR para muestras líquidas o gaseosas.

La longitud de paso en una cubeta para muestra líquida se determina por el grosor del espaciador que se inserte. Su intervalo suele oscilar entre 0,015 y 0,5 mm. La muestra se inyecta con una jeringa a través de los orificios de una placa de inyección. Los orificios están alineados en la tapa frontal. [Cortesía Spectra-Tech, Inc.]

10.6. Muestras para espectroscopias infrarrojas y Raman

Las muestras para espectroscopias infrarrojas y Raman pueden ser, esencialmente, de cualquier material. Las propiedades espectrales se pueden medir en sólidos, láminas de líquido, soluciones a granel, o muestras de gas, con la forma o grosor ajustado para conseguir una respuesta espectral en el nivel deseado de medida.

Muestras para espectroscopia infrarroja

Aparecen problemas significativos cuando intentamos construir contenedores de muestras para espectroscopias vibracionales, ya que cada material produce *alguna* absorción vibracional. Lo que se hace es utilizar materiales con los niveles más bajos posible de absorción en las regiones de interés. El material que se utiliza en la espectroscopia infrarroja es una placa sólida de bromuro de potasio. Estas placas se utilizan de múltiples maneras.

Los sólidos se pueden tratar mediante espectroscopia infrarroja, y aun cuando no estén disueltos, se pueden suspender en un haz de infrarrojo. Una segunda manera consiste en moler el sólido en pequeñas partículas y suspenderlas en un líquido viscoso que

se coloca entre placas de NaCl o KBr, por entre las cuales pasa el haz de luz. Un líquido que se utiliza para este propósito es un aceite mineral —también llamado *Nujol*—. Sin embargo, sólo hay unas pocas bandas infrarrojas fuertes que puedan interferir. (Véase Figura 10.3.) La mezcla de las partículas sólidas suspendidas en el líquido viscoso se denomina **pasta**. Otro método utilizado para sólidos es formar una mezcla muy fina entre la muestra molida junto con KBr seco. Una cantidad medida de este fino polvo se comprime a varios cientos de kg/cm² para formar un disco transparente de KBr de un centímetro de diámetro y menos de 1 mm de grosor. El KBr puede, sin embargo, interactuar con algunos grupos (como el —NH₂) y causar distorsión en el espectro. Además, el agua en el KBr puede ser difícil de eliminar, y la absorción del agua interfiere con las bandas de —OH y —NH₂. Un tercer método consiste en depositar el sólido como un film en una placa de KBr permitiendo al disolvente evaporarse de la solución de la muestra.

Un líquido se puede esparcir en una placa transparente de IR como una película si está suficientemente concentrado y no se evapora. Por otra parte, tal y como se ilustra en la Figura 10.13, el líquido se coloca en una cubeta de solución consistente en dos placas de KBr —las ventanas— que tienen un espacio entre ellas de 0,01 a 0,5 mm. Los gases se introducen en cubetas mayores. Existen diferentes materiales para las ventanas que se utilizan para muestras de gases o líquidos. Su elección depende de la región de longitud de onda que se ha de medir y del disolvente utilizado. La Figura 10.14 muestra los intervalos útiles de las ventanas más comúnmente utilizadas. Una consideración práctica indica que la mayoría de estos materiales transparentes al infrarrojo son higroscópicos y deben ser almacenados en un desecador.

Los disolventes varían según su conveniencia para las muestras IR. Por ejemplo, el agua es, en la mayoría de los casos, un mal disolvente para utilizar con muestras IR, debido a que absorbe muy fuertemente en la región IR. Se pueden utilizar una escala de 10-30 μm , pero la sustancia problema debe estar relativamente concentrada. Por otro lado, el CCl₄ es mucho más transparente al intervalo IR. Las regiones transparentes de los disolventes generalmente utilizados para medidas infrarrojas se muestran en la Figura 10.15. Como podemos ver, la mayoría de los disolventes contribuyen con interferencias espectrales en algunas regiones de los espectros.

Algunas veces es necesario utilizar agua como disolvente, debido a que no se pueda utilizar ningún otro disolvente u otra muestra sólida. En tal caso, el material de la ventana no puede ser de KBr, debido a que la sal se disolvería fácilmente en la solución de la muestra. En este caso se pueden utilizar materiales como el polietileno, fluoruro cálcico policristalino o seleniuro de zinc policristalino.

Otra alternativa en los métodos más comunes de medición de los espectros IR es la alternativa técnica de atenuar la reflexión total, analizada en la Sección 8.13. Un ejemplo de un espectro ATR en el rango IR se muestra en la Figura 10.16b.

Muestras para espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman, donde la luz en la región visible se utiliza para excitar a las moléculas de la muestra, tiene requerimientos similares a los necesarios en la absorción óptica y la espectroscopia por fluorescencia. La geometría de los instrumentos Raman (véase la Sección 10A) es similar a la de un espectroscopio de luminescencia. La mayor diferencia estriba en que la fuente de la luz, generalmente un láser, es intensa y se puede dirigir o enfocar hacia un pequeño punto de la muestra. Se puede colocar un líquido en un capilar de cristal, un sólido se puede colocar directamente en el haz, y un gas puede colocarse en un contenedor de cristal. Sin embargo, el mayor problema aparece si el haz de luz intenso calienta la muestra (un problema para muestras coloreadas). Los líquidos pueden hervir, los sólidos se pueden vaporizar y los gases pueden aumentar su presión o

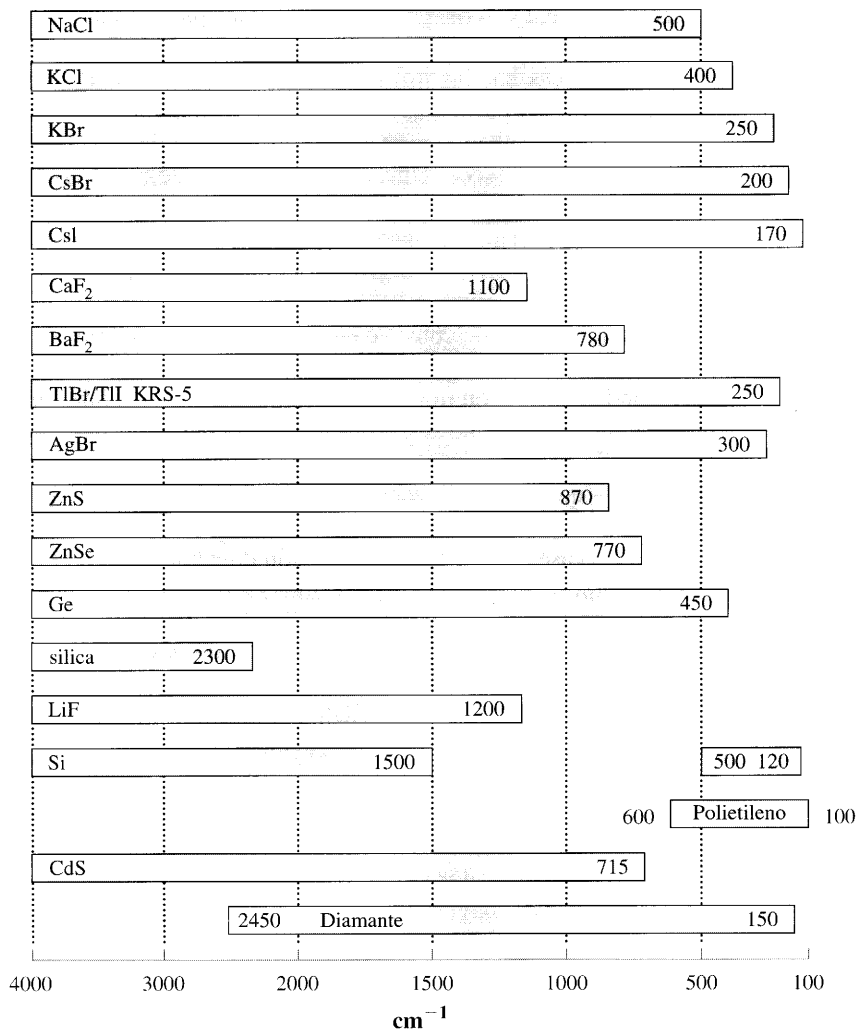


FIGURA 10.14 ► **Intervalos operativos en el infrarrojo para materiales de las ventanas.**

Las barras indican los intervalos transparentes para cada uno de los materiales. Los límites son solamente aproximados, ya que dependen del grosor de la ventana y de la transmitancia aceptable. Los límites que se muestran están consideradas desde un punto de vista optimista. [Cortesía de Spectra-Tech, Inc.]

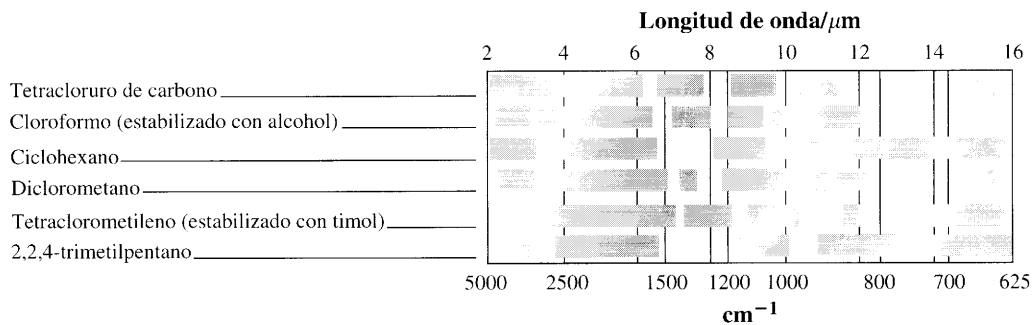
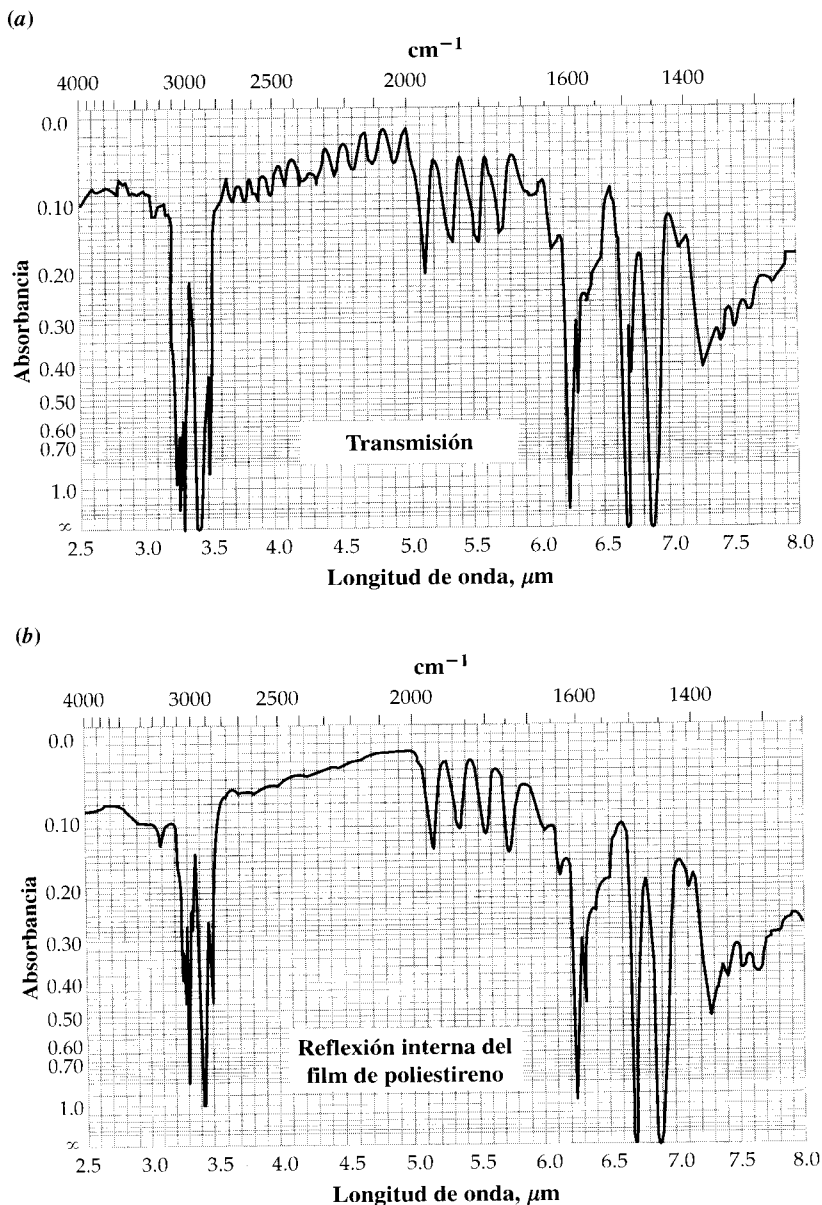


FIGURA 10.15 ▲ **Regiones de trabajo en el infrarrojo de algunos disolventes.**
Las regiones en gris indican transparencia.



◀ FIGURA 10.16
(a) Espectro IR de poliestireno en modo de transmisión y (b) modo de reflexión total atenuada.

Los pequeños picos de las interferencias aparecen entre 2000 cm^{-1} y 2700 cm^{-1} . Aparecen por la actuación de la película como un interferómetro, y no aparecen en los espectros ATR. [Ref.: Reeditado por Wilks, P. A. 1980. *Am. Lab.* 12(6), 82. Copyright 1982 by International Scientific Communications, Inc.]

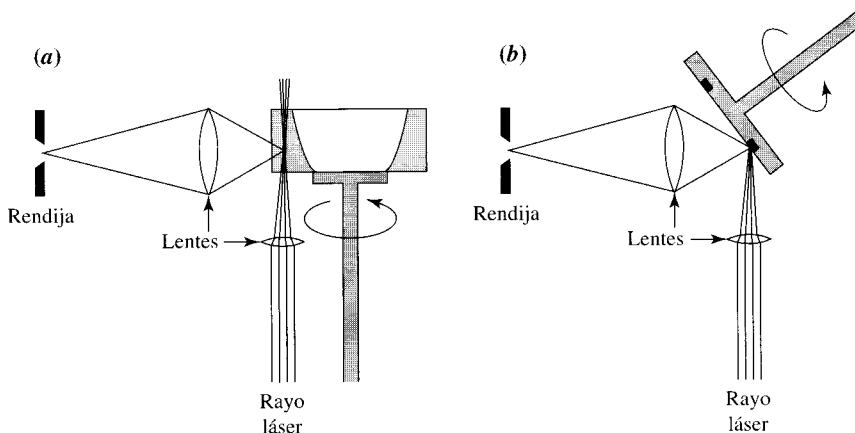
expandirse, dependiendo del contenedor. El problema del calentamiento se puede superar distribuyendo la luz sobre una gran cantidad de muestra. Dos de las técnicas para realizar esta maniobra se muestran en la Figura 10.17.

10.7. Intensidades de banda de los espectros vibracionales

Para catalogar los espectros vibracionales en determinaciones cualitativas, es suficiente con etiquetar las bandas individuales como fuerte (pequeño % T), moderado o débil (gran % T) —abreviados como f, m, y d respectivamente—. Tales abreviaturas se utilizan en las

FIGURA 10.17 ►
Manejo de muestras Raman muy coloreadas.

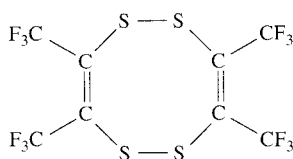
Para evitar un sobrecalentamiento por radiación láser de las muestras coloreadas, la muestra se mueve constantemente mediante una rotación. Esto difumina el calor en una gran área. **(a)** Una muestra líquida (sombreada) se coloca en una cubeta donde puede rotar. El rayo láser irradia la muestra desde abajo, y la luz reemitida se recoge en diferentes lentes y se enfoca hacia un monocromador. **(b)** las muestras sólidas pueden colocarse dentro de un anillo troquelado en una rueda de rotación (que también puede ser refrigerada).



tablas y figuras de la Sección 10.B. sin embargo, estas medidas imprecisas no son utilizables cuando se realiza un análisis cuantitativo mediante espectroscopias Raman o infrarroja. Se necesitan las medidas de las absorbancias molares (o sus equivalentes) y se deben realizar pruebas con patrones. Para alcanzar la máxima sensibilidad, generalmente las bandas que absorben más fuertemente en IR o que emiten más fuertemente en Raman son las seleccionadas para utilizarlas en las medidas. Otras bandas menos intensas se utilizarían si hubiese interferencias espectrales de las bandas vibracionales de cualquier disolvente o de otro componente presente. Consecuentemente, el análisis tendría menor sensibilidad.

Esto significa que las dos diferentes espectroscopias se complementan una a la otra en los análisis basados en vibraciones moleculares. Merece la pena ver más detenidamente los orígenes de las magnitudes de la absorción IR y la emisión Raman para decidir si tomamos una u otra para el análisis cuantitativo de sustancias o disolventes específicos.

Véanse en la Figura 10.18 los espectros Raman e infrarrojos de un compuesto sencillo. Su estructura es:



Nótese que la mayoría de las vibraciones que aparecen en el espectro infrarrojo no aparecen en el espectro Raman, y viceversa. Concentrémonos en los grupos de líneas de las dos regiones: las tres líneas desde 1159 cm^{-1} hasta 1250 cm^{-1} y la línea a 529 cm^{-1} . El patrón son las líneas de absorción infrarroja más fuertes que están casi ausentes en el espectro Raman. Éstas se deben a los modos de tensión de C—F. La línea sencilla a 529 cm^{-1} es la línea de dispersión Raman más fuerte que está casi ausente en el espectro infrarrojo. Se debe a la tensión de vibración del enlace S—S.

Las siguientes ideas se utilizan para explicar las diferencias en las intensidades. Los modos infrarrojos absorben más fuertemente a mayor *polaridad* de los enlaces (tienen un mayor ϵ). Por ejemplo, C—F tiene un enlace mucho más polar. (Esto se explica a menudo como resultado de las diferentes electronegatividades de los átomos.) Por otro lado, cualquier enlace puramente covalente, como el C—C, I—I o S—S, no es polar en absoluto. No apareciendo las vibraciones de estos grupos en los espectros infrarrojos.

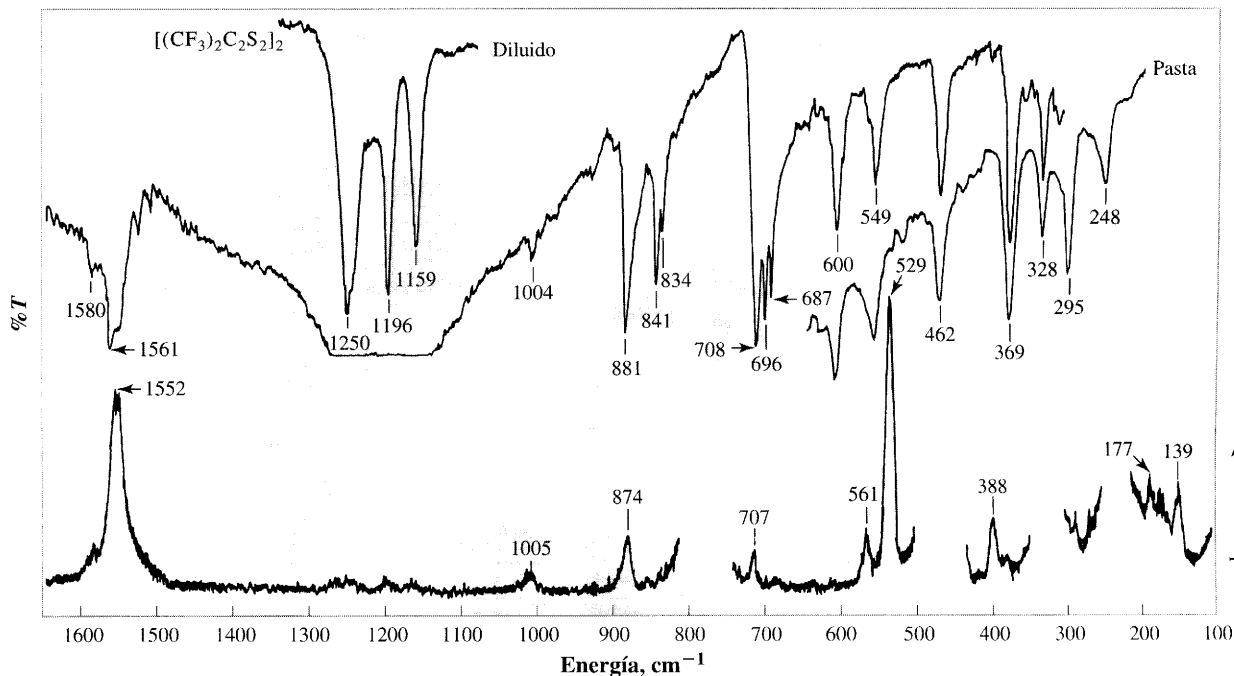


FIGURA 10.18 ▲
Espectro infrarrojo (superior) y Raman (inferior) del $[(CF_3)_2C_2S_2]_2$, un trifluormetildisulfuro.

Se puede observar cómo los espectros IR y Raman se complementan el uno al otro, ya que sus intensidades aparecen de diferente manera. Las bandas en el intervalo 1100-1250 se deben al CF_3 , mientras que las bandas de 529 son debidas a la tensión del enlace S—S. Cada banda está casi inactiva en una de las espectroscopias. El enlace C—F no es muy polarizable, pero es altamente polar. Por otro lado, el enlace S—S, que es polarizable, no es polar. Las regiones en blanco en el espectro Raman se deben a las bandas del disolvente CCl_4 .

Las intensidades de los espectros son proporcionales a la **polaridad** de los enlaces —el «desplazamiento» de la nube de electrones de los átomos involucrados—. Generalmente las polarizabilidades de las nubes de electrones aumentan de arriba abajo en la tabla periódica. Para la molécula considerada, el grupo S—S es muy polarizable, y su vibración produce una intensidad Raman mayor. Ambos átomos de carbono y flúor están en la primera línea de la tabla periódica y no son muy polarizables. Por esto, las vibraciones involucradas en los grupos — CF_3 son muy débiles en los espectros Raman.

Tal y como hemos mencionado anteriormente, el agua no es el disolvente ideal para la espectroscopia infrarroja. Sin embargo, el agua se compone de átomos que se encuentran en la parte superior de la tabla periódica, y sus enlaces no son muy polarizables. Por consiguiente, el agua es excelente como disolvente para las muestras de espectroscopia Raman. De nuevo, las técnicas infrarroja y Raman son complementarias, aunque ambas muestren los modos normales de la vibración molecular. Con la instrumentación actual, ambas son igualmente sencillas de llevar a cabo.

No todos los modos normales aparecen como bandas espectrales IR o Raman. Las razones de por qué no aparecen vibraciones específicas ni en los espectros Raman ni en los infrarrojos son bastantes complicadas como para explicarse con las reglas sencillas que hemos mencionado anteriormente. Predecir correctamente la vibración molecular que aparece en cada tipo de espectro conllevaría el estudio de las reglas de selección

vibracional. No entraremos en detalles, aunque cualquier información complementaria se puede encontrar en las referencias de Silverstein y Lambert al final de este capítulo.

10.8. Análisis cuantitativo

En la Figura 10.19 se ilustra el análisis del cloruro de vinilo gaseoso por espectroscopia infrarroja. Se muestra completamente el espectro, junto con una tabla de la respuesta instrumental en función de la concentración a una longitud de onda determinada. La absorbancia medida es para una determinada longitud de paso óptico de 20,25 m. Esto se realiza utilizando espejos para reflejar la radiación muchas veces a través de la cubeta más corta.

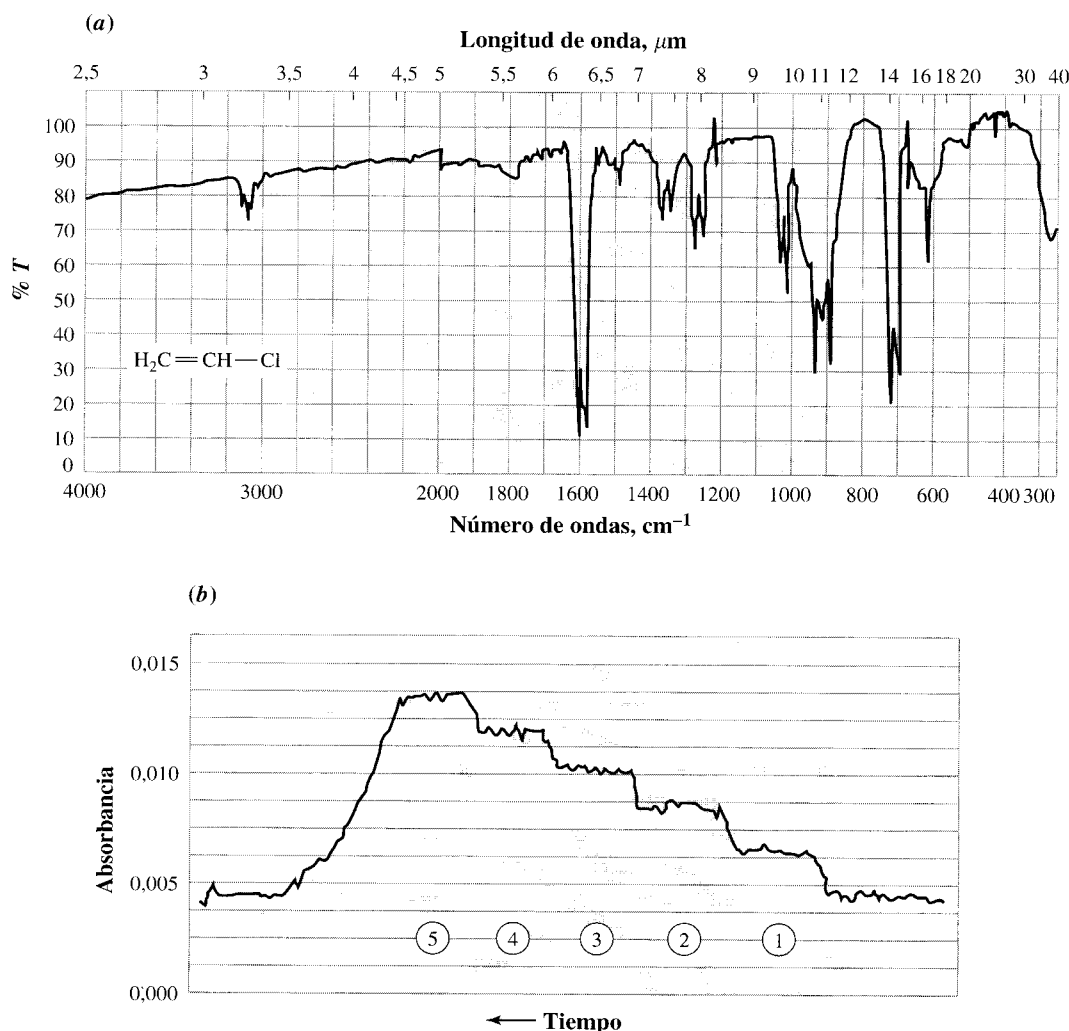
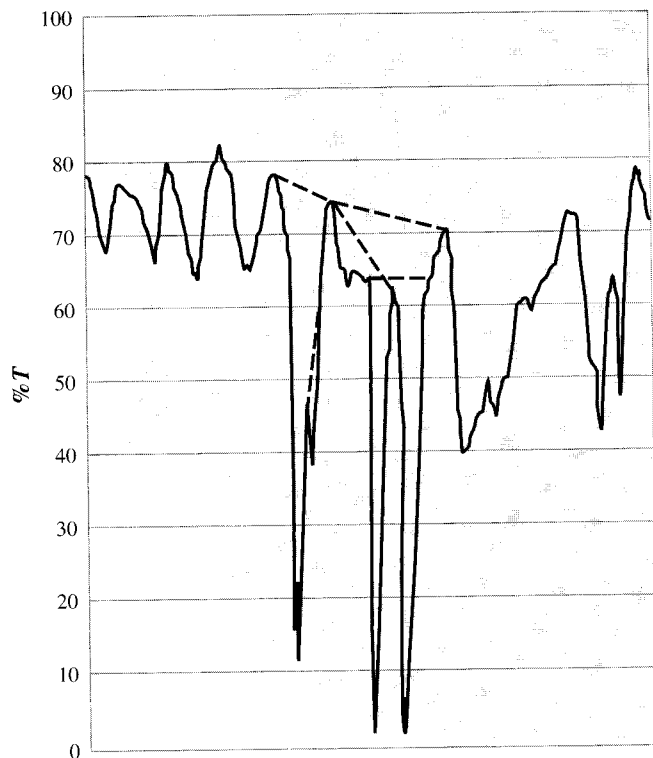


FIGURA 10.19 ▲
Espectro infrarrojo del cloruro de vinilo gaseoso.

(a) El espectro en una cubeta multipaso con una longitud de paso óptico de 20,25 m. (b) El esquema de la respuesta instrumental en el tiempo cambia con la concentración de cloruro de vinilo. Cada paso (1-5) sigue un incremento de 1 ppm de cloruro de vinilo, comenzando desde cero a la derecha. Las condiciones instrumentales son: longitud de paso óptico: 20,25 m; rendija: 2 m; tiempo constante: 2,5 s; longitud de onda del análisis: 917 cm^{-1} . [Ref.: Reeditado por Lavery, D. S., Wilks, P. A., Jr. 1977. *Spectroscopy*. Series II, Vol. II, Fairfield, CT: International Scientific Communications, Inc. 127-128.]



◀ FIGURA 10.20
**Elección de la línea base
 para la cuantificación
 utilizando espectros
 vibracionales.**

La espectroscopia Raman y la espectroscopia infrarroja se pueden utilizar para análisis cuantitativo, en el tramo del ultravioleta-visible. Sin embargo, a veces se producen problemas al elegir la línea base. Aquí se muestra un caso bastante sencillo, ya que existen unas pocas posibilidades para la elección, siempre difícil, de la línea base correcta para el pico intermedio.

Similar a la espectroscopia en otras regiones del espectro, el análisis cuantitativo se puede realizar de forma sencilla cuando las bandas individuales están completamente separadas, ajustando las mismas condiciones instrumentales para todas las muestras. Sin embargo, aparecen complicaciones en las espectroscopias vibracionales debido al gran número de bandas. Cuando las bandas se encuentran muy juntas, es muy complicado encontrar la línea base para las determinaciones cuantitativas, tal y como indica la Figura 10.20. Es mejor encontrar una banda bien separada que pueda ser utilizada.

10.9. Microespectroscopia infrarroja y Raman

La utilización hoy en día de transformadas de Fourier y los instrumentos multicanal CCD, con sus capacidades para determinaciones sensibles y para colección rápida de datos, han hecho fiable la **Microespectroscopia** IR y Raman. Aquí, *micro* se refiere a la región iluminada, no al tamaño del espectroscopio. Experimentalmente, la fuente espectral se enfoca a través de un microscopio dentro de una muestra, la luz reflejada en un punto de tamaño de un submilímetro se recoge en la misma óptica, grabándose los espectros. Esto hace posible, por ejemplo, identificar un pequeño residuo de una investigación forense, o monitorizar irregularidades en fibras individuales de un polímero, o ver las capas de pintura a lo largo de una sección. Si el haz incidente se dirige a través de una muestra, los espectros IR o Raman se pueden utilizar tanto como otras técnicas de imagen espectral microscópicas para monitorizar cambios en la composi-

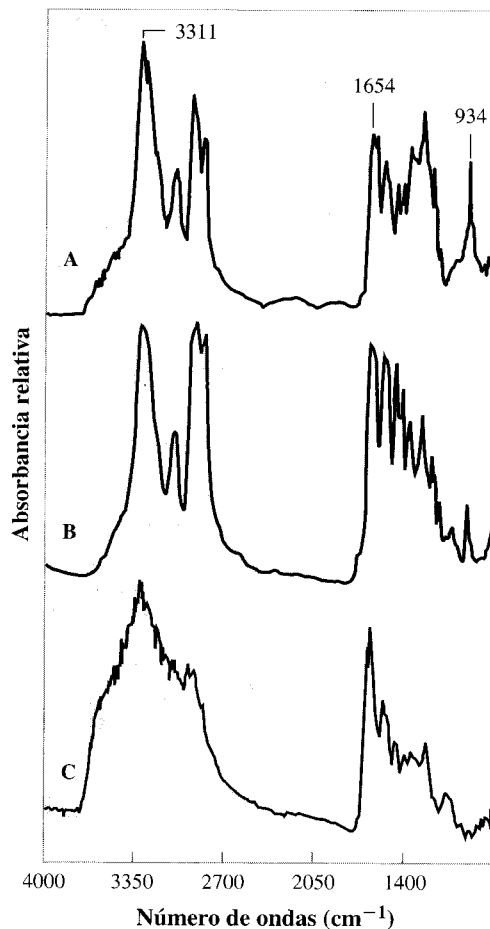


FIGURA 10.21 ►
Microespectroscopia Infrarroja en la patología de implantes.

(a) Espectros infrarrojos de nailon y una proteína cercana en la sección de un tejido. (b) Material de referencia de nailon 6/6. (c) Proteína en un tejido sin partículas de nailon. Se puede identificar el material del implante. [Ref.: Centeno, J. A., Kalasinsky, V. F., Johnson, F. B., Vinh, T. N., and O'Leary, T. J. 1992. *Lab. Invest.* 66, 123.]

ción y ver los agujeros en película o localizar impurezas. Se puede ver un ejemplo en la Figura 10.21.

La resolución espacial de la microespectroscopia infrarroja vibracional no es tan buena como, por ejemplo, la fluorescencia-UV, ya que longitud de onda infrarroja es mayor. Tal y como recordamos de los cursos introductorios de física, cuando la luz pasa a través de un agujero en una finísima placa opaca, el haz se difumina por difracción en los bordes del agujero. Esto conlleva que las dimensiones aparentes del agujero llegan a ser superiores que el agujero real. Como resultado, las áreas analizadas en cualquier momento son mayores que si el haz se propagase linealmente a través del agujero. Además, para el mismo agujero, el área irradiada aumenta cuando lo hace la longitud de onda. De esta manera el tamaño de la muestra varía linealmente con la longitud de onda.

10A. Profundizando: espectroscopias Raman

En la Figura 8.16 se puede ver una espectroscopia de fluorescencia.

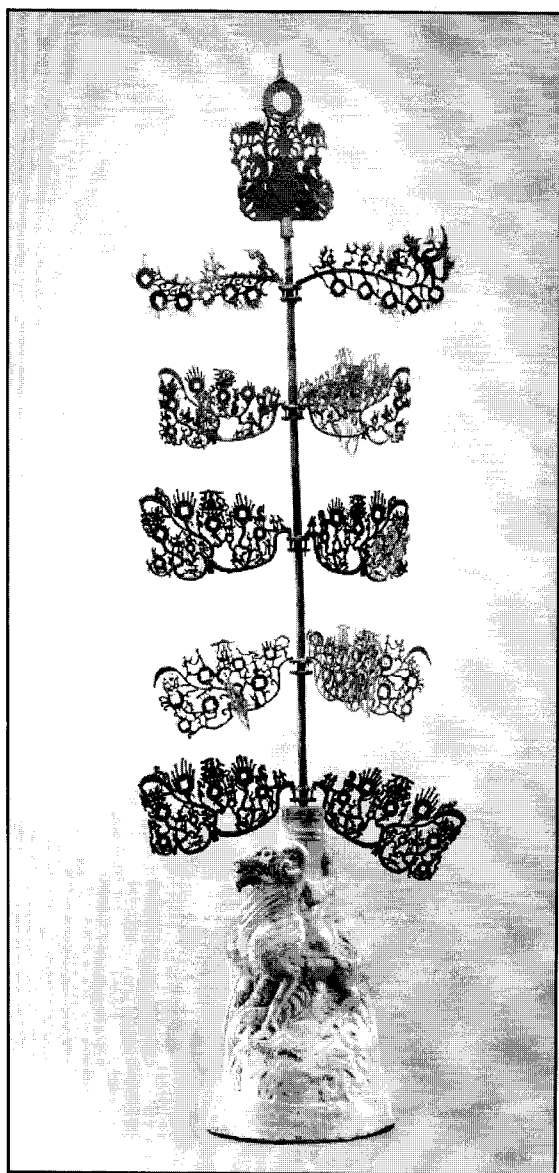
Un instrumento Raman (Figura 10A.1) es similar a un sencillo espectroscopio de fluorescencia de haz simple. Las diferencias son la fuente de luz, que es más intensa, y el monocromador, que debe ser de muy alta calidad debido a que las intensidades de las bandas Raman son muy pequeñas (10^{-5} – 10^{-6} de la luz dispersada). Si el monocromador no es de alta calidad, entonces, entre otros efectos, la luz dispersada puede causar



CASO DE ESTUDIO 10-2

Enséñame el dinero (árbol)

El Instituto de las artes de Detroit estaba considerando adquirir un árbol del dinero chino de 2000 años de antigüedad, consistente en un árbol estilizado en cuyas ramas de bronce hay representaciones de monedas. Como medida de cautela esperable en cualquier comprador —y a la vez un organismo que debe



mantener la confianza pública— el museo sometió al árbol a análisis de fluorescencia de rayos X, a microscopía electrónica de barrido y a radiografías de rayos X. También se utilizó la microscopía Raman. Como resultado, además de los análisis de elementos, se encontró información molecular muy útil.

El ensayo Raman utilizaba un láser de He-Ne con un enfoque de $6 \mu\text{m}$. En varios puntos del árbol, los espectros Raman mostraban compuestos típicos de corrosión, como son cuprita (Cu_2O), malaquita ($\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$), cerusita (PbCO_3) y óxido de plomo (PbO). Debido al pequeño tamaño del punto del láser, no sólo fue posible localizar estos compuestos en la superficie, sino también a través de la sección de pequeñas partes desprendidas de las ramas de bronce. Muchas de las secciones mostraban una progresión de la corrosión desde el interior, donde existía (Cu_2O) alrededor del metal, hasta la parte exterior donde aparecía ($\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$). Los espectros Raman se muestran a la derecha.

Al realizar una exploración sobre un área, se pudieron hacer mapas de los productos de corrosión. En la parte inferior de la siguiente página se pueden ver mapas de CuO_2 ($213\text{-}216 \text{ cm}^{-1}$) y PbCO_3 ($1049\text{-}1057 \text{ cm}^{-1}$). Las fotografías representan un área de $70 \mu\text{m}$ por $34 \mu\text{m}$. Las zonas más brillantes corresponden a las zonas de más concentración de los materiales.

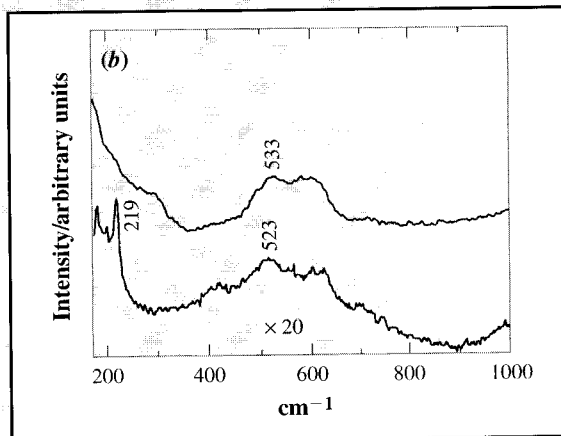
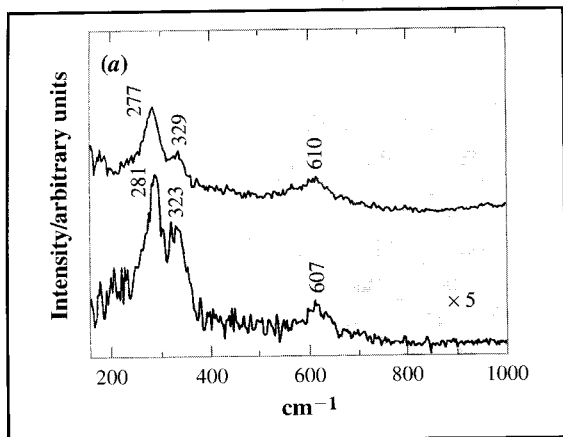
Además, durante la investigación se encontraron, analizando los espectros Raman, azul de ftalocianina, verde de ftalocianina y amarillo Hansa G. El amarillo Hansa es un tinte que se empezó a utilizar en 1910, y los tintes de ftalocianina se empezaron a utilizar en los años treinta. La mayoría de estos pigmentos se utilizaron para disimular reparaciones, aunque se desconoce cuándo fueron realizadas.

Además de este trabajo analítico, el personal del museo desarrolló diferentes estudios históricos y

«Árbol chino del dinero» China, 25/220 A.C.

Pieza de piedra barnizada en verde con bronce patinado. Altura: 138,0 cm; anchura: 49,0 cm. Fondos adquiridos por la sociedad; donación del Sr. y la Sra. Lawrence Fisher. © 1988 Instituto de las Artes de Detroit.

Enséñame el dinero (árbol). . . (continuación)

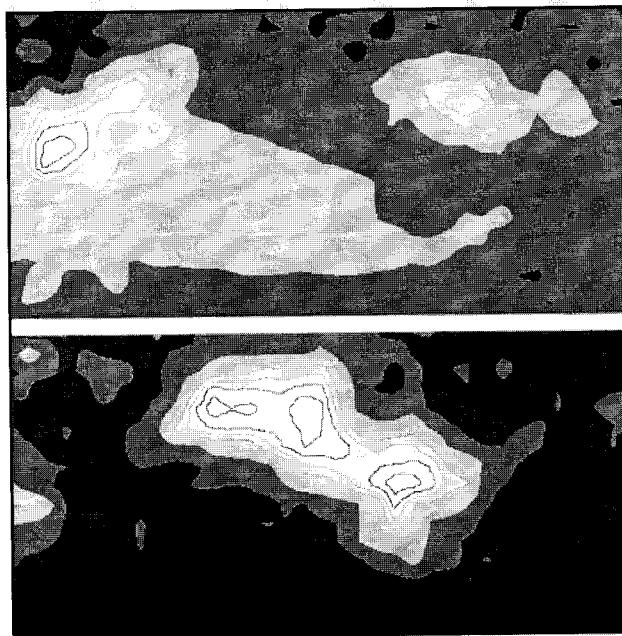


▲ Espectro Raman de la corrosión.

Los espectros superiores de cada panel provienen del árbol del dinero, y las inferiores de una muestra desconocida. (a) $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$; (b) Cu_2O . [Reproducido de *Journal of Raman Spectrometry*, L. McCann, et al. Copyright 1999. Reeditado con permiso de John Wiley & Sons, Inc.]

artísticos. El museo había llegado a la conclusión de la autenticidad del árbol del dinero y disponía de información que aseguraba su condición verdadera. El museo se encontraba en una mejor posición para negociar el pedido de esta pieza tan rara.

[Ref.: MCCANN, L. I., TRENTLMAN, K., POSSLEY, T., GOLDING, B. 1999. «Corrosión de los árboles del dinero chinos centenarios mediante la espectroscopia Raman». *Journal of Raman Spectroscopy*. 30, 121-132.] ■



▲ En la parte superior se encuentra el mapa Raman del Cu_2O , y en la parte inferior un mapa Raman de PbCO_3 , de la misma área.

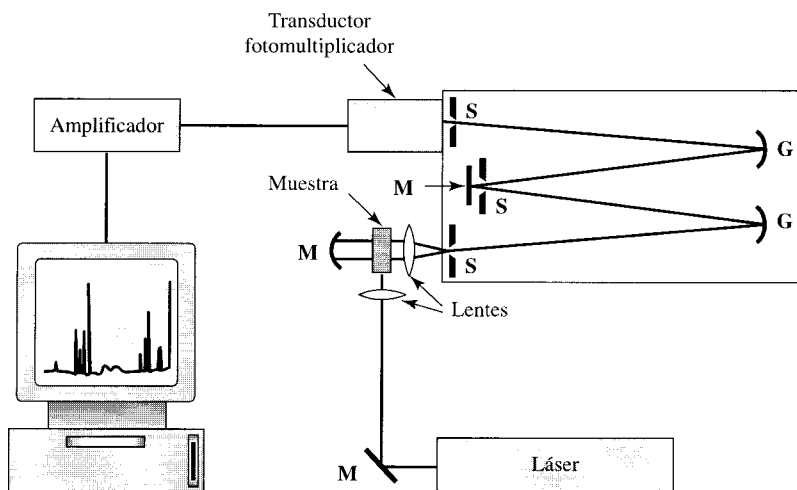


FIGURA 10A.1 ▲

Esquema de un espectroscopio Raman.

Un monocromador doble provee la resolución necesaria y limita la dispersión de la luz de la línea Rayleigh. **G** indica las redes, **M** los espejos y **S** las rendijas.

mucho ruido de fondo en un amplio intervalo de longitudes de onda. Comúnmente, para óptica convencional se utiliza un monocromador doble. Tal monocromador equivale a tomar la luz saliente de un monocromador para introducirla en otro. Como consecuencia, un monocromador posee dos rendijas con una rendija en el paso de luz entre ellos. La luz láser ilumina la muestra con un ángulo de 90° a partir del eje del monocromador. La luz, cuando se encuentra en la región visible, se detecta con un fotomultiplicador sensible de bajo ruido. El monocromador examina la longitud de onda y, junto con un registro gráfico, recoge los espectros.

Los instrumentos Raman más modernos utilizan ópticas de volumen holográfico para prevenir la dispersión Rayleigh, y tienen un amplio uso debido a su simplicidad cuando la resolución es tan alta que no se necesita un monocromador doble. Los instrumentos de transformadas de Fourier para Raman se han desarrollado para usarse como excitación en la zona cercana al infrarrojo; de forma parecida ocurre con los instrumentos de infrarrojos FT. La luz cercana al infrarrojo no excita la fluorescencia interferente ni fotoliza las muestras más inestables.

Los fotomultiplicadores se utilizan como detectores en la espectroscopia Raman: Sección 8C.

10B. Profundizando: Frecuencias características

En las tablas y las figuras de esta sección veremos dos maneras diferentes de mostrar las frecuencias características (también llamadas **grupos de frecuencias**). Estas tablas contienen una gran cantidad de datos espectroscópicos descriptivos de grupos orgánicos e iones poliatómicos inorgánicos en el infrarrojo. Nótese que algunas de las regiones son mucho más anchas que las otras, como ocurre en los alcoholes. Estas vibraciones generalmente aparecen en un ancho intervalo porque el grupo puede interactuar con otras moléculas en la matriz. Las posiciones de las bandas generalmente dependen de forma significativa del método de preparación de la muestra.

Tabla 10B.1. Frecuencias de diferentes grupos en orden descendente del número de ondas

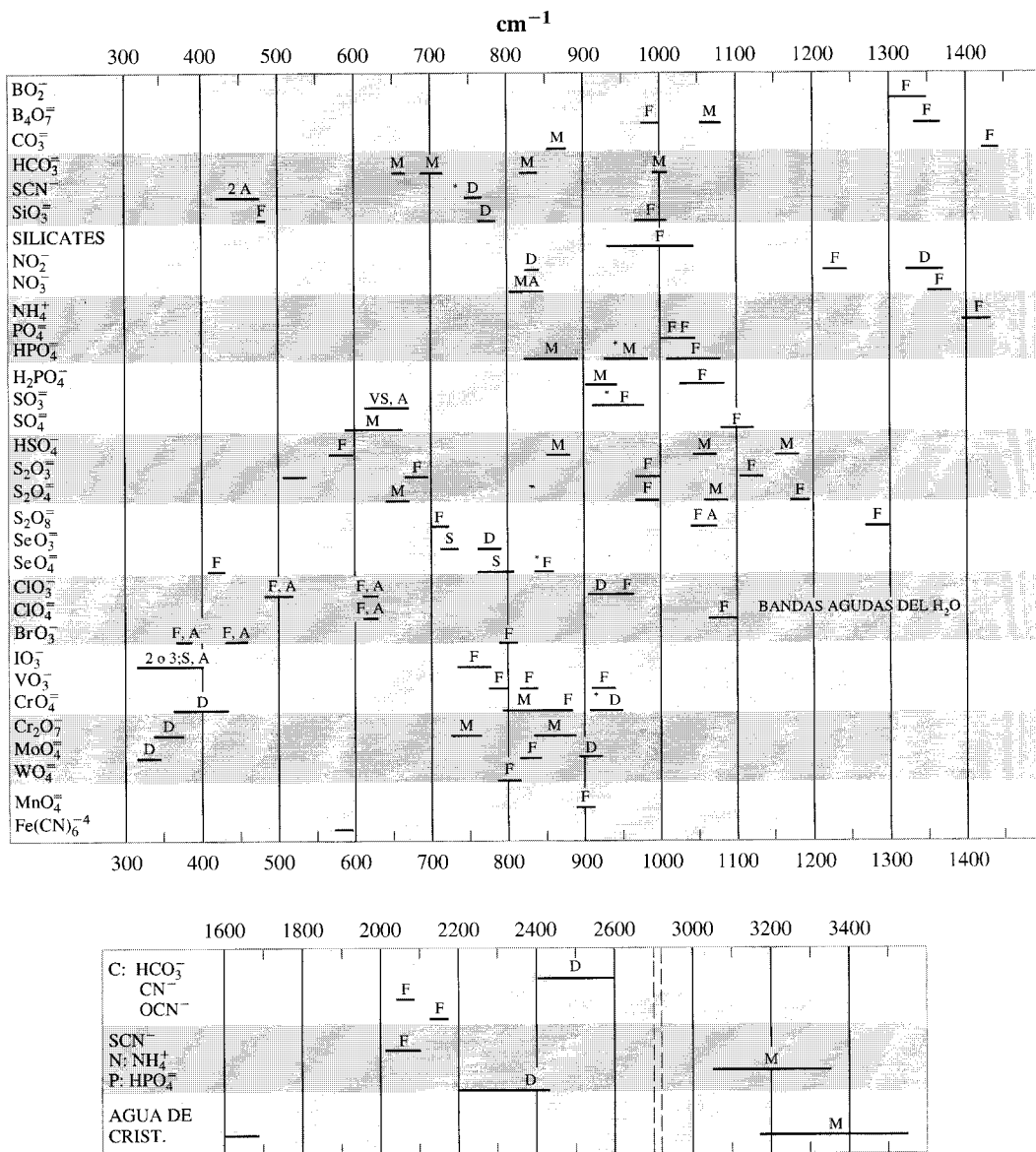
Frecuencia (cm^{-1})	Grupo y asignación
3650–3600	Alcoholes, fenoles (diluidos), O—H tensión
3500–3300	Aminas primarias (doblete), aminas secundarias N—H tensión
3500–3200	Alcoholes, fenoles (H-enlazados), O—H tensión
3500–3100	Amidas N—H tensión
3400–2400	Ácidos carboxílicos, O—H tensión
~3300	Alquinos C—H tensión
3150–3050	Aromáticos C—H tensión
3100–3000	Alkenes C—H tensión
3000–2850	Alquenos C—H tensión
2900–2700	Alcanos C—H tensión
2550	Mercaptanos S—H tensión
2270–1950	Alenos, quietanos, isocianatos, isotiocianatos X=C=Y tensión
2260–2240	Nitrilos C≡N tensión
2250–2100	Alquinos C≡C tensión
1810 y 1760	Anhídridos C=O tensión
1800	Cloruros ácidos C=O tensión
1750–1730	Ésteres C=O tensión
1740–1720	Aldehídos C=O tensión
1725–1705	Cetones C=O tensión
1725–1705	Ácidos carboxílicos, C=O tensión
1715–1650	Amidas C=O tensión (banda I de amidas)
1690–1640	Iminas y oximas C=N tensión
1680–1600	Alquenos C=C tensión
1670–1640	Amidas C=O tensión (banda II de amidas)
1640–1550	Amidas primarias y aminas secundarias N—H flexión
1600 y 1475	Aromáticos C=C tensión
1465	Alqueno —CH ₂ — flexión
1450 y 1375	Alqueno —CH ₃ flexión
1400–1000	Fluoruro C—F tensión
1375–1300, 1200–1140	Sulfones, cloruros de sulfonilos, sulfatos, sulfoamidas S=O tensión
1350–1000	Aminas C—N tensión
1300–1000	Alcoholes, ésteres, éteres, —COOH, anhídridos C—O tensión
1150 y 1350	Nitro (R—NO ₂) N=O tensión
1050	Sulfóxidos S=O tensión
1000–650	Alquenos C—H fuera del plano de flexión
900–690	Aromáticos C—H fuera del plano de flexión
800–600	Cloruro C—Cl tensión
<667	Yoduro y bromo C—X tensión

Tabla 10B.2. Tabla de correlación simplificada de vibraciones moleculares por tipo*

Tipo de vibración		Frecuencia (cm^{-1})	Intensidad [†]
C—H	Alcanos (tensión)	3000–2850	f
	—CH ₃ (flexión)	1450 y 1375	m
	—CH ₂ — (flexión)	1465	m
	Alquenos (tensión)	3100–3000	m
	(fuera del plano de flexión)	1000–650	f
	Aromáticos (tensión)	3150–3050	f
	(fuera del plano de flexión)	900–690	f
	Alquino (tensión)	ca. 3300	f
Aldehídos		2900–2800	d
		2800–2700	d
C—C	Alquenos	no interpretable	
C=C	Alqueno	1680–1600	m-d
	Aromáticos	1600 y 1475	m-d
C≡C	Alquino	2250–2100	m-d
C=O	Aldehído	1740–1720	f
	Cetona	1725–1705	f
	Ácidos carboxílicos	1725–1700	f
	Éster	1750–1730	f
	Amida	1670–1640	f
	Anhídridos	1810 y 1760	f
	Cloruro ácido	1800	f
	C—O	Alcoholes, éteres, ésteres ácidos carboxílicos, anhídridos	1300–1000
O—H	Alcoholes, fenoles		
	Libre	3650–3600	m
	enlace H	3500–3200	m
	Ácidos carboxílicos	3400–2400	m
N—H	Aminas y amidas primarias y secundarias (tensión)	3500–3100	m
	(flexión)	1640–1550	m-f
C—N	Aminas	1350–1000	m-f
C=C	Iminas y oximas	1690–1640	d-f
C≡N	Nitrilos	2260–2240	m
X=C=Y	Alenos, quetanos, isocianatos, isotiocianatos	2270–1950	m-f
N=O	Nitro (R—NO ₂)	1550 y 1350	f
S—H	Mercaptanos	2550	d
S=O	Sulfóxidos	1050	f
	Sulfones, cloruros de sulfonidos	1375–1300 y	f
	Sulfatos, sulfoamidas	1200–1140	f
C—X	Fluoruro	1400–1000	f
	Cloruro	800–600	f
	Bromuro, ioduro	<667	f

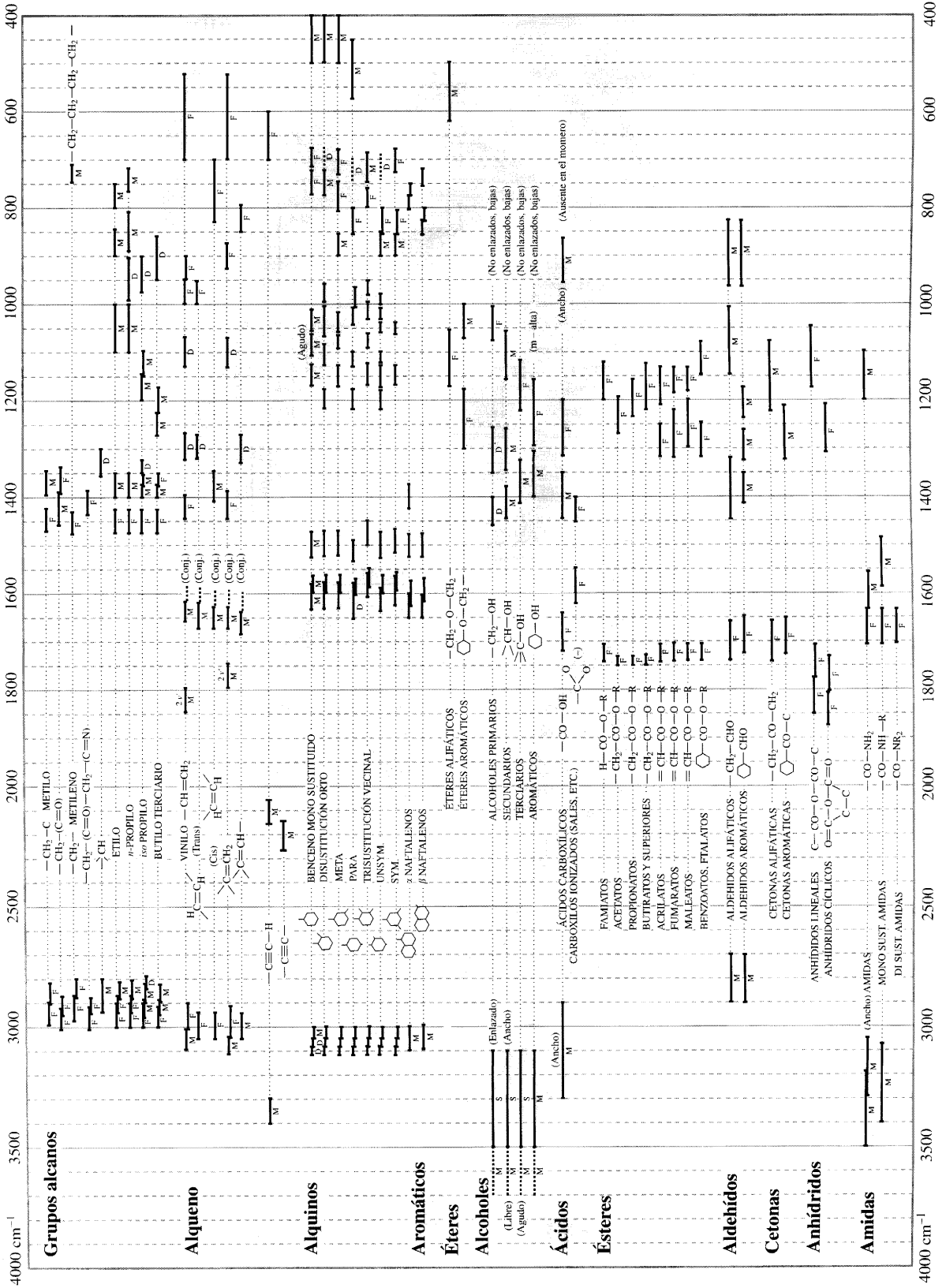
* Datos de Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. 1979. *Introducción a la espectroscopia: Guía para estudiantes de química orgánica.*

[†]f = fuerte, m = medio, d = débil.



* En la mayoría, pero no en todos los ejemplos.
 F, fuerte; M, medio; D, débil; A, agudo.

FIGURA 10B.1 ▲
Frecuencias características de grupos inorgánicos poliatómicos.



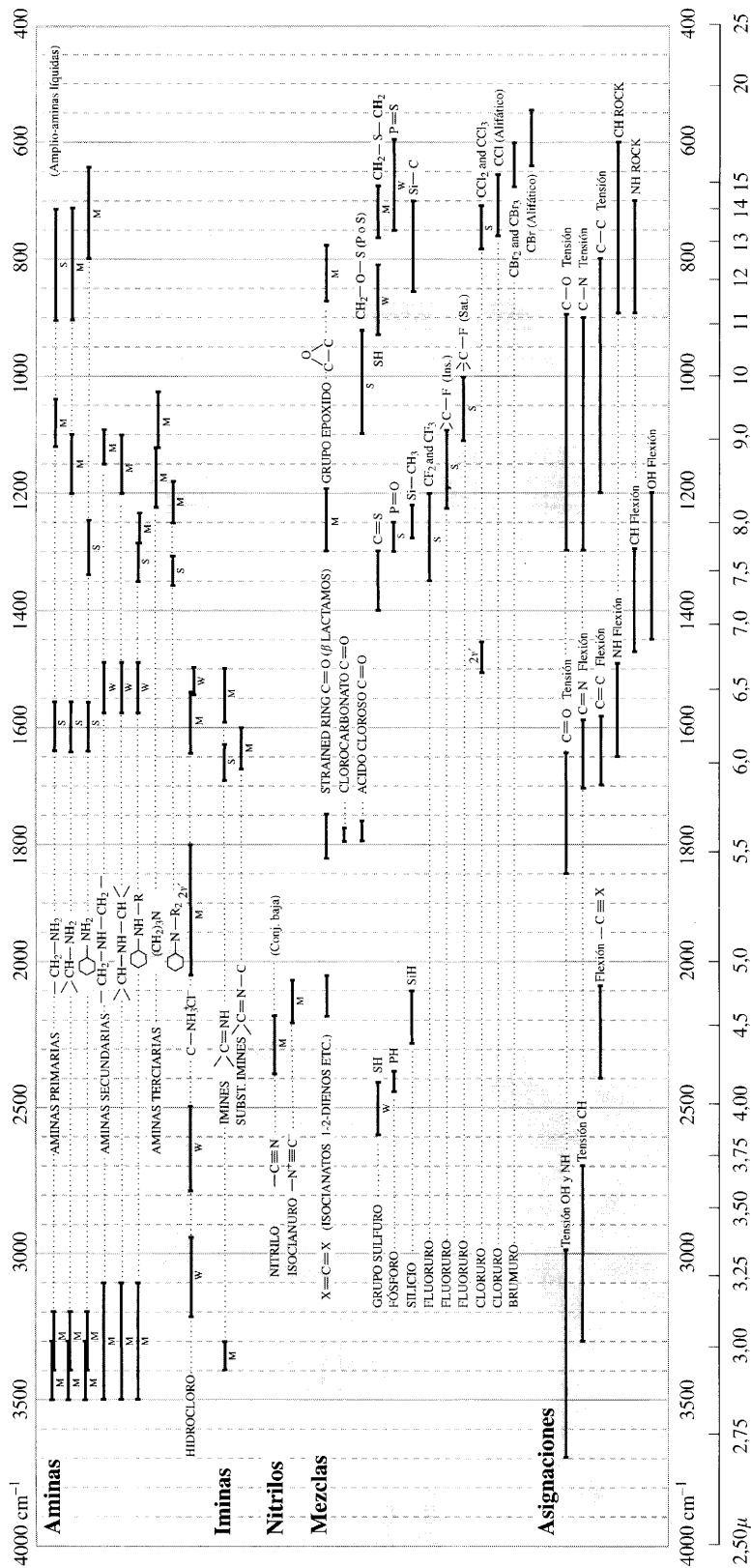


FIGURA 10B.2 ▲ Frecuencias características de grupos orgánicos poliatómicos funcionales.

Bibliografía recomendada

COLEMAN, P. B. 1993. *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Este libro es una mezcla de capítulos generales llenos de trucos útiles para la preparación de muestras IR y cualquier ajuste que dependa de la naturaleza de la muestra y del instrumento. Otros capítulos son apuntes especializados sobre tipos específicos de espectroscopia IR. Muy útil si estamos pensando en realizar análisis IR.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th ed. New York: John Wiley & Sons.

Un libro práctico introductorio, pero con un nivel riguroso acerca de la espectroscopia de masas, infrarroja y ultravioleta, así como de la resonancia magnética nuclear de protón y carbono. Actualmente se ha incluido un capítulo excelente acerca de la resonancia magnética nuclear en dos dimensiones. No es un libro de instrumentación. Muy recomendado para orgánicos.

Un buen ejemplar para leer.

LAMBERT, J. B., SHURVELL, H. F., LIGHTNER, D. A., COOKS, R. G. 1988. *Organic Structural Spectroscopy*. Upper Saddle River, N. J.: Prentice Hall.

Trata desde diferentes puntos de vista las mismas áreas experimentales, siendo mucho más extenso en la interpretación y aplicación de la química orgánica.

KISS-EROSS, K. 1976. «Comprehensive Analytical Chemistry». In *Analytical Infrared Spectroscopy*, Vol. 6. G. Svehla, ed. Amsterdam: Elsevier.

Un libro de repaso fácil de comprender, dirigido a todos los aspectos de análisis de la espectroscopia infrarroja. Las secciones teóricas son muy avanzadas. La descripción de los instrumentos está obsoleta, pero merece la pena leer esta sección por su riqueza química.

SCHRADER, B. 1995. *Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and Applications*. Weinheim: VCH.

Contiene información acerca de las técnicas Raman e infrarroja

más avanzadas para sólidos, líquidos, gases y cristales líquidos. Estudia estos aspectos en toda su amplitud. Algunos aspectos se tratan en más de un capítulo bajo diferentes puntos de vista.

FERRARO, J. R., NAKAMOTO, K. 1994. *Introductory Raman Spectrometry*. Boston: Academic Press.

Un libro completo que trata la química física de la espectrometría Raman y los métodos experimentales. Una tercera parte del libro trata sobre aplicaciones. Se incluye un apéndice con los espectros de los disolventes más utilizados. Un texto esencial.

ANDREWS, D. L. 1992. *Applied Laser Spectroscopy: Techniques, Instrumentation, and Applications*. New York: VCH Publishers.

Ofrece amplia de información acerca de cómo se realiza la espectroscopia láser. La mayoría de los capítulos contienen secciones sobre de aplicaciones de análisis químicos. Especialmente sobresaliente en la parte analítica es el capítulo acerca de las técnicas Raman.

HENDRA, P., JONES, C., WARNES, G. 1991. *Fourier Transform Raman Spectroscopy: Instrumentation and chemical applications*. New York: Ellis Horwood.

Analiza exhaustivamente la Raman-FT. La mitad del libro trata sobre instrumentación y es descriptivo (más que matemático teórico detallado). La otra mitad trata de aplicaciones en química, incluyendo polímeros y superficies: los capítulos más orientados a la teoría son difíciles.

SUËTAKA, W. 1995. *Surface Infrared and Raman Spectroscopy, Methods and Applications*. New York: Plenum.

Un libro completo que trata todos los temas con las mínimas matemáticas posibles. El abanico de aplicaciones que abarca es enciclopédico.

STROMMEN, D. P., NAKAMOTO, K. 1984. *Laboratory Raman Spectroscopy*. New York: John Wiley & Sons.

Un monografía corta que muestra numerosos ejemplos de la información que aportan los espectros Raman. No es un libro de recetas de estos espectros.

Ejercicios

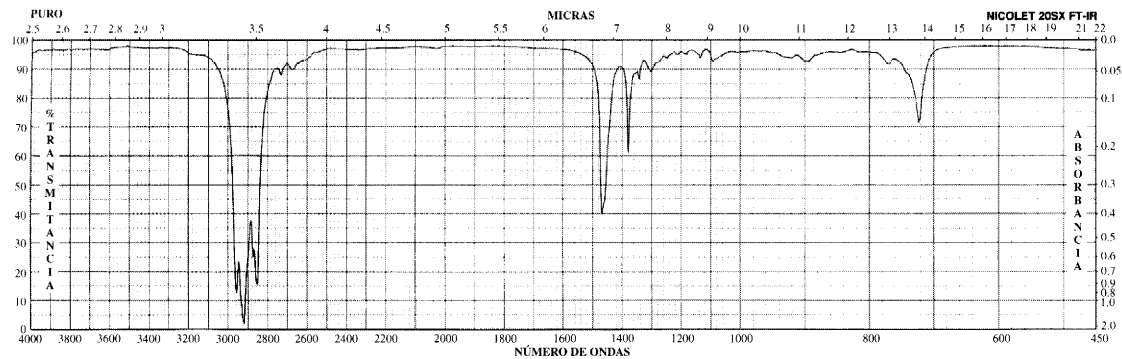
10.1. Un espectro de infrarrojo de acetato de vinilo muestra una vibración de los enlaces $C=C$ y $C=O$. Ambas bandas tienen líneas base de 80% T . Los valores de % T para los picos son, respectivamente, 23% T y 5% T . ¿Cuál es la relación entre la absorbancia del $C=O$ comparada con la vibración del $C=C$?

10.2. Dos espectroscopistas intercambian información de un componente de una solución. Un análisis se ha realizado en absorbancia. Aparece una banda específica en forma de triángulo isósceles (un buen ejemplo de aproximación) con un fwhm de 8 cm^{-1} en el espectro de absorbancia. Ambos espectroscopistas utilizan las mismas cubetas en las dos disoluciones. El segundo espectroscopista utiliza un equipo que graba el resultado en % T . Comparando entre los laboratorios las dos disoluciones estándar, se

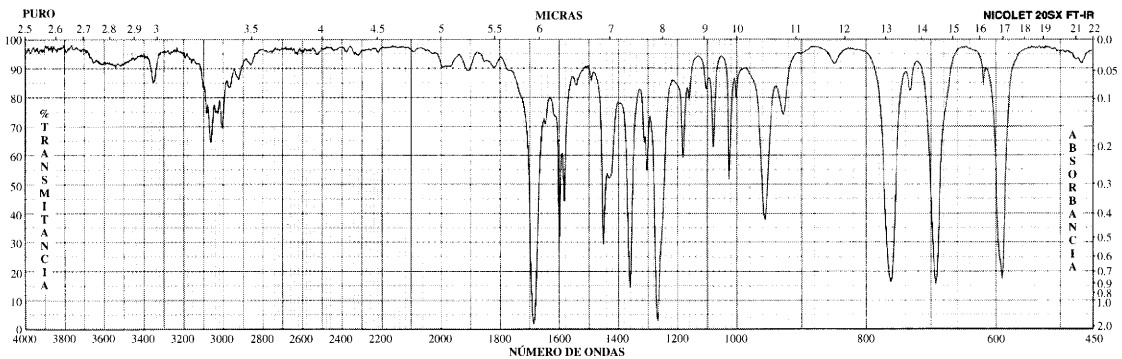
observa que tienen una banda analítica en 10% T y 1% T respectivamente, y la línea base en 85% T . ¿Cuál es la fwhm medida para las dos soluciones en el instrumento que graba el resultado como % T ?

10.3. Las líneas anti-Stokes (que se definen en la Figura 10.11) de un espectro Raman quedan reducidas en su magnitud por una cantidad proporcional a la distribución Boltzmann. Las líneas Stokes permanecen igual, ya que se originan en el estado base de la molécula. Por tanto, a temperaturas muy altas, tanto las líneas Stokes como las anti-Stokes pueden ser iguales en magnitud. Si el nivel vibracional de energía es de 459 cm^{-1} , y la temperatura de la muestra es de 298 K, ¿cuál es el cociente esperado de las intensidades de las líneas Stokes y anti-Stokes a 459 cm^{-1} ? ¿Coinciden los cálculos con los datos aportados en la Figura 10.11?

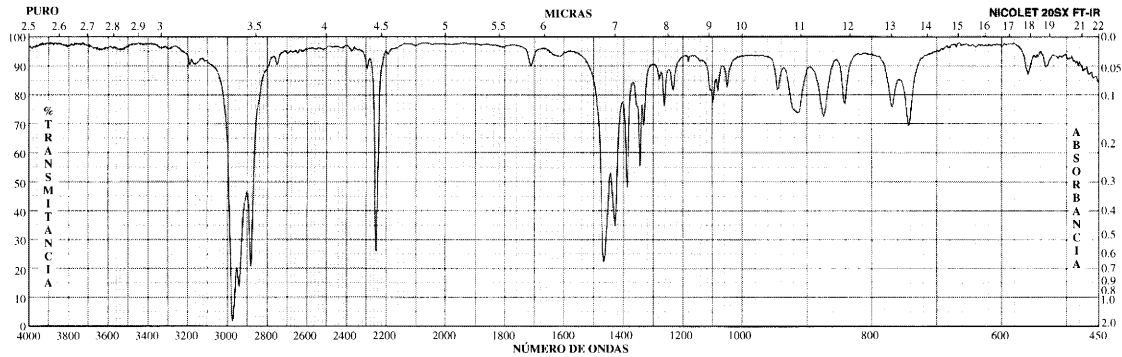
I



II



III



IV

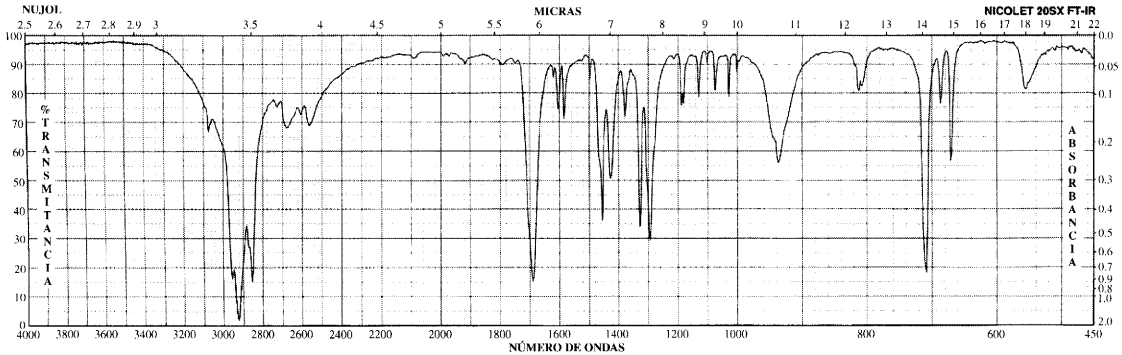
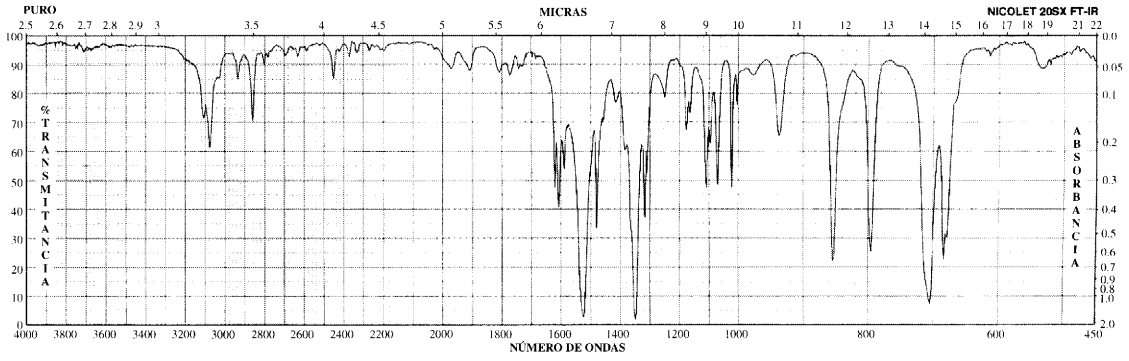
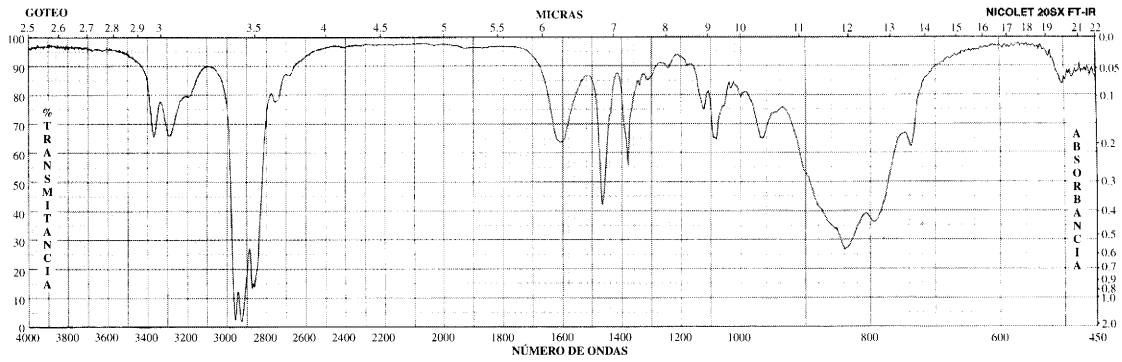


FIGURA 10.4.1 ▲

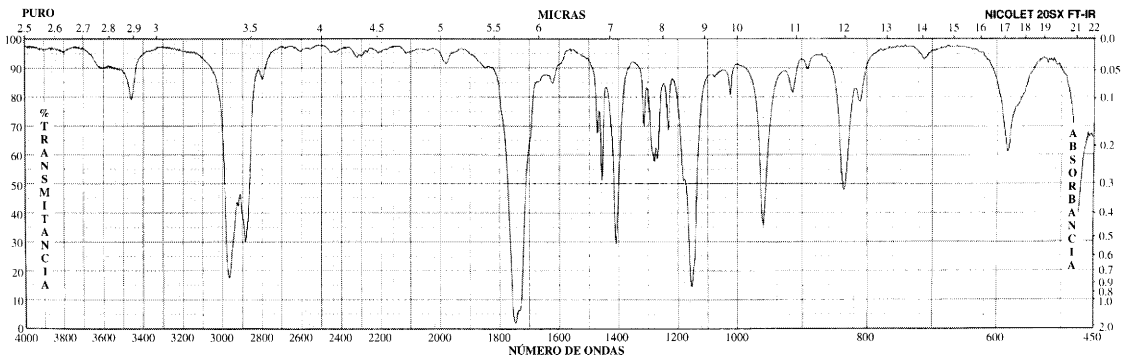
V



VI



VII



VIII

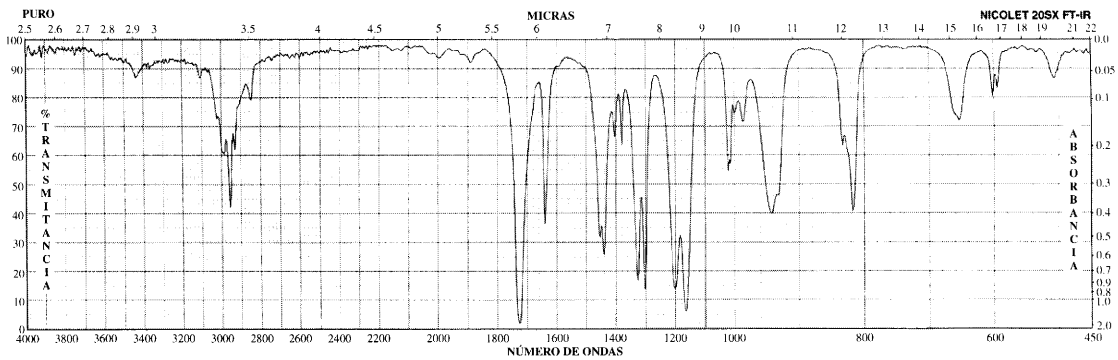
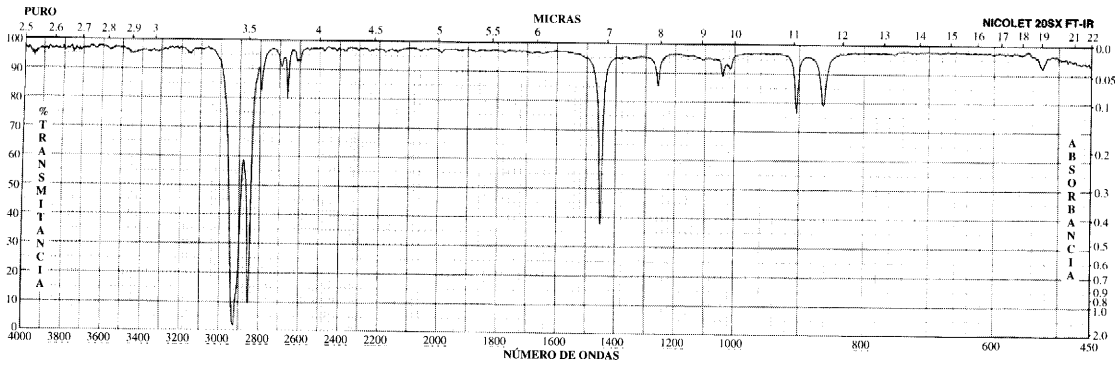


FIGURA 10.4.1 (continuación) ▲

IX



X

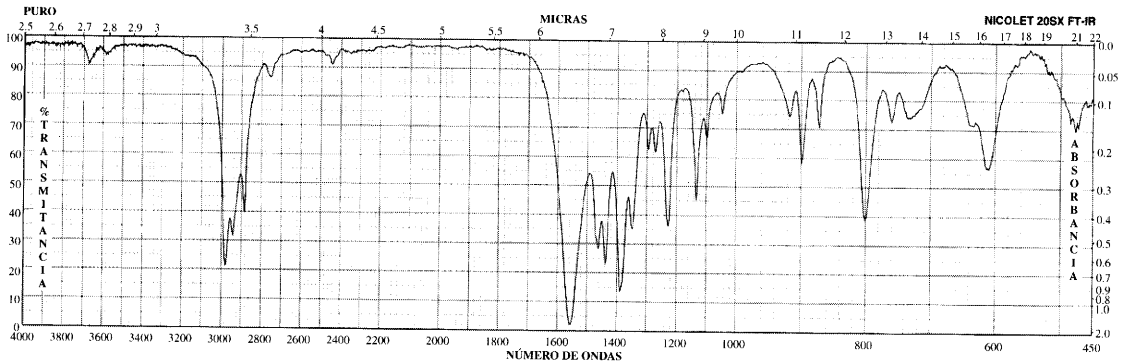
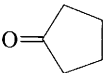


FIGURA 10.4.1 (continuación) ▲

10.4. Asígnese el espectro infrarrojo de la Figura 10.4.1 al compuesto correcto de entre las siguientes posibilidades:

- a) Decano, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$
- b) Acetofenona, $\text{CH}_3\text{COC}_6\text{H}_5$
- c) Butilnitrilo, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{N}$
- d) Ácido benzoico, HOOC_6H_5
- e) Nitribenceno, $\text{NO}_2-\text{C}_6\text{H}_5$
- f) N-butilamina, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
- g) Ciclopentanona, 
- h) Metacrilato de metilo, $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{COOCH}_3)-\text{CH}_3$
- i) Ciclohexano, C_6H_{12}
- j) 1-Nitropopano, $\text{NO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

10.5. [Un problema de desarrollo.] Supongamos que un microscopio FTIR se diseña para dejar pasar la radiación infrarroja incidente por una rendija de $5 \mu\text{m}$ de ancho. La rendija está paralela a la superficie de la muestra. Debido a que la anchura de la rendija está muy lejos de los valores de longitud de onda de un espectro IR típico,

la luz se difracta según sale de la rendija. Para esta difracción, la primera banda oscura aparece a un ángulo de θ , definido por la ecuación:

$$\text{sen } \theta = \frac{\lambda}{w}$$

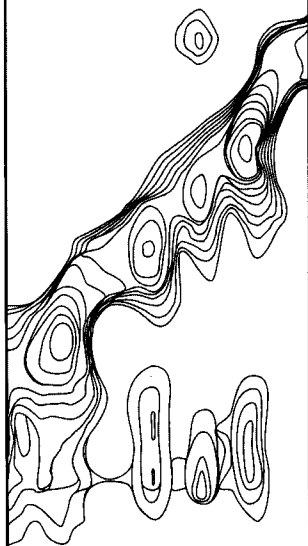
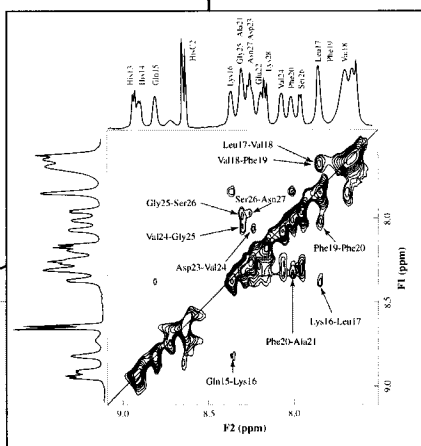
donde:

- λ = longitud de onda.
- w = anchura de la rendija.
- θ = desviación angular del máximo de intensidad, es decir, desde la mitad de la rendija.

- a) Calcúlese las longitudes de onda correspondientes a los números de onda en el intervalo 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , cada 50 cm^{-1} .
- b) Calcúlese el ángulo respecto al centro de la primera banda oscura, para cada una de las longitudes de onda halladas en el punto anterior.
- c) Supóngase que la rendija se encuentra a $10 \mu\text{m}$ de la superficie de un material. Además, supóngase que se define la «anchura» del área iluminada como la distancia entre los centros de las zonas oscuras a cada lado del máximo central. ¿Cuál es la anchura del área iluminada para cada longitud de onda?

CAPÍTULO

Espectrometría de resonancia magnética nuclear



Contenido

- 11.1. Introducción
- 11.2. Principios generales de RMN
- 11.3. Desplazamientos químicos: orígenes y valores
- 11.4. Equivalencia nuclear e inequivalencia
- 11.5. Interacción spin nuclear-spin nuclear
- 11.6. RMN-¹³C
- 11.7. Cuantificación
- 11.8. RMN de sólidos
- 11.9. RMN multidimensional

Profundizando

- 11A. Instrumentos y muestras para RMN

11.1. Introducción

La espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN), junto con la espectrometría de masa y la espectrometría de infrarrojo, es de la mayor importancia en la determinación de la estructura molecular de compuestos orgánicos y macromoléculas tanto bioquímicas como sintéticas.

La espectrometría de RMN consiste en medir la absorción de radiación de radiofrecuencia que experimenta una muestra situada en un campo magnético fuerte. La radiación que se utiliza está en el intervalo de 100 MHz (la frecuencia de FM en EE.UU.) a casi 1 GHz. Los campos magnéticos son altos; los instrumentos más sofisticados utilizan algunos de los campos magnéticos estables más altos que se pueden generar.

Como en otras espectroscopias, la fracción de potencia absorbida es proporcional a la concentración de las especies absorbentes mientras que la energía de la transición se determina a partir de propiedades moleculares y atómicas. No obstante, en la espectroscopia de RMN, la energía también depende de la magnitud del campo magnético.

Un instrumento de espectrometría de RMN mide el espectro de una especie atómica cada vez. Los núcleos atómicos más comúnmente medidos son ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{32}P . El núcleo más comúnmente medido es, con diferencia, RMN- ^1H , denominada frecuentemente RMN de protón. La RMN de protón no sólo es la más medida sino que también es, inherentemente, la más sensible, por dos razones. En primer lugar, el protón presenta el mayor núcleo magnético y, en segundo lugar, casi el 100% de la abundancia isotópica natural del hidrógeno es ^1H . El siguiente núcleo de RMN más medido es el ^{13}C . No obstante, RMN- ^{13}C (leído «RMN de carbono trece» o «RMN de C trece») es intrínsecamente menos sensible y, además, la abundancia natural de ^{13}C —el isótopo que es activo por RMN— es sólo del 1,1%. Por estas razones, un buen espectro requiere muestras enriquecidas de ^{13}C , muestras más concentradas o bien tiempos de recogida de datos más largos (días). Sin embargo, en la práctica RMN- ^{13}C es realmente útil.

En RMN- ^1H , se utilizan generalmente disolventes que no contienen hidrógeno (por ejemplo, CCl_4) o disolventes deuterados (por ejemplo, D_2O). Si no, la absorción de RMN de protón del disolvente podría superponerse a la de la muestra. La señal del disolvente se podría suprimir, pero entonces se perdería información.

En este capítulo nos centramos en primer lugar en el estudio de estructuras de moléculas orgánicas pequeñas en disolución. No obstante, se han dado grandes pasos tanto en el análisis de la estructura de proteínas de hasta 10.000 daltons aproximadamente como en el estudio de la estructura de sólidos y superficies. Este breve capítulo únicamente sugiere la variedad de experimentos y la información que proporcionan.

11.2. Principios generales de RMN

Los núcleos de muchos átomos poseen un **momento magnético**. Esto significa que actúan como pequeñas barras magnéticas —dipolos magnéticos—. En un campo magnético, un núcleo como ^1H o ^{13}C puede alinearse sólo en dos direcciones relativas al campo, y no en otra intermedia. En otras palabras, la orientación de un dipolo nuclear está cuantizada. Como se ilustra en la Figura 11.1, el estado fundamental es el nivel de energía de los núcleos cuando el dipolo magnético está alineado con el campo magnético, y el estado excitado es el nivel de energía cuando el dipolo magnético está alineado en contra del campo magnético. En un experimento de RMN, cuando la radiación de radiofrecuencia tiene la frecuencia correcta, los imanes magnéticos nucleares absorben energía, y así suben del estado fundamental al estado excitado.

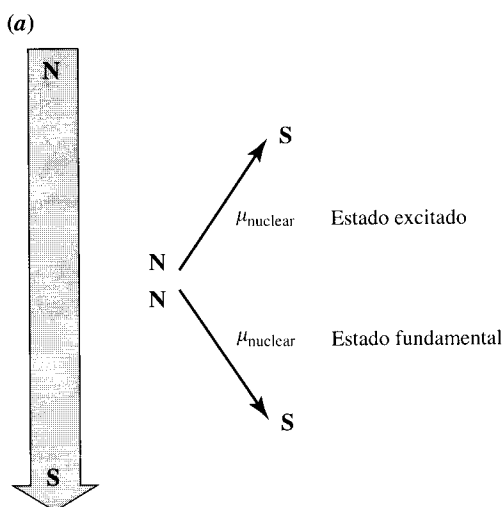
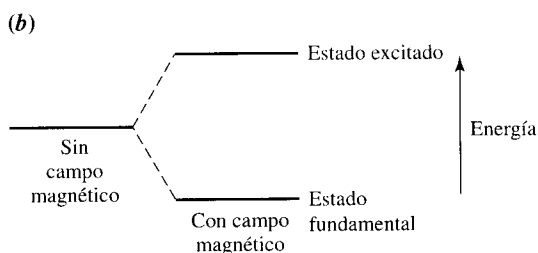


FIGURA 11.1 ►
La transición espectroscópica para la resonancia magnética nuclear.

Se necesita energía para reorientar los imanes magnéticos en un campo magnético. La energía es absorbida y reemitida a la frecuencia característica del núcleo en su entorno local.

(a) La flecha grande representa el campo magnético externo. Las dos flechas más pequeñas representan el dipolo de un núcleo con un spin nuclear $I = 1/2$.

(b) Un diagrama de niveles de energía para el sistema en (a). El desdoblamiento es proporcional al campo.



Los espectros de energías de radiofrecuencia se miden y se representan como picos estrechos que surgen de la línea de base. La frecuencia a la que tiene lugar la absorción de energía en un experimento de RMN depende de dos factores:

1. La identidad del núcleo.
2. La fuerza del campo magnético.

La relación se escribe algebraicamente como:

$$\nu_{\text{resonancia}} = \left(\frac{\gamma}{2\pi} \right) \cdot H \quad (11-1)$$

donde $\nu_{\text{resonancia}}$ es la **frecuencia de resonancia**, y H es la fuerza del campo magnético en el núcleo. γ es una constante, cuyo valor depende de la identidad del núcleo; se denomina **relación giromagnética**. La Tabla 11.1 enumera los núcleos de RMN medidos más comúnmente. Estos cinco son, con mucho, los que se han investigado experimentalmente con mayor facilidad (aunque la electrónica de la instrumentación es aún bastante sofisticada) y presentan los espectros más fácilmente comprensibles. En este capítulo sólo se presentan en detalle los usos analíticos de los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C .

Los primeros investigadores de las técnicas de RMN esperaban que la RMN podría utilizarse para hacer medidas precisas de los radios giromagnéticos de los núcleos. No obstante, la realidad intervino demostrando que, para una frecuencia fija, el campo en resonancia variaba en función del entorno químico del núcleo. Este efecto se denominó despla-

Tabla 11.1. Fuerzas de campo y frecuencias de resonancia asociadas de los cinco núcleos más investigados

Isótopo	Fuerza de campo H_0 en teslas [†]	Frecuencia de resonancia en MHz	Numero cuántico de spin nuclear, I
¹ H	1,41	60,0	1/2
	2,35	100,0	
	7,04	300,0	
	11,74	500,0	
	17,61	750,0	
	21,14	900,0	
² H	2,35	15,3	1*
¹³ C	2,35	25,1	1/2
¹⁹ F	2,35	94,0	1/2
³¹ P	2,35	40,5	1/2

[†] Tesla es la unidad del SI. La unidad gauss también se utiliza: 10^4 gauss = 1 tesla (abreviación T).

* Deuterio, con un número cuántico nuclear $I = 1$, tiene *tres* niveles de energía diferentes en un campo magnético.

zamiento químico. Este «problema» es una de las razones por las que RMN es una técnica de tanta utilidad analítica en química. Como se verá, el desplazamiento químico es predecible a partir del entorno químico específico del núcleo.

A través de experimentos, se descubrió que el desplazamiento químico era proporcional a la magnitud del campo magnético local. Este resultado se puede expresar algebraicamente modificando la Ecuación 11-1 con un **parámetro de apantallamiento** de campo magnético, σ . Para incluir los efectos químicos, sustituimos $H_0(1 - \sigma)$ por H en la Ecuación 11-1. H_0 representa el valor del campo magnético externo aplicado. Esta sustitución da lugar a

$$\nu_{\text{resonancia}} = \left(\frac{\gamma}{2\pi} \right) \cdot (H_0 - \sigma H_0) \quad (11-2)$$

No obstante, no hay manera de conocer el campo de los núcleos de la muestra cuando no hay apantallamiento, por lo que no podemos conocer el valor de σ a través de un experimento de RMN. En consecuencia, la Ecuación 11-2 tiene poca utilidad práctica. Este problema se puede resolver utilizando un desplazamiento *relativo* de frecuencia comparado con un compuesto de referencia. El desplazamiento relativo también se denomina *desplazamiento químico*, y se representa por δ . La ecuación que define el desplazamiento es:

$$\delta(\text{ppm}) = \frac{\nu(\text{muestra}) - \nu(\text{referencia})}{\nu(\text{referencia})} \times 10^6 \quad (11-3)$$

Hoy en día, los experimentos se llevan a cabo exclusivamente con campos fijos. No obstante, por razones históricas, los espectros se describen en términos de desplazamientos de campo. Por tanto, la ecuación de δ es:

$$\delta(\text{ppm}) = \frac{H_0(\text{referencia}) - H_0(\text{muestra})}{\nu(\text{referencia})} \times 10^6 \quad (11-4)$$

como si la frecuencia permaneciera constante.

Como se indica en las Ecuaciones 11-3 y 11-4, las unidades del desplazamiento químico son **partes por millón** (ppm). (No se debe confundir con la medida en ppm del contenido químico.) Se utiliza un compuesto de referencia como estándar interno del desplazamiento químico. El estándar interno en espectros de RMN- ^1H de muestras que disuelven en disolventes orgánicos está ya acordado: es tetrametilsilano ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, abreviado TMS). Las razones de esta elección se verán claramente a medida que se describan las propiedades de los espectros de RMN. En la escala de desplazamiento químico (δ), la señal de la resonancia de ^1H del tetrametilsilano aparece a $\delta = 0,00$ ppm *por definición*. En disolventes orgánicos, un estándar común es trimetilsililpropanosulfonato, con $\delta = 0,015$ ppm. Su fórmula es $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$.

EJEMPLO 11.1

Supóngase que se realiza un espectro a una frecuencia de 300 MHz y un campo de 70460 gauss, utilizando TMS como referencia. La resonancia de protón de la muestra aparece a una frecuencia 1080 Hz mayor que la del estándar. ¿Cuál es el desplazamiento químico?

Solución:

De la definición del desplazamiento químico en la forma de la Ecuación 11-3,

$$\delta = \left(\frac{1080}{300 \times 10^6} \right) \times 10^6 = \frac{1080}{300} = 3,6 \text{ ppm}$$

El valor de 300×10^6 Hz se usa como denominador. Ésta es la frecuencia de resonancia del estándar. Podríamos utilizar con igual facilidad la frecuencia de resonancia de la muestra, 300001080 Hz. El resultado calculado es el mismo, más allá de la precisión del experimento.

Las diferencias de frecuencia debidas al efecto del desplazamiento químico son relativamente pequeñas. Para una frecuencia de resonancia de 100 MHz, el intervalo de desplazamiento químico encontrado para ^1H es sólo de 100 Hz aproximadamente. En términos de cambio relativo, esto representa solamente 10 ppm. Experimentalmente, es bastante difícil mantener suficientemente estable la frecuencia de irradiación, los amplificadores del detector y el campo magnético, para realizar las medidas de una manera precisa y reproducible. Sin embargo, se deben mantener dichas condiciones porque en RMN, como en otras espectrometrías, el ancho de banda instrumental experimental debe ser significativamente más pequeño que el ancho inherente de línea espectral (de tan sólo 0,1 Hz) para obtener espectros no distorsionados.

La RMN, como muchas otras técnicas analíticas, es el producto del trabajo de muchas personas. Durante este desarrollo, aparecieron dos escalas de desplazamiento químico: la escala delta (δ) y la escala tau (τ). Por definición, $\tau = 10,00$ ppm para TMS y aumenta *con* el campo. La escala δ aumenta en la dirección opuesta. La relación entre estas dos escalas se ilustra en la Figura 11.2. Prácticamente todos los datos en los estudios de química se dan en escala delta. Cuando se encuentran valores τ en publicaciones antiguas, es fácil hacer la conversión entre las dos escalas usando $\delta = 10 - \tau$.

El ancho de línea: la relación ancho de banda se desarrolla en la Sección 8.5. Para el ancho de banda efectivo en espectros de transformada de Fourier, véase el Capítulo 17.

Magnitud de la señal y concentración

Como en otros métodos espectrométricos, la frecuencia (o longitud de onda) es función de las propiedades internas de las moléculas, y la magnitud de la absorción de energía es función de la concentración. En espectrometría de RMN, las áreas situadas bajo los picos se miden por integración electrónica. Véase la Figura 11.3.

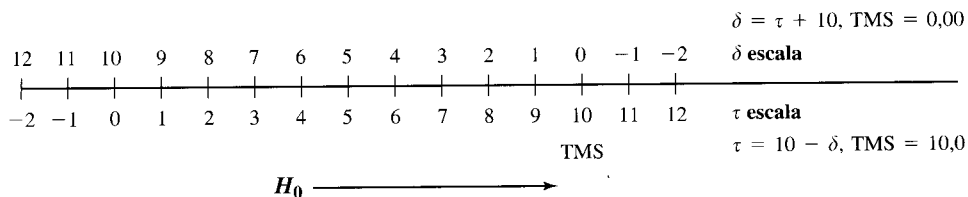


FIGURA 11.2 ▲

Ilustración de la relación entre las dos escalas de desplazamiento químico de RMN.

La posición de resonancia del tetrametilsilano (TMS) se define como $\delta = 0,0000$ ppm. El intervalo mostrado aquí es típico de espectros de ^1H . Otros núcleos de RMN, por ejemplo ^{19}F y ^{13}C , exhiben intervalos de desplazamiento químico más anchos.

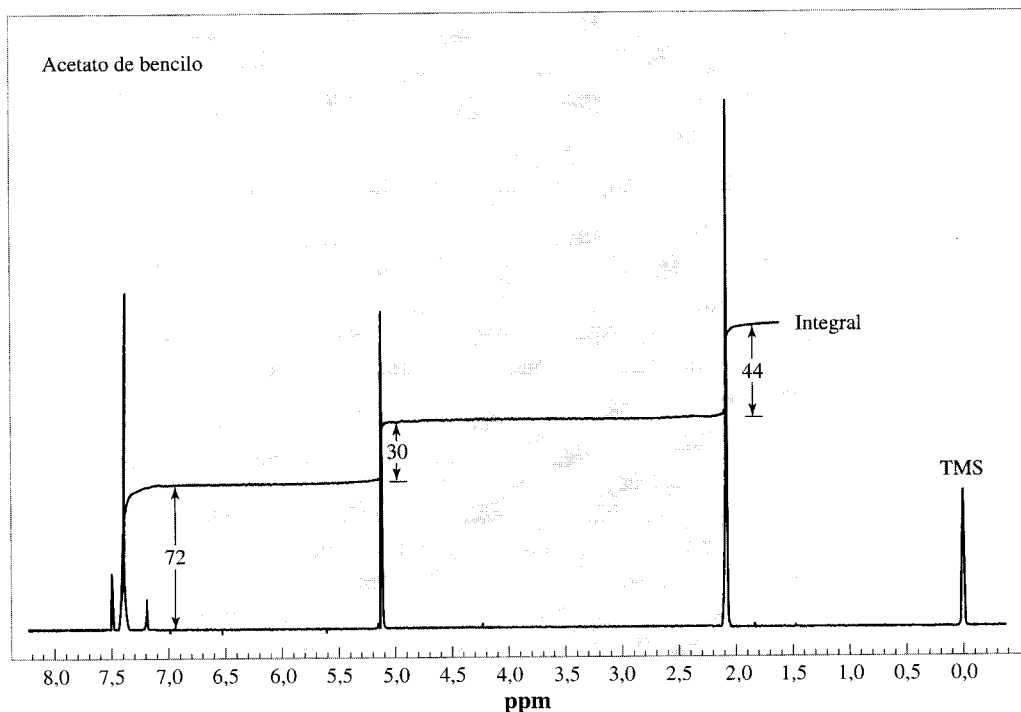


FIGURA 11.3

Un espectro de RMN- ^1H a 250 MHz con integración de picos.

La muestra es acetato de bencilo limpio con un estándar interno de TMS.

En espectrometría de RMN, la áreas integradas bajo los picos son sólo valores relativos, que dependen del número de núcleos que contribuyen al pico. Éste es uno de los puntos fuertes del método de RMN:

Cada protón, cuando absorbe energía, contribuye en igual proporción a un espectro simple de absorción de RMN.

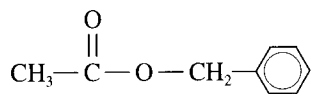
La magnitud de la absorción es independiente del desplazamiento químico cuando el experimento se lleva a cabo con cuidado. Utilizando concentraciones estándar se consigue obtener espectros de RMN con concentraciones absolutas.

EJEMPLO 11.2

Asígnense los tres picos del espectro de RMN del acetato de bencilo, que se muestra en la Figura 11.3.

Solución:

La estructura del acetato de bencilo es:



Obsérvese que todos los protones contribuyen igual a un espectro simple de RMN. En el acetato de bencilo, cinco protones están situados en el anillo, tres en el grupo metilo y dos en el grupo bencilo. El área situada bajo cada pico debe relacionarse con un número integral de protones. El espectro integrado es la línea con tres escalones de alturas 72, 30 y 44 unidades de integración. Busquemos ahora el valor de la integral que corresponde a un protón de la fórmula molecular.

Si dividimos por la altura menor obtenemos:

$$\frac{72 \text{ unidades}}{30 \text{ unidades}} = 2,40 \quad \frac{30 \text{ unidades}}{30 \text{ unidades}} = 1,00 \quad \frac{44 \text{ unidades}}{30 \text{ unidades}} = 1,47$$

Las relaciones obtenidas no son números enteros, como se desearía, pero se aproximarán si multiplicamos por 2. (En otras palabras, 15,0 unidades en la curva integral correspondería a un protón.) Llevando a cabo la multiplicación por 2, obtenemos:

$$4,80:2,0:2,93$$

que se aproxima a

$$5:2:3$$

dentro de la precisión de la medida. Como regla general, las integrales de los picos en RMN-¹H son correctas, con una precisión del ±10%.

De este cálculo sencillo de relaciones (permitiendo un margen de error en la medida de la integral) asignamos el pico de mayor campo bajo, $\delta = 7,4$, a la absorción de energía de resonancia de los cinco protones del anillo. Similarmente, el pico intermedio, a 5,1 δ , se asigna a los dos protones bencílicos. Y el pico a mayor campo alto, a 2,0 δ , se asigna a los tres protones del grupo metilo.

La cuantificación de otros núcleos, como ¹³C o ³¹P, requiere más atención a las condiciones experimentales pues las áreas integrales por núcleo pueden depender del entorno químico local. Por ejemplo, las áreas de ¹³C tienden a variar dependiendo del número de protones enlazados. Un carbono que no tiene protones, por ejemplo S¹³CN⁻, a menudo produce un pico mucho más pequeño que los originados por los grupos C-H, C-H₂ y C-H₃. En otras palabras, para una mezcla equimolar de ¹³CH₃OH y S¹³CN⁻, no es nada probable que las líneas de resonancia de ¹³C tengan la misma altura o área.

11.3. Desplazamientos químicos: orígenes y valores

Origen de σ , el parámetro de apantallamiento

La Ecuación 11-2 es una descripción algebraica de un resultado experimental. El campo magnético del instrumento se reduce aparentemente debido a algún campo magnético opuesto que se origina *dentro* de la muestra. Esta reducción en el campo magnético del

núcleo se denomina **apantallamiento**. Este campo interno se explica debido a la presencia de una densidad de electrones alrededor del núcleo: cuanto mayor es la densidad de electrones, mayor es el apantallamiento.

Supongamos que llevamos a cabo un experimento a una radiofrecuencia fija y a un campo magnético variable. Como la resonancia ocurre cuando el campo y la frecuencia alcanzan la condición de resonancia —Ecuación 11-1—, debemos aumentar el campo externo para compensar la reducción causada por el efecto de apantallamiento, si queremos observar una resonancia. Cuanto mayor es la densidad electrónica alrededor de un protón, más tenemos que aumentar el campo magnético externo para observar absorción de resonancia. Como los protones altamente apantallados necesitan un campo alto para conseguir la condición de resonancia, las líneas espectrales se dice que están a **campo más alto** que las de protones menos apantallados. Estas relaciones se ilustran en la Figura 11.4. Un resultado general más importante se explica a través de este fenómeno:

El desplazamiento químico de un núcleo resonante depende de la estructura química de su entorno.

Esto nos dirige a una de las grandes ventajas de los espectros de RMN en química. Los intervalos de desplazamiento químico de protones que tienen distintos entornos químicos son específicos de dichos entornos.

Como resultado de las regularidades de los desplazamiento químicos, podemos hacer una **tabla de correlación** entre los desplazamientos químicos observados y la identidad de los grupos químicos donde están unidos los protones. La Figura 11.5 refleja algunas correlaciones generales que demuestran algunas de dichas regularidades químicas. Una figura de este tipo más detallada se muestra en la Figura 11.6. La lista de intervalos de desplazamiento químico por especie química se expone en la Tabla 11.2. En los espectros de ^{13}C se aprecian correlaciones similares. (Véase Figura 11.24.)

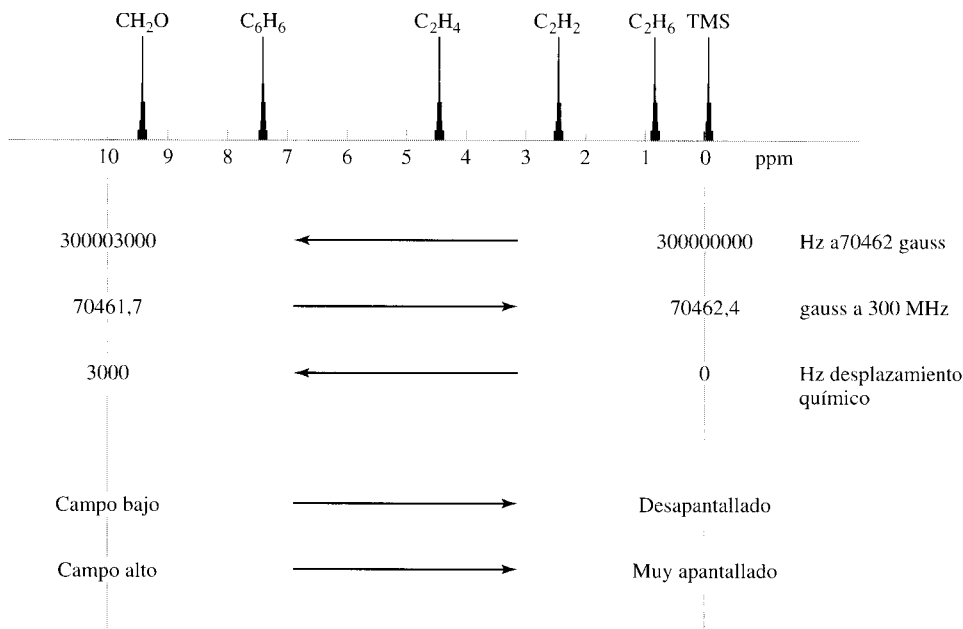
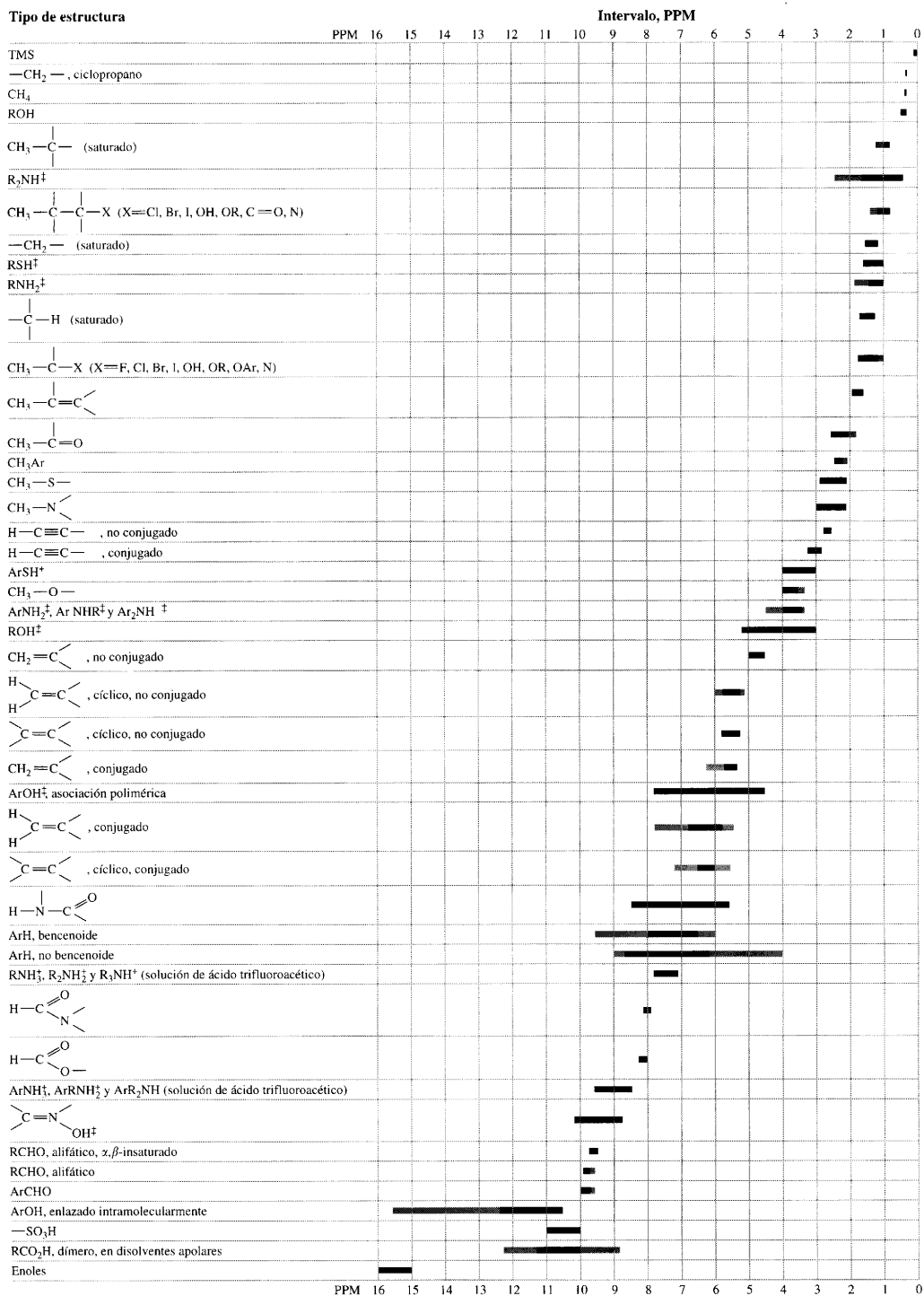


FIGURA 11.4 ▲
Parte de la nomenclatura y valores numéricos encontrados en espectros de RMN-¹H.

Los valores numéricos se aplican a instrumentos de 300 MHz.



[‡] Las posiciones de absorción de estos grupos son dependientes de la concentración; tienden a cero ppm en disoluciones más diluidas.

FIGURA 11.6 ▲ Intervalos típicos de desplazamientos químicos de absorción de RMN para protones en varios entornos químicos.

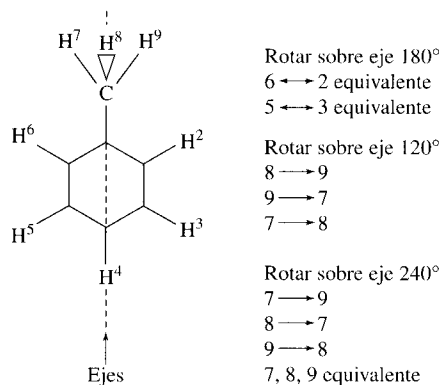
Las áreas claras son posibles regiones aunque en casos extremos. [Basado en Dyer, J. R. 1965. *Applications to Absorption Spectroscopy of Organic Compounds*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. Reproducido con permiso.]

Debido a estas correlaciones, la asignación de los picos de resonancia para el acetato de bencilo realizada en el Ejemplo 11.2, puede hacerse únicamente a partir de los desplazamientos químicos. Los desplazamientos químicos en la Figura 11.5 o en la Tabla 11.2 muestran que los protones de un anillo aromático con un carbono enlazado se espera que aparezcan a 7,1 ppm aproximadamente. Los protones metílicos de un grupo acetato se espera que aparezcan a 2,0 ppm ($\text{CH}_3\text{—CO—O—Ar}$). Los protones metilénicos son los únicos que quedan, y aparecen a 5,1 ppm.

Como en otras espectrometrías, podemos no tener suficiente potencia de resolución para separar todas las transiciones espectrales, y es lo que ahora sucede. Por ejemplo, el pico asignado a los cinco protones del anillo puede resolverse en un conjunto complejo de picos, utilizando instrumentos que midan los espectros con mayor resolución. Esto nos lleva al tema de la siguiente sección.

11.4. Equivalencia nuclear e inequivalencia

Hemos visto cómo los picos del espectro de RMN del acetato de bencilo se pueden asignar a tres tipos de protones en la molécula. Además, en la Figura 11.3 a $\delta = 0,00$, podemos ver el pico correspondiente al estándar interno de TMS. La molécula de TMS, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, tiene 12 protones, pero en el espectro de RMN sólo aparece un pico. Cuando las resonancias de dos o más protones dan lugar a un *único* pico, se dice que los protones son **químicamente equivalentes**. Informalmente se denominan protones **equivalentes**, y el pico a que dan lugar, **singlete**. En la Figura 11.7 se ilustran más ejemplos de moléculas con picos de protones equivalentes.



Todos los protones son equivalentes para cada uno de éstos.

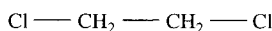
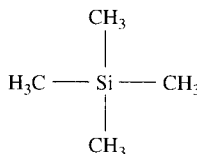
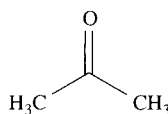
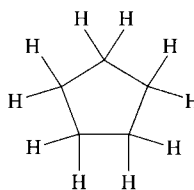
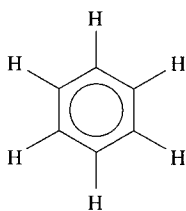


FIGURA 11.7 ►
Ilustración del concepto de equivalencia de protones.

Los protones que son intercambiables son equivalentes. La línea de puntos muestra el eje sobre el cual se hace rotar la molécula.

Para ver si los protones son equivalentes se puede utilizar una técnica sencilla. Si es posible hacer rotar la molécula de manera que no se pueda distinguir qué protones se han intercambiado, entonces los protones son equivalentes. La Figura 11.7 ilustra los tipos de rotación que se utilizan. El estudio de este tema es parte de una área matemática denominada *teoría de grupo*. Un análisis más profundo del mismo está fuera del propósito de este libro.

Apliquemos estas ideas a la estructura y el espectro del acetato de bencilo, que se refleja en la Figura 11.3. Como muestra su estructura, sólo está sustituida una posición en el anillo de benceno. Cuando llevamos a cabo las rotaciones en el anillo del acetato de bencilo para ver qué protones son equivalentes, la regla dada sugiere que los protones del anillo se clasifican en tres grupos: dos *orto*, dos *meta* y uno *para* respecto a la posición sustituida. No obstante, como se deduce del espectro, sólo se ve un pico a $7,4 \delta$. Aparentemente, las tres líneas no están resueltas. En otras palabras, el mero hecho de que protones químicamente distintos puedan tener desplazamientos químicamente distintos no significa que vayan a aparecer separados en el espectro. En este caso, el instrumento no tiene suficiente potencia de resolución para mostrar las líneas separadas. Sin embargo podemos tener evidencias de esta falta de resolución; el ancho de línea del pico a $7,4 \delta$ es mayor que en los demás picos. ¿Cómo podemos asegurar esto con un espectro de línea tan estrecha, especialmente en esta figura tan pequeña? La respuesta se halla en la comparación de las alturas y las integrales de las líneas. Por ejemplo, las integrales de los picos a $2,1 \delta$ y $5,1 \delta$ varía un factor de 1,5, lo mismo que sus alturas. Esto significa que sus anchos de línea son aproximadamente iguales. No obstante, como se puede observar, los picos a $7,4 \delta$ y $5,1 \delta$ tienen casi la misma altura, pero las integrales difieren un factor de 2,5. La línea a $7,4 \delta$ tiene que ser más ancha.

11.5. Interacción spin nuclear–spin nuclear

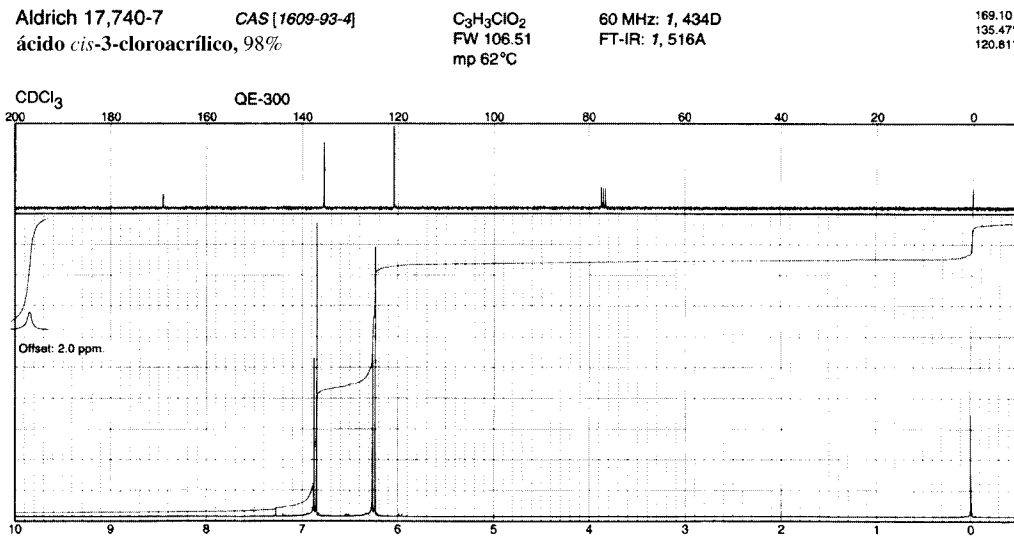
Como se ha indicado anteriormente, la radiofrecuencia a la que aparecen los picos de RMN se determina por el tamaño del campo magnético externo del instrumento y por el campo magnético interno producido por los electrones que rodean al núcleo. No obstante, hay otro campo magnético presente que no ha sido mencionado: el campo magnético de los protones cercanos. Como cada núcleo de protón es en sí mismo un imán magnético, afectará a la frecuencia de resonancia de los protones cercanos. El efecto da lugar a un desdoblamiento de líneas, y se denomina **desdoblamiento spin-spin**, **desdoblamiento spin-spin** o **desdoblamiento hiperfino**. Como veremos, este efecto es extraordinariamente útil para la determinación de estructuras químicas.

Para explicar este desdoblamiento spin-spin, que se observa en la Figura 11.8, debemos considerar primero dos protones enlazados a carbonos adyacentes. Sólo hay dos protones, pero se observan cuatro líneas. Lo que ha ocurrido es que cada línea de resonancia para un protón se ha desdoblado en un **doblete** —dos líneas de un mismo protón o protones equivalentes—. Cada línea del doblete tiene la mitad del área de la línea original. La separación de las dos líneas (el espacio entre sus picos) se denomina **constante de acoplamiento hiperfino**. Normalmente se utiliza la letra J para representar este valor, y la magnitud se expresa en unidades de frecuencia (Hz). Para los dos protones de la Figura 11.8, la constante de acoplamiento hiperfino es el espacio, en Hz, en *ambos* dobletes. Esto es, J es el desdoblamiento entre las dos líneas de la izquierda y las dos líneas de la derecha. Éste es un resultado general.

Si el desdoblamiento producido por el protón A en la línea de resonancia del protón B es J_{AB} , entonces la línea de resonancia de A sufrirá un desdoblamiento exactamente equivalente.

FIGURA 11.8 ►
El espectro de RMN del ácido *cis*-3-cloroacrilico mostrando el efecto del desdoblamiento hiperfino en el espectro.

Como se ha visto en el espectro de (inferior) ^1H , los protones a ambos lados del doble enlace tienen distintos desplazamientos químicos: uno a 6,2 ppm y otro a 6,85 ppm. Cada línea se desdobra en dos debido al protón adyacente. El pico para el protón hidroxilo se mueve dentro de la escala; aparece a 12,2 ppm. El espectro superior es el ^{13}C -RMN para el mismo compuesto y disolvente.



Algebraicamente, escribimos:

$$J_{AB} = J_{BA} \quad (11-5)$$

Veamos con más detalle cómo se explica el desdoblamiento spin-spin. Consideremos que la absorción medida es la del protón H^a de la Figura 11.9. Se deben considerar dos factores.

1. La posición del campo magnético de cada absorción de RMN se determina a través del campo (molecular) interno. Pero ahora hay un campo magnético extra procedente de un imán magnético adyacente, el del núcleo del protón H^b . Por tanto, la posición de la línea depende del desplazamiento químico y del campo magnético del protón adyacente (interacción hiperfina).
2. El otro spin nuclear, debido a H^b , se cuantiza bien alineado con el campo magnético o bien alineado en contra de él (recuérdese la Figura 11.1). El campo magnético de H^b sólo puede tener dos valores diferentes.

Estos dos factores explican el espectro de resonancia porque, cuando H^b está alineado con la dirección del campo, la absorción de RMN de H^a tiene lugar a menor campo externo que cuando H^b no está presente. De la misma forma, cuando H^b está alineado en contra del campo externo, la absorción de RMN de H^a tiene lugar a mayor campo externo que cuando H^b no está presente. La línea de absorción de H^a aparece desdoblada. No aparece ninguna línea en la posición correspondiente a la línea no desdoblada, porque las dos orientaciones del spin de H^b siempre desplazan la resonancia.

Experimentalmente, J_{AB} , el ancho del desdoblamiento de H^a por H^b , depende de diversos factores. Pero, en conjunto, la magnitud de J disminuye con la distancia entre protones. Una propiedad general es:

A no ser que haya un sistema conjugado, el acoplamiento spin-spin raramente se observa cuando los núcleos están separados por más de tres enlaces.

A continuación se describe un espectro con desdoblamiento spin-spin. El desplazamiento químico se da como si no existiera el desdoblamiento spin-spin.

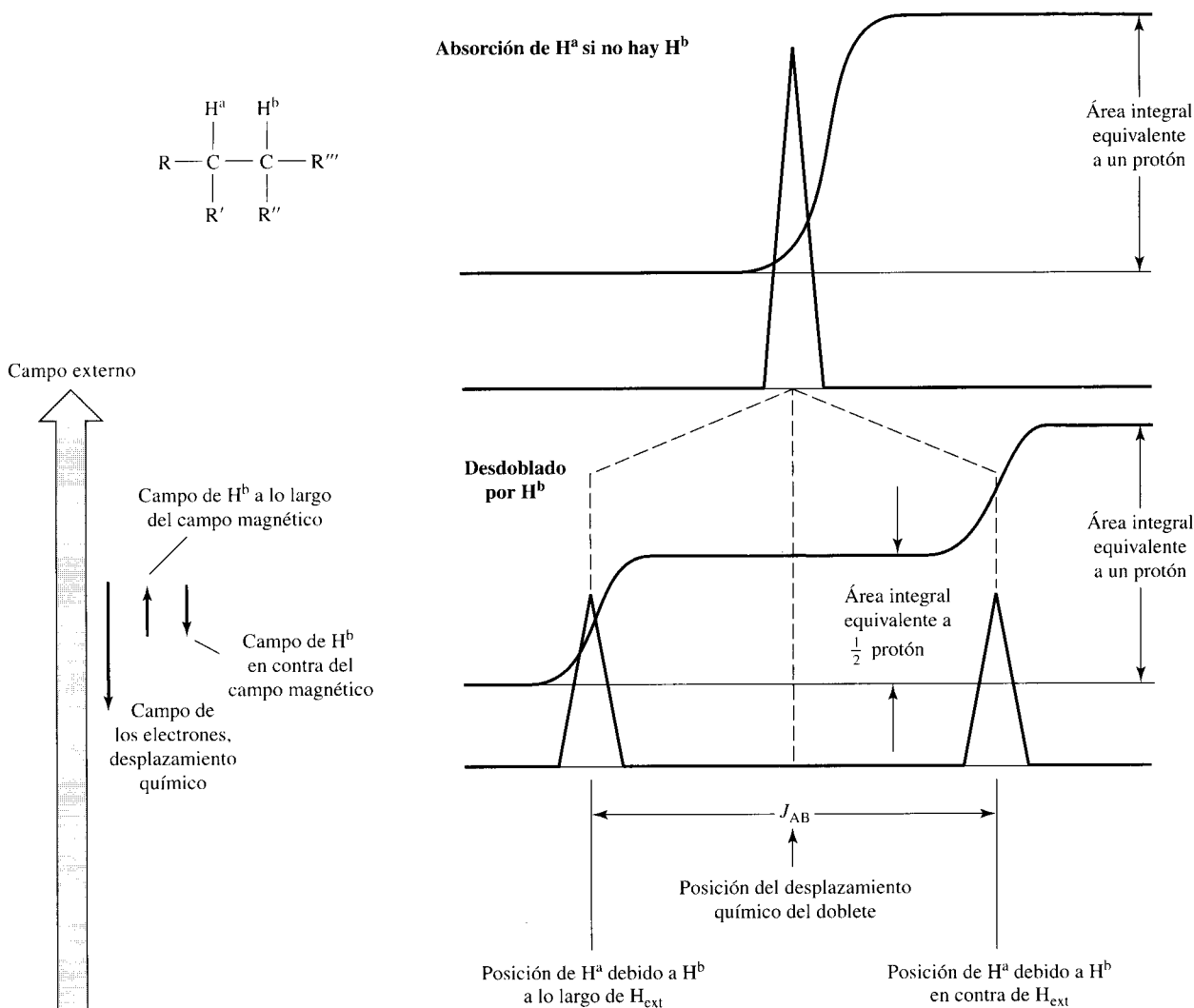


FIGURA 11.9 ▲
El origen de las intensidades y posiciones de líneas de RMN desdobladas.

Aquí se muestra la situación observada experimentalmente en el espectro de la Figura 11.8. (A la izquierda) Las posiciones de las líneas de resonancia para el protón H^a se determinan por tres interacciones: con el campo magnético externo, con el campo originado por los electrones dando lugar a un desplazamiento químico, y con las dos alineaciones distintas del protón adyacente H^b. H^b puede estar en ambas orientaciones un período de tiempo igual, por lo que hay dos picos de H^a de igual magnitud.

En el ejemplo de la Figura 11.9, el desplazamiento químico se encuentra en la posición intermedia (punto medio) del doblete: el centro de energía del doblete. En el espectro de la Figura 11.8, las líneas se pueden describir así:

- un doblete a 6,2 ppm, con $J = 6,8$ Hz,
- un doblete a 6,9 ppm, con $J = 6,8$ Hz, y
- un singlete a 11,8 ppm.

A menudo se utiliza una notación todavía más compacta: *s* para singlete, *d* para doblete, *t* para **triplete** (tres líneas) y *q* para **cuartete** (cuatro líneas). Con esta notación la lista anterior se acorta a *d* 6,2 ($J = 6,8$ Hz); *d* 6,9 ($J = 6,8$ Hz); *s* 11,8.

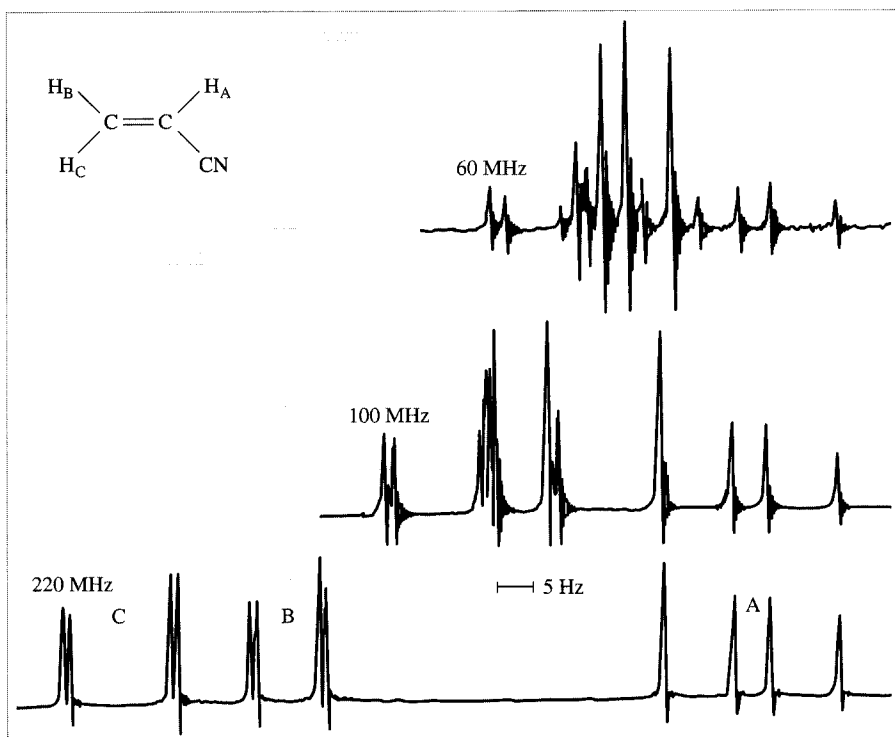


FIGURA 11.10 ►
Espectro de RMN con
distintos campos magnéticos.

El desdoblamiento hiperfino se mantiene igual con cambios en el campo magnético, pero las posiciones del multiplete son dependientes del campo. Se ilustran espectros de RMN del mismo compuesto llevado a cabo con campos magnéticos sucesivamente más altos pero representados en la misma escala en Hz. El tamaño del campo magnético es directamente proporcional a la frecuencia. Los espectros se suelen identificar con una escala de frecuencias, como se hace aquí: 60 MHz, 100 MHz y 220 MHz. La constancia de J se ve más claramente para los cuatro picos de la derecha. [Ref.: Reimpreso con permiso de Johnson, L. F. 1971. *Anal. Chem.* 43(2), 29A. Copyright 1971 American Chemical Society.]

Obsérvese que los desplazamientos químicos sólo se dan en fracciones de la décima parte de una ppm, incluso aunque la gráfica pueda leerse con más precisión. Éste es el límite de exactitud (no de precisión) de los instrumentos de RMN, como se ha podido comprobar realizando el mismo experimento repetidas veces.

Ahora fijémonos en la Figura 11.10, que muestra el espectro de RMN del acetonitrilo (CH_2CHCN) a tres valores de campo distintos (obtenidos en tres instrumentos distintos). Observemos las cuatro líneas de la derecha. Están igualmente desdobladas *sin tener en cuenta el tamaño del campo magnético*. No obstante, las otras líneas de resonancia se han desplazado más (en unidades de frecuencia) de esas cuatro, a medida que el campo aumenta. Este set de espectros ilustra un resultado general importante.

La frecuencia del desplazamiento químico, debido al apantallamiento de los electrones, depende del campo externo; el desdoblamiento spin-spin, causado por protones adyacentes, es independiente del campo externo.

Alturas y áreas de picos desdoblados

Como se ilustra en la Figura 11.9, cada uno de los picos de un doblete tiene la mitad del área medida para el pico sin desdoblarse. Las áreas de los picos del doblete son iguales. Se puede enunciar una sencilla regla sobre el área:

El área integrada por spin nuclear permanece igual, independientemente del número de líneas en que se desdoble.

Esto nos lleva al siguiente tema. ¿Qué ocurre cuando el desdoblamiento está producido por más de un protón? La respuesta proviene de un espectro experimental, el del 1,1,2-tricloroetano ($\text{ClH}_2\text{CCHCl}_2$), que se muestra en la Figura 11.11. Las áreas integradas con-

La distribución de Boltzmann (Sección 9A) explica las áreas casi iguales producidas por las dos alineaciones de H^b .

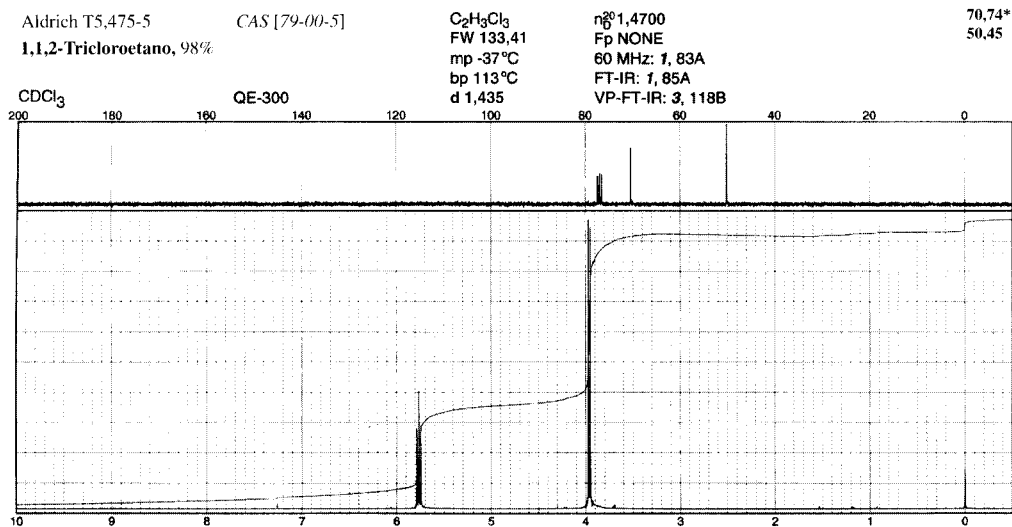


FIGURA 11.11 ▲
Patrones de desdoblamiento.

Cuando una resonancia de protón se desdobla por más de un protón equivalente, se observan diferentes patrones de desdoblamiento. En el espectro de 1H (inferior) del 1,1,2-tricloroetano hay resonancias de dos protones equivalentes adyacentes a un protón. El patrón de ese protón (área = 1) es un triplete típico de RMN. El espectro de los dos protones equivalentes (área = 2) es un doblete con su desdoblamiento igual que el del triplete.

firman las asignaciones del espectro. La resonancia del protón H^a está desdoblada en tres líneas, un triplete, y los dos protones equivalentes H^b aparecen como un doblete.

La Figura 11.12 muestra cómo se explica el desdoblamiento en triplete y las intensidades. Bien uno o ambos protones equivalentes pueden alinearse a favor o en contra del campo externo, de manera que para los dos protones hay cuatro posibles sets de orientaciones de igual probabilidad. Estos cuatro sets producen sólo tres campos magnéticos diferentes porque dos de ellos producen el mismo (cero) campo magnético. Como cada uno de estos cuatro sets de orientaciones es igualmente probable, las áreas de las líneas asociadas a cada set de orientaciones son iguales. Por tanto, es de esperar que haya una línea no desplazada con una altura que doble la de las dos líneas desplazadas, pues hay dos orientaciones que producen la línea no desplazada. La áreas relativas esperadas para las tres líneas son, como se observa, 1:2:1. El área total integrada de las tres líneas es la de un protón.

Por otro lado, los dos protones equivalentes H^b se desdoblan en un doblete debido al acoplamiento de H^a . El área del doblete es la que era de esperar para dos protones. Obsérvese en el espectro experimental que el desdoblamiento entre las líneas del triplete es igual al del doblete. De nuevo, $J_{AB} = J_{BA}$.

Cuando describimos el espectro de RMN, el desplazamiento químico del triplete es, como antes, presentado como la frecuencia (o el campo) a la que no existe contribución de la interacción spin-spin. Cuando el **multiplete** (nombre general para los sets de líneas: doblete, triplete, cuartete, y así sucesivamente) está formado por un número *impar* de líneas, el desplazamiento químico del set es la posición de la línea intermedia.

Reglas generales del desdoblamiento

Los patrones de desdoblamiento hiperfino se vuelven más complicados a medida que aumenta el número de protones equivalentes. Un set de n protones equivalentes desdo-

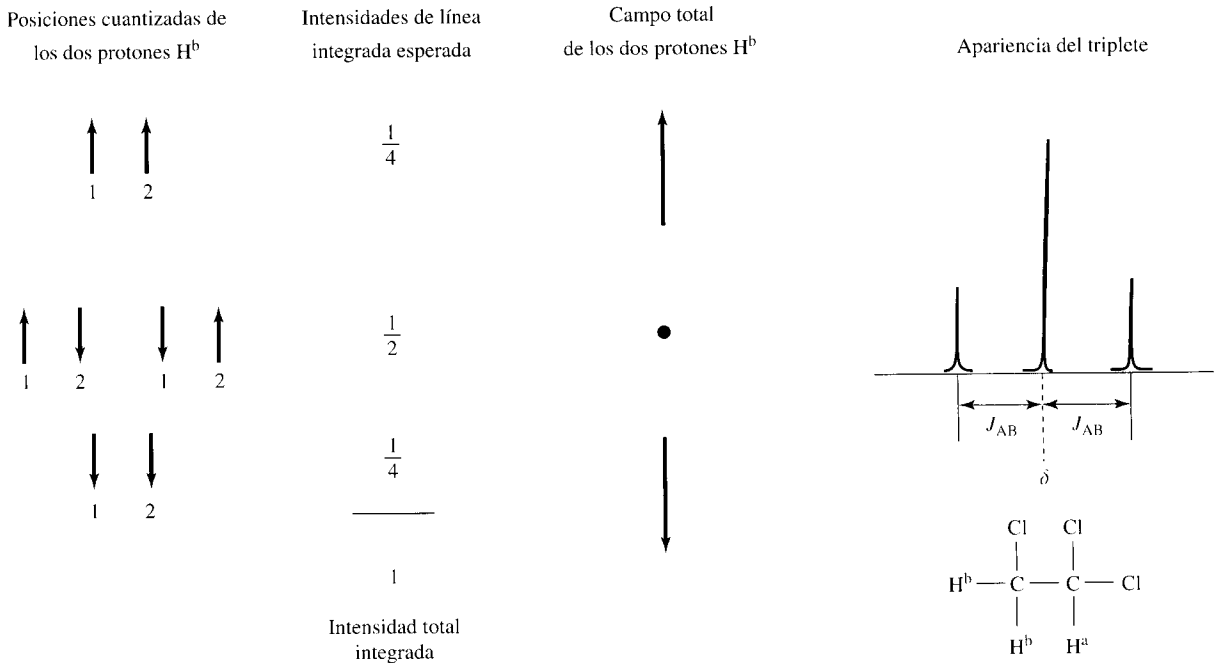


FIGURA 11.12 ▲ El origen de un desdoblamiento en triplete por dos protones equivalentes.
 (izquierda) Las orientaciones con (centro) probabilidades hace que el (derecha) campo total origine (más a la derecha) el triplete observado.

Número de protones equivalentes produciendo desdoblamiento (n)	Número de picos del multiplete (n + 1)	Nombre del multiplete	Intensidades relativas de las líneas del multiplete
0	1	Singlete	1
1	2	Doblete	1 1
2	3	Triplete	1 2 1
3	4	Cuartete	1 3 3 1
4	5	Quintete	1 4 6 4 1
5	6	Sextete	1 5 10 10 5 1
6	7	Septete	1 6 15 20 15 6 1

◀ **FIGURA 11.13 Triángulo de Pascal.**

Esta es una regla mnemotécnica muy útil para obtener las áreas relativas de las líneas de un multiplete producido por un número de protones equivalentes (u otros núcleos de espines nucleares equivalentes = 1/2). El número de núcleos equivalentes se muestra a la izquierda. Las intensidades esperadas se muestran en las líneas de dígitos del triángulo de Pascal.

bla los protones adyacentes en (n + 1) líneas. El número de líneas en el patrón de desdoblamiento se llama **multiplicidad**. El área integrada relativa de cada línea en el multiplete se puede calcular con la teoría de la probabilidad o dibujando diagramas semejantes a los de la Figura 11.12. No obstante, un modo más simple de obtener las áreas relativas es utilizando el **triángulo de Pascal**, ilustrado en la Figura 11.13. Cada número en el triángulo es la suma de los dos números que están sobre él (por encima de él, a sus lados), asumiendo ceros en lugares vacíos. Las áreas de las líneas individuales en un multiplete están en las proporciones dadas en la última columna. Como antes, las áreas integradas de todas las líneas de un multiplete juntas son proporcionales al número de protones absorbidos.

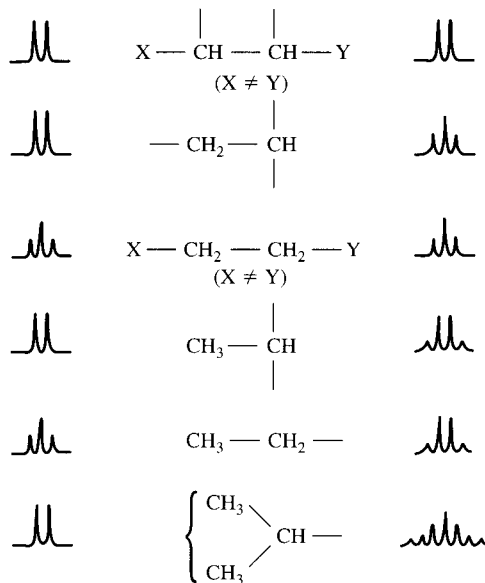


FIGURA 11.14 ►
Patrones de desdoblamiento.

Un número de estructuras corrientes tienen sets de multipletes que aparecen juntos. Algunos de estos patrones de desdoblamiento se presentan aquí. [A partir de Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G.S. 1979. *Introduction To Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry*. Copyright © 1979 por W. S. Saunders Company, Philadelphia, PA. Reimpreso con permiso de CBS College Publishing.]

Revisemos las reglas que explican los patrones de desdoblamiento.

1. El número de líneas de un multiplete es igual a $n + 1$, siendo n el número de protones equivalentes que contribuyen al desdoblamiento.
2. El área integral supuesta de cada una de las líneas de los componentes en un multiplete viene dada por el triángulo de Pascal.
3. El área total de todas las líneas en un multiplete es proporcional al número de núcleos equivalentes que absorben ahí.
4. Los desdoblamientos $J_{AB} = J_{BA}$.
5. En ocasiones habrá desdoblamientos entre protones distanciados más de tres enlaces.

La Figura 11.14 ilustra el patrón de desdoblamiento para grupos orgánicos comunes. Consideremos la información contenida en dichos sets de multipletes.

- a) Los entornos químicos de los núcleos vienen indicados por el valor de δ .
- b) El número de núcleos que absorben energía a un determinado δ es proporcional al área integrada de cada multiplete.
- c) El número y las intensidades de las líneas en el multiplete indica cuántos protones son adyacentes.
- d) La identidad de los protones adyacentes puede deducirse de sus desplazamientos químicos y de sus patrones de desdoblamiento.
- e) Los valores del acoplamiento spin-spin pueden ayudar a confirmar las asignaciones anteriores.

RMN- ^1H es un método muy potente para determinar las estructuras de moléculas que contienen protones.

Obsérvese que las concentraciones de los analitos no se deducen sólo de la integral de los picos de absorción. Las magnitudes relativas de las integrales indican únicamente el número relativo de núcleos que contribuyen a dicho multiplete. Como en cualquier otro método espectrométrico, se necesita un estándar de concentración para obtener las concentraciones de analito.

Tabla 11.3. Constantes de acoplamiento spin-spin en algunos sistemas comunes

Sistema	$J_{\text{H,H'}}$, Hz		Sistema	$J_{\text{H,H'}}$, Hz		
	Intervalo completo	Típico		Intervalo completo	Típico	
	0-25	12-15		0-12	7-10	
	0-8	~7		12-18	14-16	
	6-8	~7		$J_{\text{H,H'}}$	6-10	8
Rotación libre 	5-7	~6		$J_{\text{H,H''}}$	0-37	2
				$J_{\text{H,H'''}}$	0-1	1
	0-1	0		0-3,5	0-2	
	4-10	5-7		0-3	0,5-2	
	6-13	10-13		0-2	1	
	0-3	2		2-3	2-3	
	5-8	7				

Fuente: Cortesía de Varian Associates.

Algunas complicaciones

Se habrá observado la omisión de algunos detalles aparecidos en los espectros experimentales de RMN. Algunas de estas complicaciones serán tratadas a continuación.

El primer problema se puede apreciar en la Figura 11.15. Obsérvense los picos pequeños a ambos lados de los picos principales. No se trata de picos de resonancia. Se trata de **bandas giratorias en los bordes**, que se originan tal como se indica a continuación. Normalmente la muestra se encuentra en el fondo de un tubo de cristal de 5 mm de diámetro y aproximadamente 20 cm de largo. El tubo que contiene la muestra sufre una rotación mecánica sobre su eje longitudinal. Pequeñas imperfecciones en el tubo o imperfecciones en la colocación de los instrumentos provocan la aparición de picos que corresponden a bandas de los bordes. Las bandas giratorias de los bordes aparecen en pares equidistantes a ambos lados de cada pico de absorción. Es fácil determinar que no son impurezas debido a sus posiciones simétricas y al hecho de que pueden cambiar de posición cuando cambia la velocidad de giro, como se muestra en la figura.

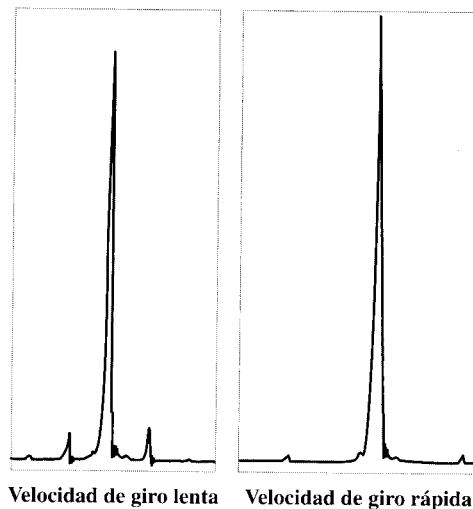


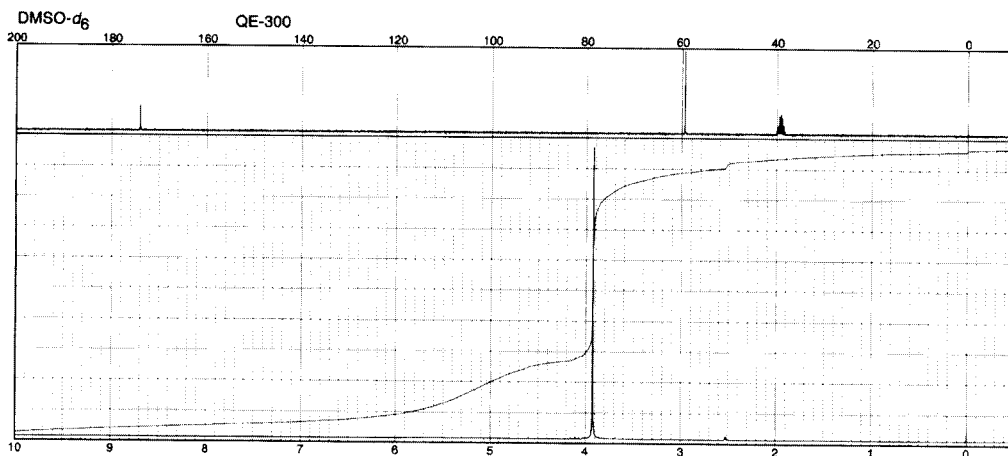
FIGURA 11.15 ►
Bandas giratorias de bordes.

Las bandas giratorias en los bordes tienen lugar cuando el tubo de la muestra no es perfectamente cilíndrico o el campo magnético no está bien ajustado. Aparecen simétricamente a ambos lados de cada banda espectral real y aparecen más lejos del pico principal a medida que la velocidad de giro aumenta.

Aldrich 12.473-7 CAS [79-14-1] $C_2H_4O_3$ 60 MHz: 1, 451A 174,07
 Ácido glicólico, 99% FW 76,05 FT-IR: 1, 517A 59,45
 mp 78°C

FIGURA 11.16 ►
Intercambio químico.

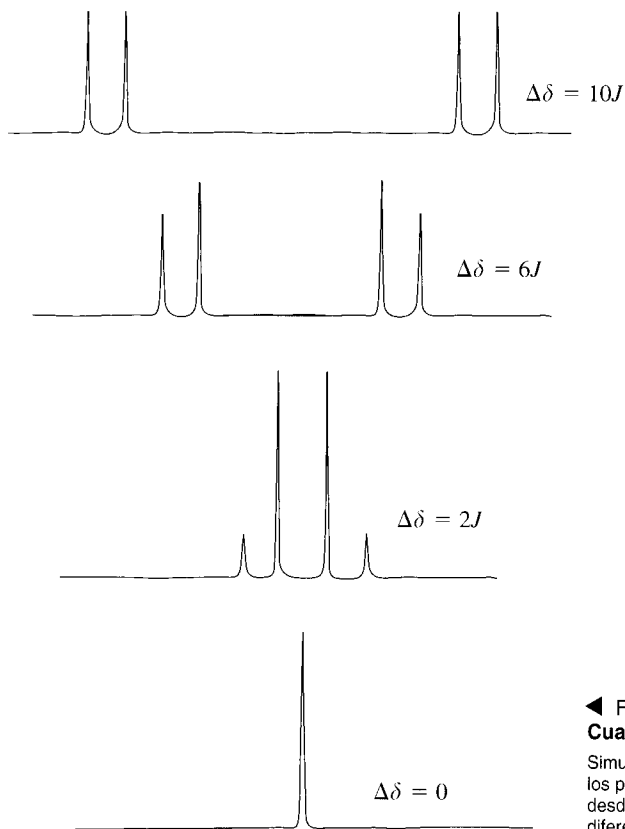
Ilustración de un tipo de efecto que se puede apreciar cuando un protón no está unido covalentemente a la molécula. Los protones hidroxilo se están intercambiando químicamente entre su sitio en la molécula y el disolvente. La resonancia hidroxilo es ancha, y aparece sólo en la integral. Estos picos cambian de posición con el pH. Además, los protones hidroxilo intercambiables no originan desdoblamiento hiperfino.



Un segundo problema es que el desplazamiento químico de una resonancia puede depender del pH. En la Figura 11.16 se muestra un ejemplo. Esta dependencia aparece para protones que están débilmente enlazados en la molécula. El desplazamiento químico y la forma de dichos picos normalmente dependen del disolvente y del pH. Estos picos tienden a ser anchos.

Tercero, obsérvese que las dos líneas en los dobletes del espectro de la Figura 11.8, en la página 495, no tienen la misma altura (o área). Los detalles de la causa de este efecto no entran dentro del nivel de este texto. No obstante, el efecto se puede ilustrar pictóricamente como en la Figura 11.17. Además de los obvios cambios en las alturas de los picos, existe un cambio, menos obvio, en los valores aparentes de desdoblamiento.

Cuarto, los espectros obtenidos con instrumentos con transformada de Fourier tienen algunas características específicas. Por ejemplo, pueden aparecer líneas de más en el espectro que dependan de la colocación del instrumento. Normalmente, debido a su forma, es bastante obvio que estas líneas no son líneas espectrales. Si hay alguna duda, su origen es fácil de reconocer, pues las líneas sobrantes se moverán a lo largo del espec-



◀ FIGURA 11.17
Cuando $J_{AB} \approx \Delta\delta$.

Simulación de los efectos en las intensidades de los picos de dos protones en los que su desdoblamiento hiperfino mutuo se aproxima a la diferencia entre sus desplazamientos químicos.

tro cuando se cambie la colocación apropiada de éste, mientras que las verdaderas líneas espectrales permanecerán en las mismas posiciones relativas.

Desdoblamiento por más de un conjunto de núcleos equivalentes

Si una resonancia nuclear se desdobra a causa de más de un set de spines equivalentes, el resultado es un multiplete de multipletes, como se ilustra en la Figura 11.18, el espectro del 1-nitropropano. No hay garantía de que todas las líneas esperadas en el multiplete aparezcan en el complejo patrón de desdoblamiento. De hecho, es frecuente encontrar menos líneas de las que corresponden. Un caso típico es el multiplete correspondiente al grupo metileno intermedio en el 1-nitropropano. Las líneas se deben a los protones denominados *b*. Como se muestra en la figura, se esperaba un cuartete de triplete: un total de 12 líneas. Pero en el espectro experimental sólo aparecen seis líneas. Aparecen menos líneas porque los valores de desdoblamiento spin-spin J_{AB} y J_{CB} son casi iguales, y una parte de los picos solapan, como indica el diagrama adjunto. Por tanto, incluso para moléculas relativamente simples, se debe ser cauto y asegurarse de que los patrones de los multipletes y las integrales tienen sentido en conjunto, con el fin de asignar estructuras. Obsérvese que los protones *a* y *c*, con una separación de cuatro enlaces, no muestran ningún desdoblamiento.

Los espectros de RMN, en apariencia, se complican fácilmente. La complejidad es más marcada en moléculas que no son demasiado simétricas o moléculas en las que más de dos sets de protones equivalentes contribuyen al desdoblamiento spin-spin. En la Figura 11.19 se muestra un ejemplo, el espectro de una molécula relativamente simple, 1,4-pentadieno. Las mismas reglas sobre el desdoblamiento se aplican a este espectro,

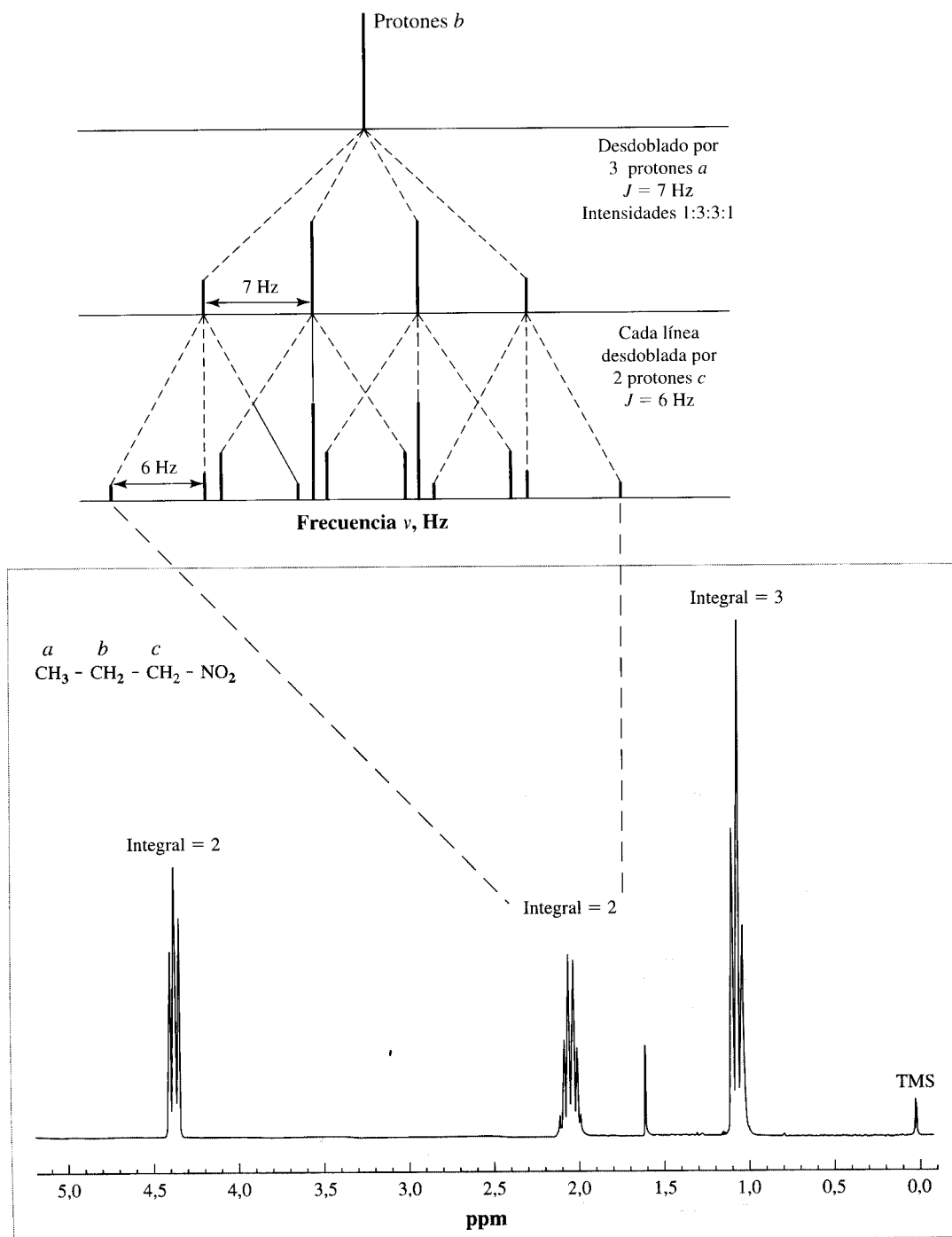
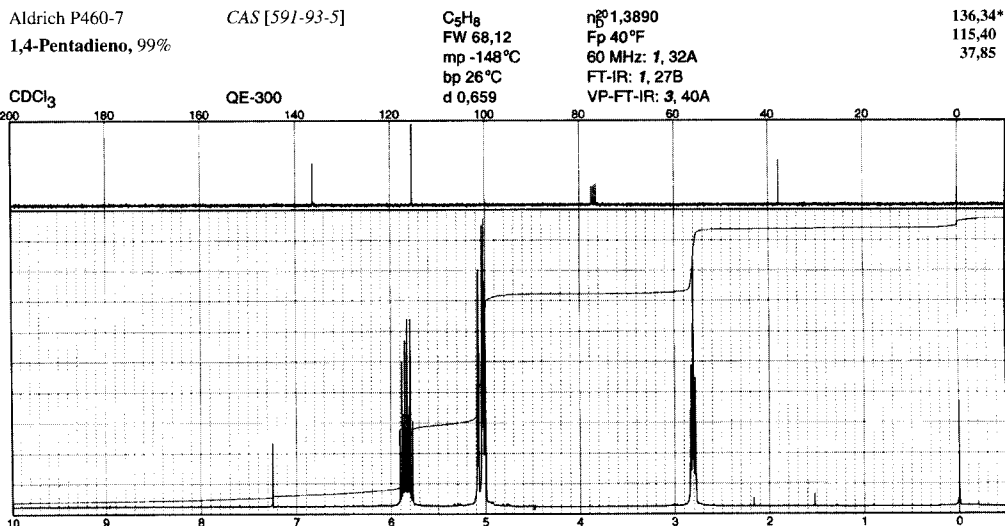


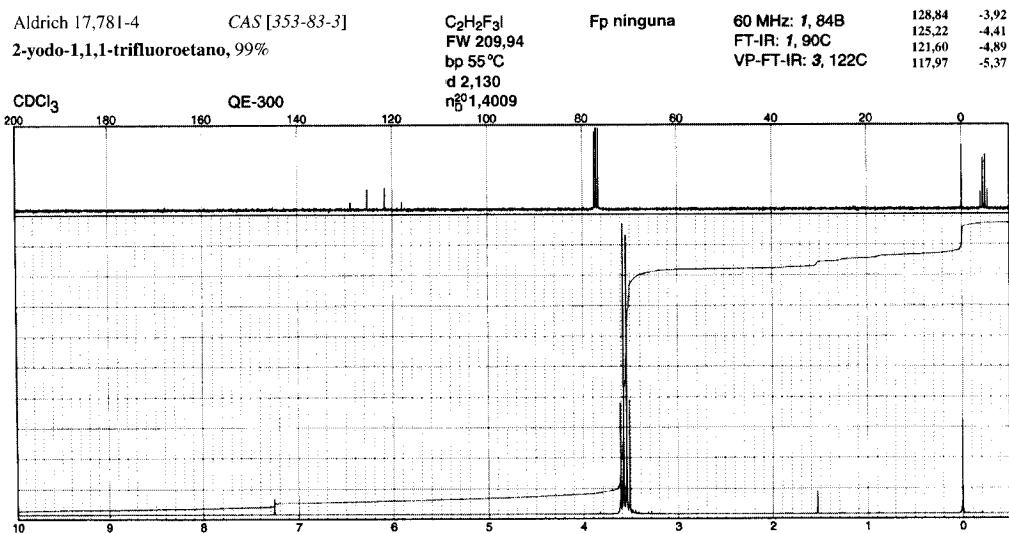
FIGURA 11.18 ▲
Multipletes de multipletes.

Cuando una línea espectral se desdobla por más de un set de protones equivalentes, los efectos son aditivos. Esto se ilustra en el espectro de ^1H a 250 MHz del 1-nitropropano. Se muestra la fórmula química. La figura de la parte superior explica el desdoblamiento de los protones b por los protones a y c . El efecto de los protones b en las resonancias de los grupos a y c es sencillo: produce tripletes en ambos.



◀ FIGURA 11.19
Patrones de
desdoblamiento
complicados.

Los patrones de desdoblamiento de RMN pueden llegar a ser bastante intrincados, como se ilustra en el espectro de la sencilla molécula 1,4-pentadieno.



◀ FIGURA 11.20
Las líneas de
resonancia pueden
desdoblarse por
núcleos que no son
observables.

Aquí, tres átomos equivalentes de ^{19}F ($I = 1/2$) desdoblan la línea espectral de los protones en la molécula de 2-yodo-1,1,1-trifluoroetano.

pero las diversas contribuciones a cada multiplete son más difíciles de determinar. Esto es especialmente difícil cuando $J_{AB} \approx |\delta_A - \delta_B|$.

En estas situaciones, bien los espectros se pueden comparar con espectros estándar para identificaciones cualitativas o bien se pueden utilizar programas de computadoras para solucionar el espectro. En la bibliografía recomendada se puede encontrar más información sobre este último método.

Estas líneas solapadas pueden asignarse fácilmente al núcleo apropiado llevando a cabo varios tipos de experimentos de **RMN multidimensional**. La dimensionalidad de la RMN se refiere al número de diferentes variables de desplazamientos químicos o frecuencias que se recogen y se utilizan en la exposición. Los espectros de RMN más comunes, por ejemplo los que hemos visto hasta ahora en este capítulo, son unidimensionales. Presentan un único eje de desplazamiento químico (el eje x), con la magnitud de la señal

de RMN en el eje y . Los experimentos de RMN bidimensionales y sus espectros se desarrollan brevemente en la Sección 11.8.

Desdoblamiento spin-spin de núcleos no resonantes

Tras una primera ojeada al espectro de la Figura 11.20, podemos inmediatamente empezar a buscar otro multiplete con una integral que corresponda a tres núcleos con un spin nuclear $I = 1/2$. No obstante, no lo encontraríamos incluso si buscáramos fuera del intervalo espectral normal. Esto se debe a que el desdoblamiento está causado por núcleos que no están cerca de su frecuencia de resonancia. En el caso del 2-yodo-1,1,1-trifluoruroetano, el desdoblamiento del ^1H se debe al ^{19}F . Incluso si el núcleo de ^{19}F no está en la resonancia, siguen siendo efectivos como imanes magnéticos internos y producen desdoblamiento spin-spin. Como Ejercicio 11.7, se sugiere realizar el espectro de RMN- ^{19}F esperado para este compuesto.

11.6. RMN- ^{13}C

A partir de la información de la sección precedente, podríamos preguntarnos: si otros núcleos además de los protones pueden desdoblar las líneas espectrales, ¿por qué no lo hacen los núcleos de ^{13}C en todas estas moléculas? Después de todo, ^{13}C tiene un spin nuclear de $I = 1/2$. La respuesta es que el desdoblamiento realmente se produce. No obstante, únicamente un 1% de los carbonos son ^{13}C . Si una molécula tiene, por ejemplo, sólo un carbono en ella, entonces sólo un 1% de las moléculas sufrirán el desdoblamiento causado por ^{13}C , y el doblete es muy pequeño, en comparación con el pico del 99% de las moléculas que contienen ^{12}C ($I = 0$).

Los resultados del Caso Práctico de Estudio 11-1 dependen de RMN- ^{13}C .

La escasa abundancia natural del ^{13}C hace que la RMN- ^{13}C sea más difícil experimentalmente. Como se ha mencionado anteriormente, para obtener un buen espectro, esto es, un espectro con una suficiente S/R, las moléculas deben estar enriquecidas con ^{13}C , se debe utilizar más cantidad de muestra, o bien se debe emplear más tiempo para recoger datos. Sin embargo, los espectros de ^{13}C se pueden medir ordinariamente con instrumentos apropiados. Las resonancias también muestran patrones de desplazamientos químicos que dependen del tipo químico de carbono. Las regiones generales se muestran en la Figura 11.21. Obsérvese que el intervalo de desplazamientos químicos es bastante grande, en comparación con el de ^1H : alrededor de 200 ppm, frente a 10 ppm. Se deduce que los desplazamientos químicos del ^{13}C son mucho más sensibles a los cambios locales en el entorno molecular que los espectros de ^1H . (Como antes, «local» normalmente indica los átomos inmediatamente adyacentes.) En consecuencia, RMN- ^{13}C es un método extremadamente potente para investigar las estructuras de las moléculas.

Una de las razones de esta capacidad es que todos los protones conectados a un carbono producen desdoblamiento spin-spin. Esto implica que, mirando el espectro de RMN- ^{13}C , se puede conocer el número de protones (que no están en resonancia) enlazados a un carbono, simplemente observando el multiplete de cada resonancia de carbono. Se puede observar este efecto en el espectro superior de la Figura 11.22: cuartetos para $-\text{CH}_3$, tripletes para $-\text{CH}_2-$, y un singlete para $\text{C}=\text{O}$. No obstante, los espectros se complican tan rápidamente, que incluso moléculas relativamente simples con algunos grupos similares, resultan difíciles de interpretar.

Este problema se remedia utilizando la técnica de **desacoplamiento de protón**. Los detalles del método están fuera del nivel de este texto. No obstante, el efecto consiste en que se puede eliminar el acoplamiento spin-spin de protón-carbono, y los multipletes de las líneas de ^{13}C «colapsan» en una única línea para cada carbono. Un espectro de pro-

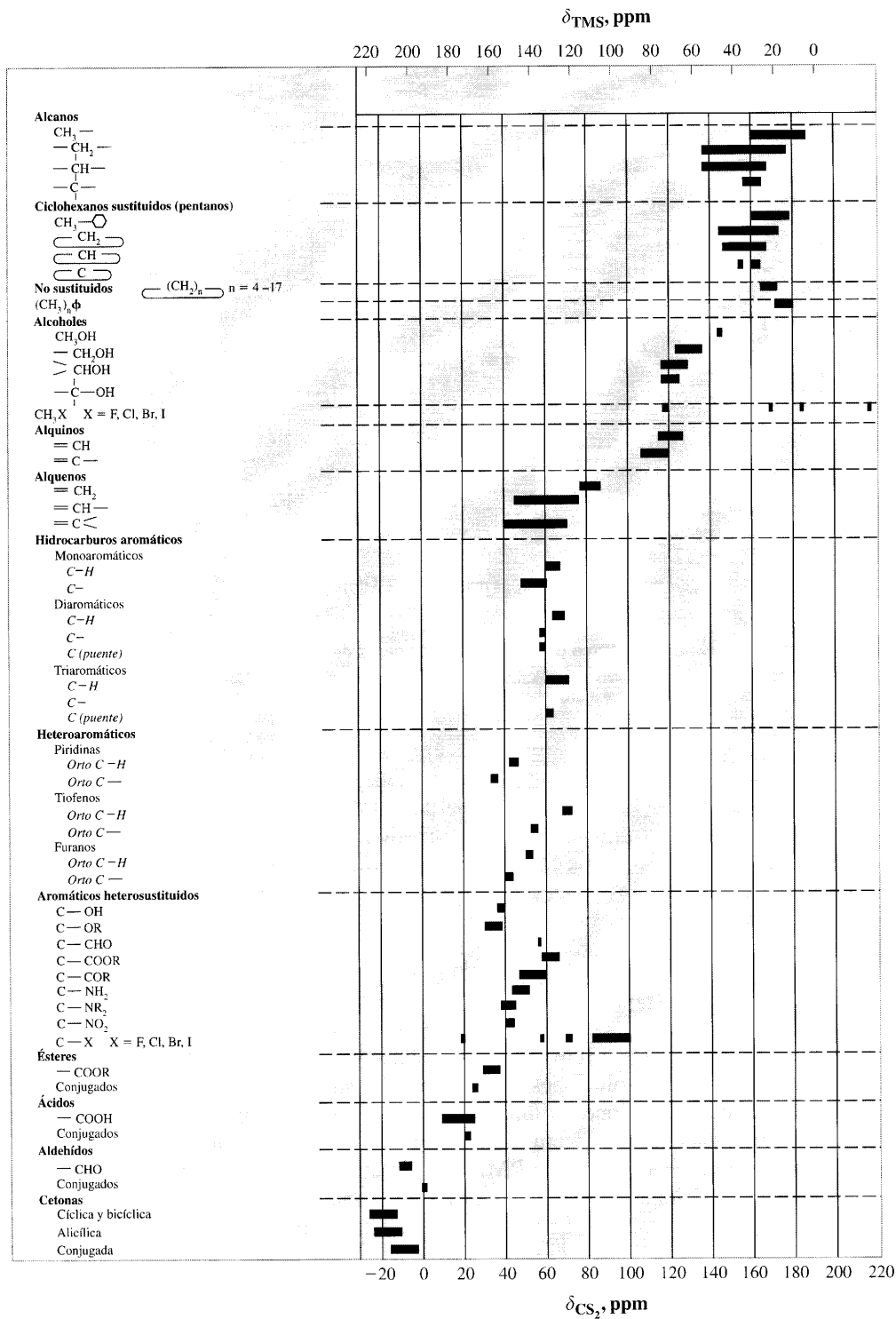


FIGURA 11.21 ▲
Tabla de correlación de desplazamientos químicos de RMN-¹³C.

Se muestran los intervalos de desplazamientos químicos típicos de materiales orgánicos relativos a dos estándares: (abajo) el estándar de ¹³C₂ y (arriba) el estándar de ¹³C-TMS. [Ref.: Jensen, R. K., Petrakis, L. 1972. *J. Magn. Reson.* 6, 105-106. Reproducido con permiso, cortesía de Academic Press.]

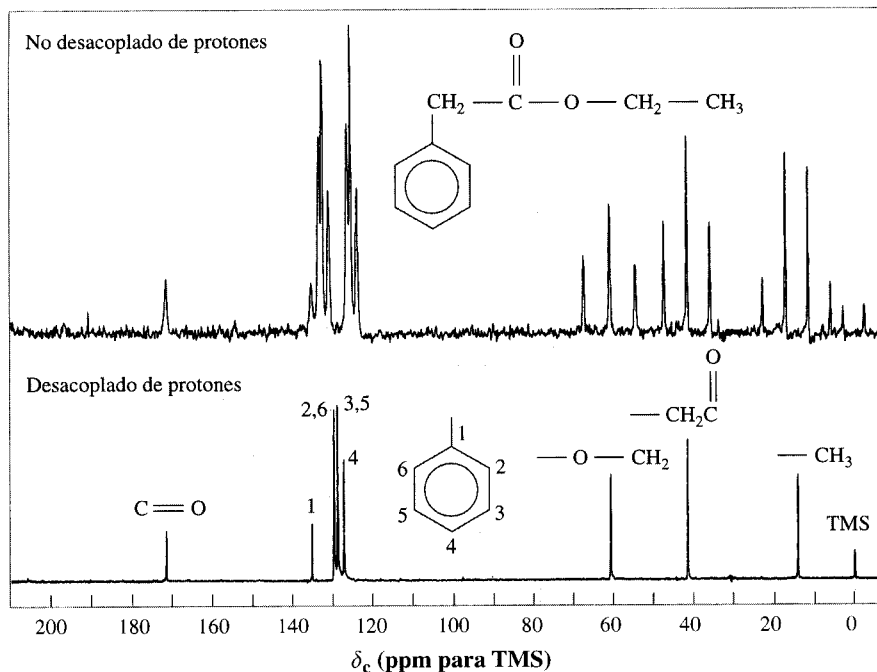


FIGURA 11.22 ▲
Núcleos de ^1H no resonantes pueden desdoblar picos de RMN- ^{13}C .

Solamente los protones directamente enlazados a un carbono producen un desdoblamiento. Este hecho puede ser útil para asignar el espectro a una molécula específica. El desdoblamiento ^1H - ^{13}C se puede eliminar desacoplando los protones. El espectro inferior muestra los efectos del desacoplamiento. [Ref.: Moore, J. A., Dalrymple, D. L. 1982. *Experimental Methods in Organic Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders & Co.]

tón de ruido desacoplado se muestra en la parte inferior de la Figura 11.22. Como se indica al final de la Sección 11.2, la cuantificación por integración de espectros de ^{13}C tiende a ser inexacta. Podemos observar el efecto comparando las alturas de los picos de la Figura 11.22. Están lejos de ser proporcionales al número de carbonos. Lo mismo ocurre con las áreas de los picos.

11.7. Cuantificación

Al contrario que en otras espectrometrías, las concentraciones en RMN- ^1H pueden variar desde líquidos puros a disoluciones bastante diluidas sin que tengamos que preocuparnos por efectos de concentraciones no lineales. Además, cada núcleo contribuye con señales esencialmente iguales a un espectro de RMN; todos los protones tienen la misma absorptividad molar en espectrometría de RMN- ^1H . Sin embargo, el instrumento se debe calibrar para las condiciones espectrales pues las áreas integradas de los picos sólo indican números relativos de protones. Se necesita un estándar, y lo mejor es un estándar interno.

EJEMPLO 11.3

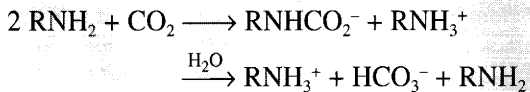
El espectro de RMN para tolueno puro se compara con el espectro de una mezcla desconocida de tolueno y *p*-xileno. Las señales de protones metílicos solapan, lo mismo que las de protones en la región aromática. Se encontraron las siguientes áreas integradas de picos.



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 11-1

Utilización de disoluciones de aminas para limpiar el aire de un submarino

Durante muchos años, las disoluciones de aminas, entre ellas la etanolamina, se han utilizado para extraer el dióxido de carbono de atmósferas cerradas, como las de submarinos sumergidos. Las reacciones en disolución acuosa son:



El CO_2 es eliminado después de la solución mediante calentamiento, y el gas es ventilado permitiendo así otro ciclo de absorción. En un submarino, un problema que genera el uso de etanolamina ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) es que se pueden formar productos de descomposición volátiles por calentamiento de los compuestos que están inmersos en la disolución.

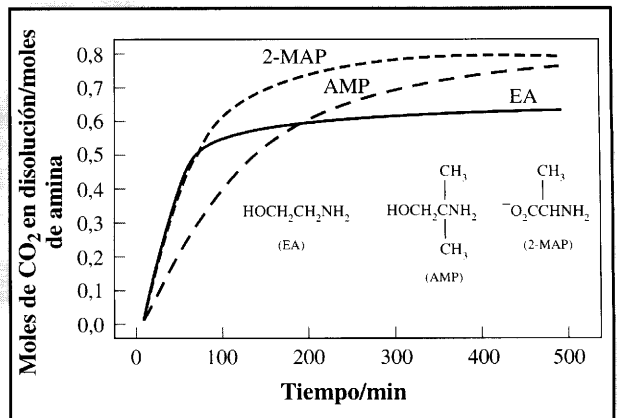
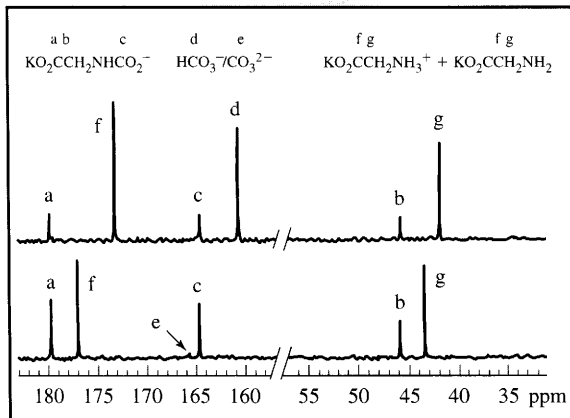
Con la intención de buscar mejores compuestos, se ha estudiado directamente la química y la cinética del CO_2 por RMN- ^{13}C . Las disoluciones se pueden medir directamente y sin enriquecimiento con ^{13}C pues las concentraciones de los componentes son del orden molar, incluso cuando las disoluciones se diluyen para disolver cualquier precipitado formado. Las concentraciones simplemente se corrigen para la dilución. Abajo a la izquierda se muestran dos espectros de ^{13}C . En los espectros, las letras que identifican los picos se refieren a los carbonos que llevan la misma letra. Las señales del

carbamato son **a**, **b** y **c**. Bicarbonato y carbonato son **d** y **e**, mientras que las aminas protonada y desprotonada producen **f** y **g**. El espectro superior muestra una disolución acuosa 2,5 M, saturada con CO_2 , y, después de una desorción por calentamiento, el espectro de la disolución cambia al espectro inferior.

Las dependencias del tiempo y las concentraciones finales del CO_2 captado del 4,7% en el aire depende de la disolución de amina utilizada. (Véanse las gráficas abajo a la derecha.) Es esencial una captación rápida de CO_2 , por lo que AMP no es tan efectiva como 2-MAP y EA. No obstante, la capacidad del CO_2 también es un factor crucial. La solución con 2-MAP a la larga absorbe más CO_2 que EA; sin embargo (no está indicado aquí), en la disolución de 2-MAP el CO_2 residual al final del ciclo es mayor que EA, por lo que la capacidad del 2-MAP por ciclo es menor en conjunto.

El autor concluye que estas aminas y otras similares que fueron ensayadas no mejoran sustancialmente la extracción submarina. Algunas pueden ser adecuadas en procesos industriales de extracción que tengan concentraciones de CO_2 mayores que el ~1% de los submarinos.

[Ref.: HOOK, R. J. 1997. «An Investigation of Some Sterically Hindered Amines as Potential Carbon Dioxide Scrubbing Compounds.» *Ind. Eng. Chem. Res.* 36, 1779-1790.] ■



	Áreas integradas	
	Región metílica	Región aromática
Tolueno	3,7 ₀	6,1 ₅
Mezcla	4,8 ₀	5,8 ₀

(El segundo decimal está escrito como subíndice para indicar que la precisión en la medida es de $\pm 5\%$). ¿Cuál es la fracción molar de tolueno y xileno en la mezcla?

Solución:

Este ejemplo refleja cualquier problema de mezclas en espectrometría donde la información que se posee es la absorbancia a dos longitudes de onda para dos componentes. Como cada protón contribuye igualmente, debemos encontrar un factor de respuesta que relacione las áreas integradas con la concentración. Los números de protones de cada tipo son:

	Número de protones	
	Región metílica	Región aromática
Tolueno	3	5
<i>p</i> -xileno	6	4

Llamamos S a la señal integrada, y establecemos las dos ecuaciones a resolver para las dos regiones de frecuencia de la integral —como para cualquier otra mezcla.

$$S_{\text{metilo}} = 6 R X_{\text{xileno}} + 3 R X_{\text{tolueno}}$$

$$S_{\text{aromático}} = 4 R X_{\text{xileno}} + 5 R X_{\text{tolueno}}$$

donde R es el factor de respuesta que escala la señal por protón. Los valores de X son las fracciones molares.

A continuación, R se obtiene de la señal del grupo metilo en el tolueno y del número de protones (3).

$$R = 1,23 = 3,70/3$$

De los protones aromáticos se obtiene el mismo valor de R .

$$1,23 = 6,15/5$$

Las fracciones molares del *p*-xileno y del tolueno son las únicas que no se conocen, y las ecuaciones se pueden resolver. De hecho, la cantidad de información provista es más de la necesaria para resolver el problema, pues también sabemos que

$$X_{\text{xileno}} = 1 - X_{\text{tolueno}}$$

para esta disolución de dos componentes. Llamemos a esto la *ecuación de fracción molar*. Cualquier par de ecuaciones de las tres puede utilizarse para obtener la respuesta. Por ejemplo, usemos la ecuación de fracción molar y una de las ecuaciones de intensidad-integrada para resolver el problema. Sustituamos la relación de fracción molar en la ecuación de S_{metilo} .

$$S_{\text{metilo}} = 6 \cdot 1,23 (X_{\text{xileno}}) + 3 \cdot 1,23 (1 - X_{\text{xileno}}) = 4,80$$

Ahora, podemos resolver el valor de X_{metilo} y sustituirlo en la ecuación de fracción molar llegando a

$$X_{\text{xileno}} = 0,30; \quad X_{\text{tolueno}} = 0,70$$

La ecuación de la señal integrada, que no se ha utilizado, puede usarse para comprobar la respuesta para ver si un tercer componente está contribuyendo al espectro. A partir de la ecuación de fracción molar y la ecuación de señal integrada, encontramos:

$$X_{\text{xileno}} = 0,28; \quad X_{\text{tolueno}} = 0,72$$

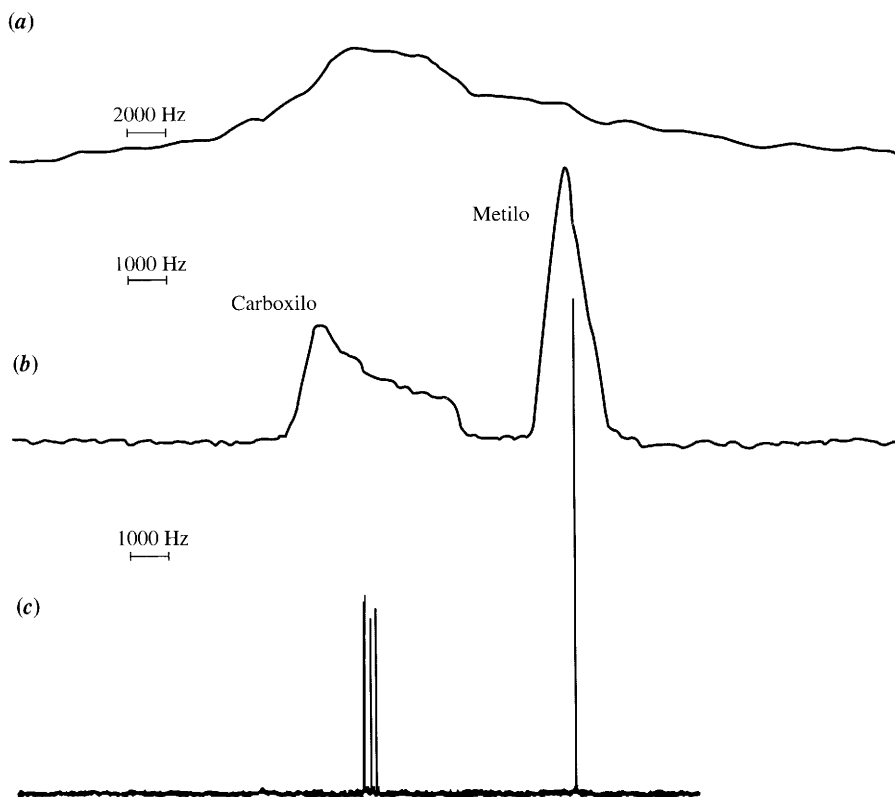
El acuerdo entre los dos cálculos está dentro del error experimental del $\pm 5\%$ que se espera en áreas de picos integrados en RMN de protón para estas disoluciones concentradas.

La cuantificación de otros núcleos, como ^{13}C o ^{32}P , requiere más atención a las condiciones experimentales, pues las áreas integradas por núcleo pueden depender del entorno químico local. Como se indicó en la sección precedente, las áreas de los picos de ^{13}C tienden a variar dependiendo del número de protones enlazados.

11.8. RMN de sólidos

Para obtener espectros de RMN óptimos, las moléculas de analito deben agitarse con rapidez en relación con el imán magnético. En parte este requisito se debe a que el movimiento aumenta la posibilidad de interacciones con las moléculas vecinas. En sólidos, sin embargo, el agitado no tiene lugar, por lo que los efectos del entorno molecular no tienen influencia en la muestra. Como resultado, los espectros tienden a ser anchos y casi sin formas, con poca información química. (Véase la Figura 11.23.)

No obstante, se pueden obtener espectros de resolución moderada gracias a dos trucos fundamentales. El primero consiste en girar la muestra a un ángulo específico — $54^\circ 44'$, denominado **ángulo mágico**— a una velocidad en exceso de 200 KHz. Esta técnica se denomina **rotación en ángulo mágico (MAS)**. El segundo consiste en aumentar las interacciones magnéticas del material que rodea las moléculas de analito utilizando campos fuertes de radiofrecuencia a frecuencias específicas relacionadas con las fre-



◀ FIGURA 11.23
Espectros de RMN- ^1H
en estado sólido
del hemihidrato de acetato de
calcio, $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$.

(a) Espectro en estado sólido realizado como si fuera un espectro en disolución. (b) Espectro obtenido cuando la interacción spin-spin de protón está desacoplada. (c) Espectro obtenido cuando, además del desacoplamiento, la muestra gira sobre un eje colocado en un ángulo mágico respecto al campo magnético. El ángulo mágico es $54^\circ 44'$, y la velocidad de rotación del ángulo mágico es mayor de 2 kHz. [Ref.: Harris, R. K. 1983. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. London, Pitman. Con permiso.]

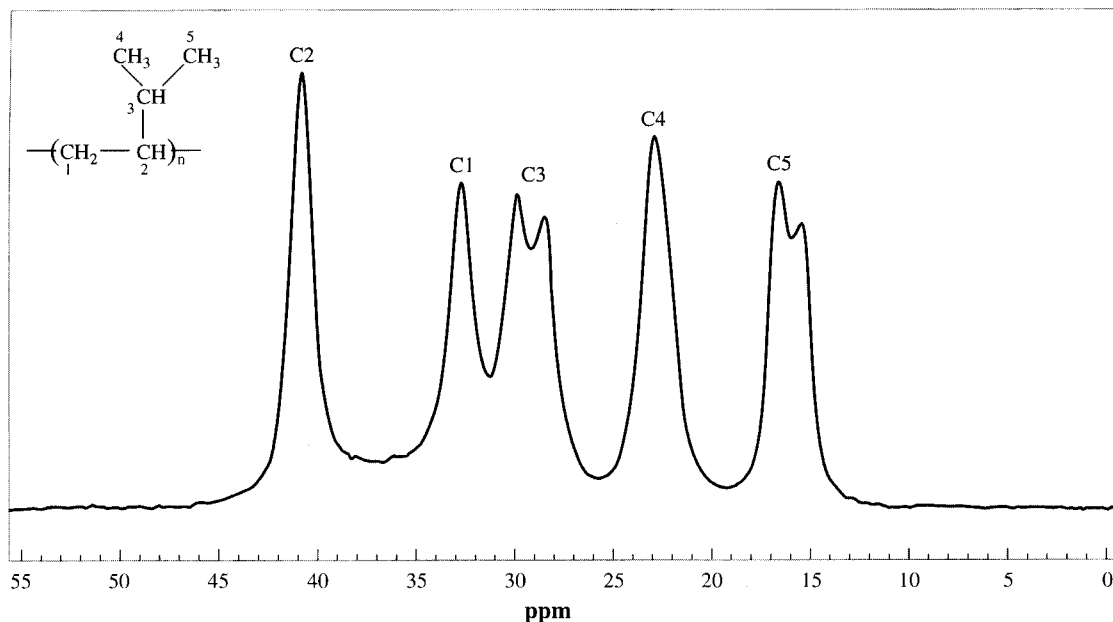


FIGURA 11.24 ▲

Un espectro de ^{13}C CP/MAS RMN de un polímero sólido, poli(3-metilo-1-buteno).

Los picos están identificados con los números de los carbonos de los que provienen. La estructura del estado sólido puede deducirse de dos factores. Primero, los carbonos C4 y C5 son químicamente distintos debido a la influencia de la estructura sólida. También, los picos de C3 y C5 están desdoblados como resultado del empaquetamiento molecular. Este espectro es la suma de 3350 transientes, ^{13}C a 75,468 MHz, MAS frecuencia 3 kHz, campo de desacoplamiento de ^1H 55,5 Hz. [Ref.: Reimpreso con permiso de Borriello, A., Busico, V., De Rosa, C., Schulze, D. 1995. *Macromolecules* 28, 5679-5680. Fig. 3. Copyright 1995 American Chemical Society.]

cuencias de resonancia de los núcleos de H presentes en la muestra. Éste es otro ejemplo de desacoplamiento de protón, que también observamos en los espectros de ^{13}C de la Figura 11.22. Para los sólidos, el método que elimina las interacciones spin-spin se denomina **polarización cruzada (CP)**. En la Figura 11.23 se muestra un espectro estrechado de una muestra sólida. Para obtener un espectro estrecho de RMN en estado sólido se requiere una elevada cantidad de muestra: alrededor de 100 mg. Espectros en estado sólido de CP o MAS también se han obtenido de ^{13}C . En la Figura 11.24 se muestra un ejemplo, del cual se puede deducir información estructural significativa a partir de las diferencias entre el espectro en estado sólido y en disolución de un mismo polímero.

11.9. RMN multidimensional

Los espectros de RMN sencillos unidimensionales estudiados a lo largo del capítulo exhiben la magnitud de resonancia (vertical) a medida que cambia con una escala relacionada con la frecuencia (horizontal). La medida horizontal, ppm, es partes por millón de radiofrecuencia. Un espectro de 2D-RMN, como la gráfica de contorno que ilustra la Figura 11.25, muestra los cambios en la resonancia relacionados con dos escalas de radiofrecuencia, denominadas aquí F1 y F2. En este caso, tanto la escala horizontal como la vertical son idénticas y muestran el intervalo de frecuencia de 7,5-9,0 ppm para las dos frecuencias F1 y F2. Esta gráfica representa una parte pequeña de un espectro típico, completo de 2D ^1H , de 0-10 ppm en cada eje.

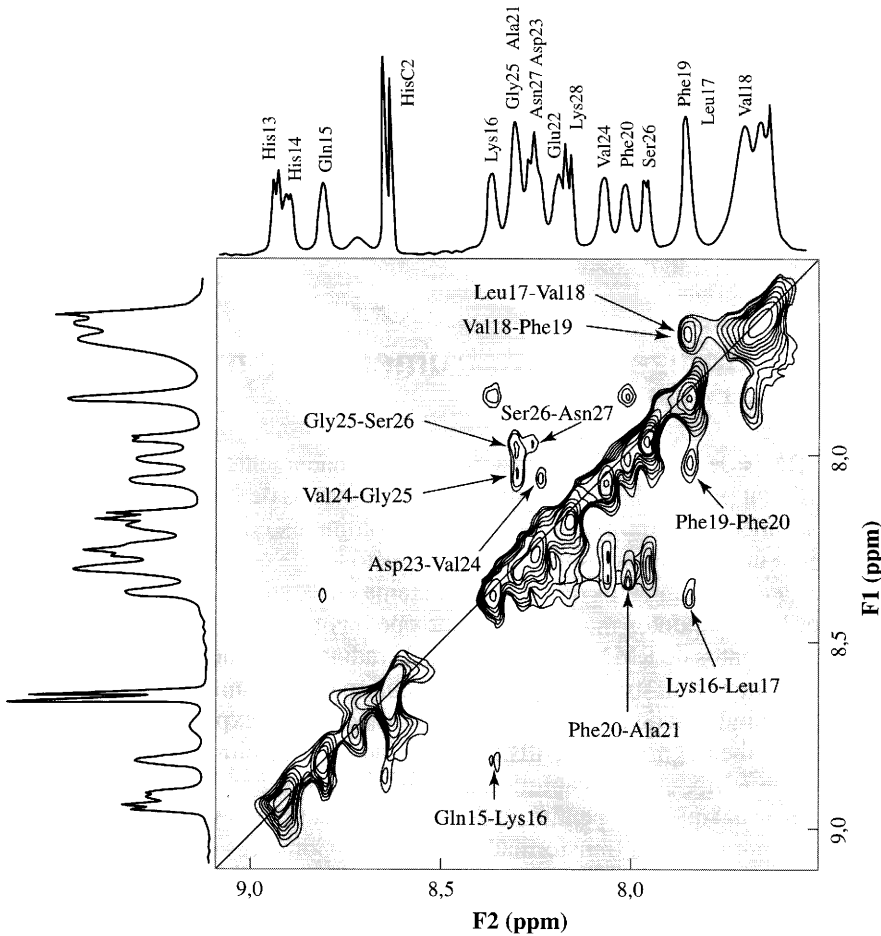


FIGURA 11.25 ▲
Un ejemplo de espectro de 2D-RMN.

Éste es el tipo denominado COSY, que es la forma corta de llamar a la espectroscopia de correlación. El espectro es una RMN- ^1H de un polipéptido de 17 aminoácidos en un disolvente que es 60% d_2 -trifluoroetanol/ 40% H_2O . La región que se muestra es aquella en la que aparecen los protones del grupo amida. El espectro 1D de la región se muestra en dos lados del espectro 2D. El espectro 2D consiste en un amplio número de picos a lo largo de la diagonal, que, si se representan a lo largo de la línea diagonal, también muestran el espectro 1D. Los picos que están fuera de la diagonal aparecen cuando se produce una interacción spin-spin entre dos protones. Por ejemplo, el pico fuera de la diagonal más bajo, a la izquierda, denominado Gln 15-Lys16, resulta de la interacción del protón amida de glicina 15 con el protón amida de lisina 16. Este pico cruzado está situado en la intersección de las posiciones de glicina 15 en el espectro 1D de la izquierda y de lisina 16 en el espectro 1D del borde superior. En la diagonal aparece también el pico correspondiente. Está situado en la intersección de las posiciones de lisina 16 en el espectro 1D de la izquierda y de glicina 15 en el espectro 1D en el borde superior. El espectro COSY se supone que muestra una imagen refleja a través de la diagonal. [Ref.: Jayawickrama, D., Zink, S., Vander Velde, D., Effiong, R. I., Larive, C. K. 1995. «Conformational analysis of the beta-amyloid peptide fragment, beta(12-28).» *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. 13, 229-244.]

Una característica de los espectros 2D es que el espectro usual 1D se representa en la diagonal desde el extremo inferior izquierdo hasta el extremo derecho superior. Los picos que están fuera de la diagonal se denominan **picos cruzados**. Cuando aparecen picos cruzados, indican qué picos del espectro 1D están conectados magnéticamente: como sus núcleos interactúan magnéticamente, deducimos que están cercanos en el espacio. Un pico cruzado aparece en la intersección de la proyección vertical de un pico 1D en la diagonal y la proyección horizontal de otro pico diagonal. Se los identifica con

las asignaciones de los dos picos conectados. El espectro es simétrico reflejado a través de la diagonal.

La RMN bidimensional permite la disección de espectros complicados y la asignación de resonancias a grupos químicos específicos. Además, grupos próximos en el espacio que se influyen mutuamente pueden relacionarse y, por ello, los espectros 2D pueden dar lugar a información estructural detallada. Tanto las moléculas grandes como las pequeñas, así como las proteínas de pesos moleculares de hasta 10.000, pueden analizarse por este método. Se necesitan cantidades elevadas de muestra, y los resultados son cualitativos en el sentido de análisis químico.

11A. Profundizando: instrumentos y muestras para RMN

La señal de RMN de una muestra típica tiene aproximadamente la misma magnitud que el ruido ocasional producido por los movimientos térmicos de las moléculas de la muestra en el instrumento. Como resultado, la obtención incluso de espectros de RMN rutinarios requiere una electrónica sofisticada. Los métodos de construcción y optimización de la respuesta de instrumentos de RMN es un tema de estudio avanzado. Por tanto, aquí sólo se describen los puntos más generales de operación.

Los instrumentos de RMN utilizan pulsos de radiación de radiofrecuencia para excitar los protones de la muestra. Los datos recogidos aparecen como se indica en la Figura 11A.1a. La disminución de la amplitud es aproximadamente exponencial con el tiempo, y estos datos reciben el nombre de **disminución por libre inducción (DLI)**. Casi todos los espectros de RMN en este capítulo han sido obtenidos con DLI. La relación matemática entre la señal que es dependiente de la DLI con el tiempo y los espectros de radiofrecuencia (en ppm) es una transformada de Fourier. Como resultado, los instrumentos de RMN que excitan con pulsos de radiofrecuencia, recogen disminuciones por libre inducción y transforman estos datos en un espectro se denominan espectrómetros de **RMN de transformada de Fourier**, abreviadamente FT-RMN.

Las características principales de un instrumento de RMN se ilustran en la Figura 11A.2. El instrumento consiste en una fuente de radiofrecuencia que es extremadamente estable en frecuencia y potencia, un receptor de radiofrecuencia altamente sensible, un imán magnético que produce un campo magnético fuerte y constante y, por supuesto, un sistema de grabación de datos. Los datos se recogen como amplitudes de la señal a intervalos regulares durante tiempos de hasta unos segundos. El período de tiempo de recogida de datos depende del tipo de núcleo (por ejemplo, ^1H , ^{13}C), el entorno (sólido, disolución), el tipo de molécula (pequeña, proteína) y la concentración del analito. El número de puntos de datos recogidos en el tiempo dado tiene que ser una potencia de dos, y 16284 es un

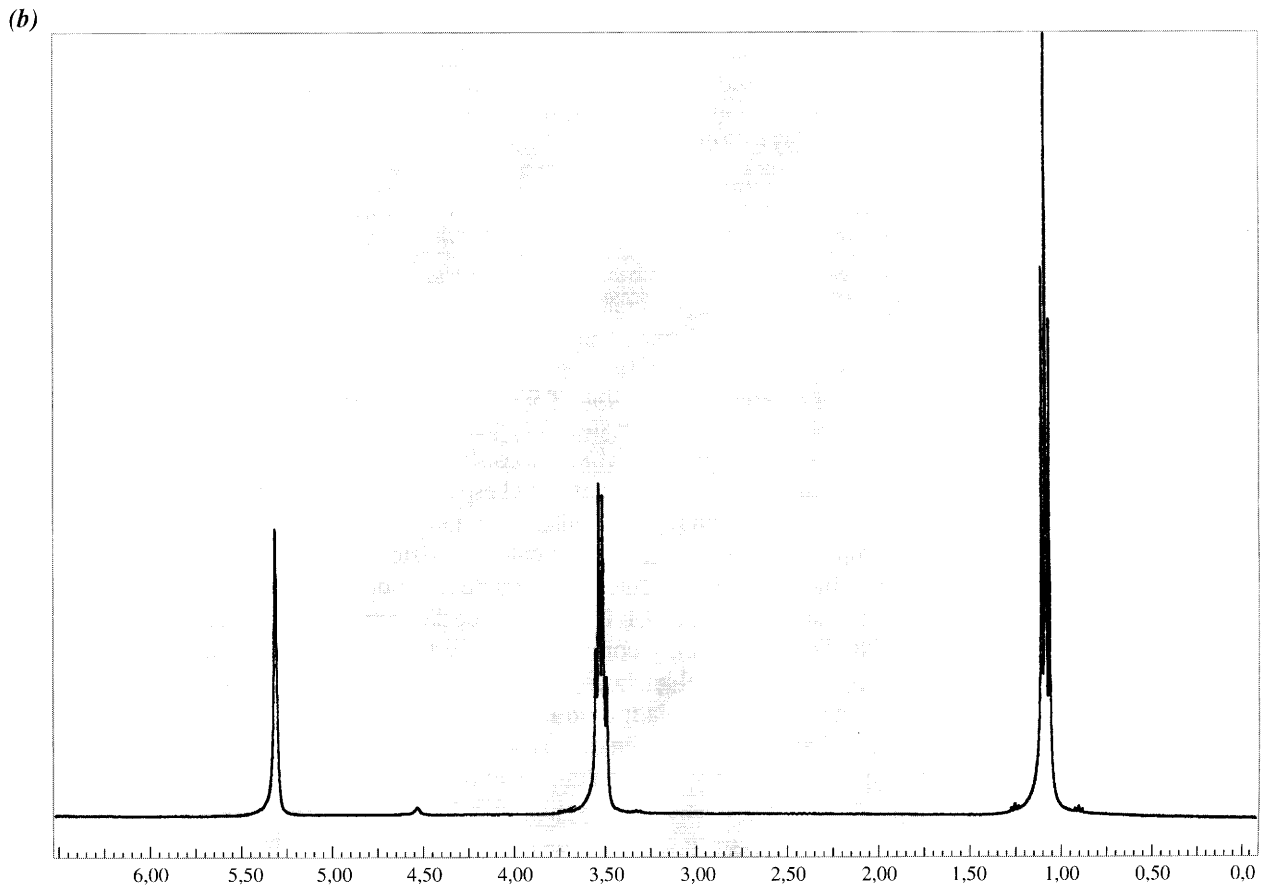
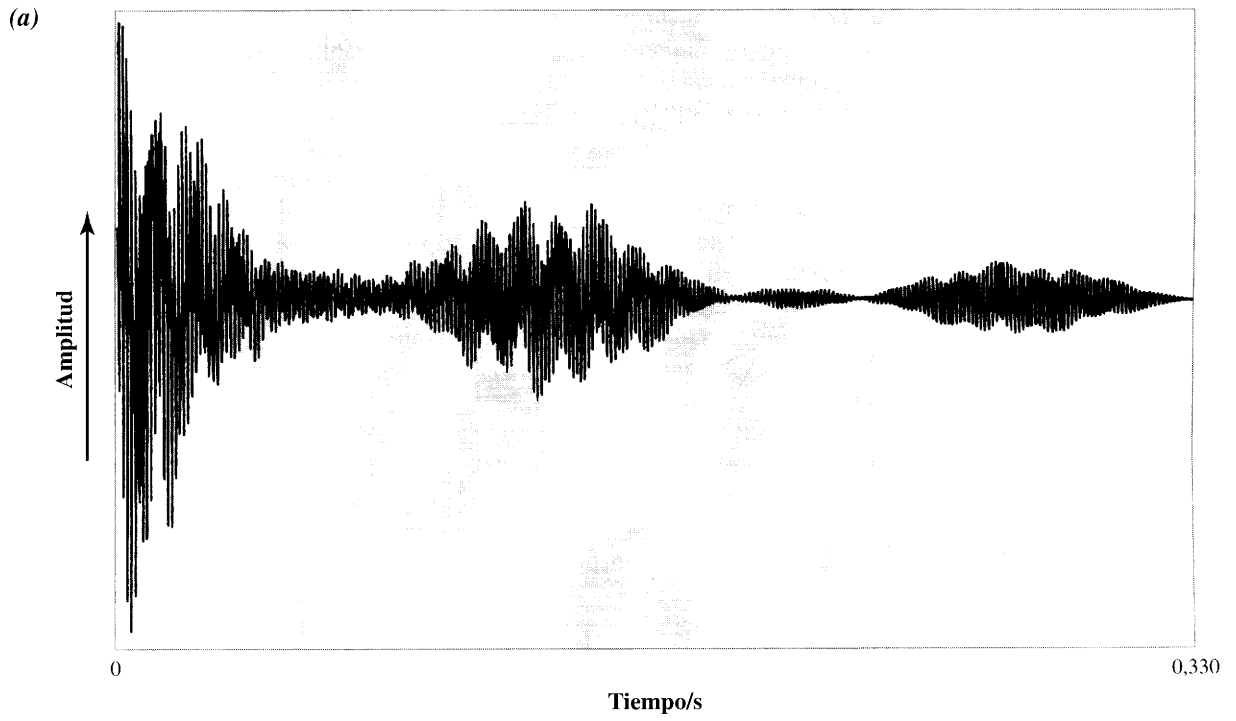
Los detalles técnicos de este espectro se explican en el Capítulo 17.

La transformada de Fourier se explica con detalle en el Capítulo 17.

FIGURA 11A.1 ►

La disminución por libre inducción de protón y espectro de etanol a 360 MHz.

(a) Esta DLI se obtuvo de una muestra de etanol absoluto en un tubo de 5 mm en un instrumento de 360 MHz (8,5 T de campo). La amplitud de pulso fue 3 μs . El número de transitorios (esto es, DLI recogidos) = 8. El tiempo de cada DLI fue 3,4079 segundos, recogiendo 16K puntos de datos (esto es, $16384 = 2^{14}$). La gráfica de DLI muestra los datos promedio recogidos en el intervalo de tiempo 0-0,330 segundos. La oscilación rápida de la señal se debe a la diferencia entre la radiofrecuencia del instrumento y la frecuencia de la resonancia. Las ondas más lentas de la amplitud se deben a las resonancias de los distintos protones que interfieren constructivamente o destructivamente. (b) El espectro resultante. Los desplazamientos químicos están referenciados respecto al TMS a 0,0 ppm. El pico pequeño a 4,6 ppm se debe a agua residual. Los picos pequeños a ambos lados de los picos grandes son los picos de ^{13}C satélites debidos al acoplamiento hiperfino de las moléculas con el 1% de carbonos de $I = 1/2$ distribuidos al azar. Para obtener este espectro, el DLI de 16K puntos en tiempo fue cero llenado con 32K puntos de datos. Le sigue una ventana exponencial y a continuación los datos fueron transformados por Fourier para dar lugar al espectro. La ventana ensancha el ancho de línea por 0,5 Hz. La ventana y el llenado cero se explican en el Capítulo 17. (Datos cortesía del Dr. N. Reo.)



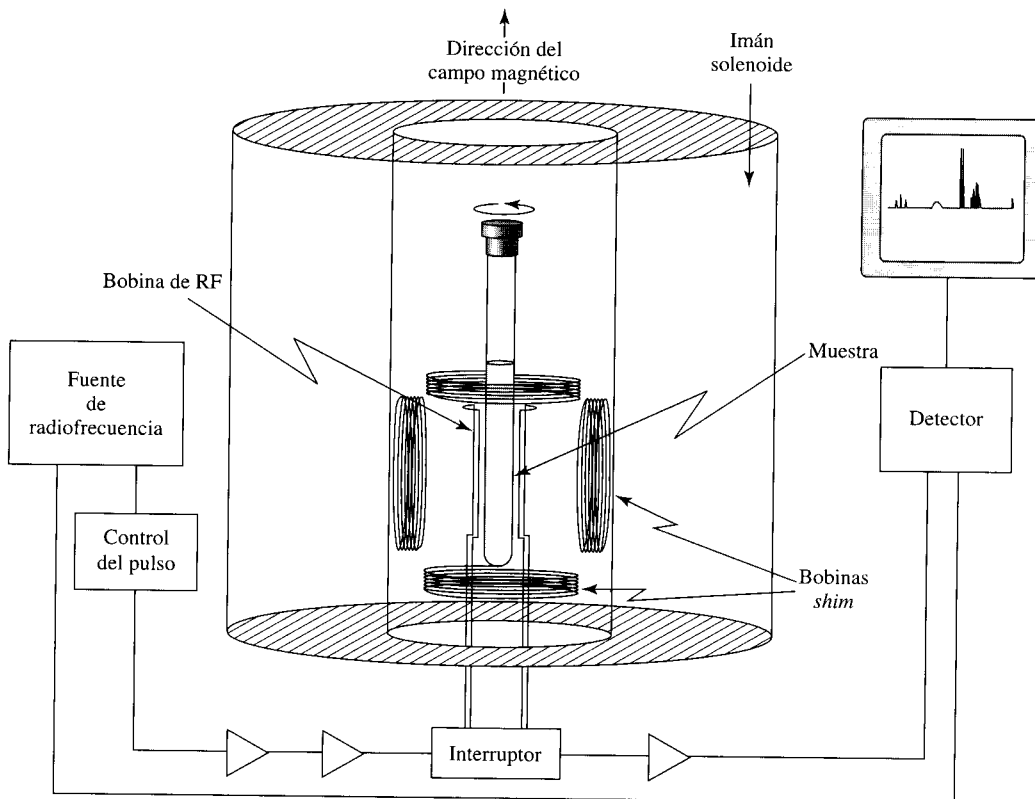


FIGURA 11A.2 ▲
Esquema de un instrumento de FT-RMN.

La excitación de radiofrecuencia se transmite a la muestra a través de una espiral. La forma de la espiral es tal que el campo magnético generado por la corriente de radiofrecuencia es homogéneo y perpendicular al campo magnético DC, que aquí se encuentra a lo largo del eje de un solenoide. La emisión de radiofrecuencia la recoge la misma bobina cuando está unida al circuito de detección después de un retraso de algunos microsegundos, tras el final del pulso de RF. El campo magnético del solenoide se hace homogéneo por el uso de bobinas *shim* alrededor del área de la muestra. El tubo de la muestra se gira sobre su eje para promediar las inhomogeneidades residuales del campo magnético que no eliminaron las *shims*.

número común. Para muchas muestras, se recoge un número de disminuciones por libre inducción y se suman. Las señales se suman con cada DLI, pero el ruido aumenta sólo como \sqrt{N} , donde N es el número de DLI sumados. Por tanto, la relación señal/ruido aumenta como \sqrt{N} . La suma de DLI se convierte en el espectro familiar. Además, los pulsos se producen en fases que cambian regularmente, y por tanto la suma compensa las imperfecciones en los amplificadores y otros componentes del sistema de radiofrecuencia.

Como se indicó anteriormente, el ancho de línea de un pico de absorción de RMN puede ser tan estrecho como 0,1 Hz. Dado que las frecuencias de resonancia son del orden de 108 Hz (100 MHz), y como el campo y la frecuencia están directamente relacionados (Ecuación 11-1), el ancho de la línea debe reflejar la precisión del campo magnético en el que se encuentra la muestra. Como resultado, el campo magnético debe ser homogéneo a unas pocas partes en 10^9 . Hacer el campo así de homogéneo requiere una construcción cuidadosa. Sin tener en cuenta el tipo de imán magnético utilizado (imanes permanentes, electroimanes o imanes superconductores, dependiendo de la calidad del instrumento), el campo debe hacerse más homogéneo utilizando bobinas pequeñas denominadas *shims* o bobinas empaquetadas. Los shim se colocan entre el imán principal y

La mejora S/N por suma de señales se examina en la Sección 17.2.

la muestra, y producen pequeños gradientes de campo magnético de formas distintas para compensar las leves imperfecciones del campo principal. Además, para mantener los campos constantes, los imanes son termostatos. A continuación, como etapa final, la muestra se gira a una velocidad de unos ciclos s^{-1} a lo largo del eje longitudinal del tubo de la muestra. Este movimiento cíclico produce un campo magnético final promedio.

Se requiere un control preciso (partes por 10^8) de la fuente de radiofrecuencia. La fuente de frecuencia se controla a través de las vibraciones de un cristal de cuarzo estabilizado térmicamente. Recordemos que queremos obtener una medida exacta del desplazamiento químico; éste es una relación de la frecuencia de irradiación relativa al campo. No se permite la deriva de uno con respecto al otro. Esta deriva se reduce a algo insignificante mediante la adición de un circuito —el **bloqueo campo-frecuencia**— al instrumento, que soporta la frecuencia relativa a un estándar interno de RMN, normalmente deuterio 2H . El bloqueo se lleva a cabo teniendo, en efecto, un segundo espectrómetro de RMN que mida la resonancia del deuterio en el campo y mantenga el instrumento correctamente ajustado. El deuterio utilizado suele estar en el disolvente deuterado o en especies que contengan deuterio, en un tubo pequeño y concéntrico situado a lo largo del eje del tubo de la muestra.

La energía de radiofrecuencia incidente se transmite a la muestra a través de una bobina que rodea el tubo de la muestra, como se indica en la Figura 11A.2. En esencia, la energía del pulso de radiofrecuencia se absorbe y se vuelve a irradiar por la muestra. Esta emisión se detecta y amplifica mediante amplificadores sofisticados que eliminan el ruido, se almacena como una suma (de muchos pulsos) DLI, y se transforma matemáticamente en la forma espectral deseada. En los instrumentos actuales, se utiliza una sola bobina para irradiar la muestra y como antena para recoger la inducción libre mucho más débil generada por la muestra. La bobina es perpendicular al campo magnético fijo. Para los experimentos de desacoplamiento, como se señaló en el desacoplamiento de ^{13}C , una segunda bobina fuera de la primera está presente para irradiar la muestra.

Las muestras en RMN consisten en disoluciones relativamente concentradas (comparadas con casi todas las demás espectrometrías). Los instrumentos más sensibles pueden obtener un espectro en unos pocos segundos con un mg de muestra. Los instrumentos disponibles más comunes requieren 10 mg de muestra en disolución para RMN de protón. Las disoluciones se colocan hasta una profundidad de 2-3 cm en el fondo de un tubo cilíndrico de 5 mm de diámetro. Para núcleos menos sensibles se utilizan normalmente tubos de diámetro mayor. Los tubos estándar tienen 20-25 cm de largo. Existen otros tipos distintos, aunque menos comunes, de portamuestras para cantidades más pequeñas de materia. Los sólidos para RMN de sólidos se empaquetan en contenedores de plástico y se cubren. Los rotores se dirigen con aire comprimido para que giren en kHz sobre su eje, que está alineado con el ángulo mágico relativo al campo magnético estático.

Bibliografía recomendada

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 5th ed. New York: John Wiley & Sons.

Un libro práctico pero de nivel riguroso que incluye espectrometría de masas, infrarroja y ultravioleta, y RMN de protón y de carbono. Incluye un capítulo excelente sobre 2D-RMN elemental. No es un libro de instrumentación. Muy recomendado para compuestos orgánicos. Un buena continuación para lectura.

BRUCH, M. D. 1996. *RMN Spectroscopy Techniques*. New York: Marcel Dekker.

El enfoque de este libro consiste en describir qué información molecular pueden proporcionar varios tipos de experimentos de RMN (sólidos, 2D en líquidos, etc.) y qué espectros originan. Una aproximación única y realmente útil a un nivel de sofisticación razonable con figuras excelentes.

LAMBERT, J. B., SHURVELL, H. F., LIGHTNER, D. A., COOKS, R. G. 1998. *Organic Structural Spectroscopy*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

Estudia la misma área experimental que este capítulo pero con una interpretación y aplicación químico-orgánica mucho más extensa. La curva de aprendizaje de 2D-RMN es bastante empinada.

SANDERS, J. K. M. 1993. *Modern NMR Spectroscopy, A Guide for Chemists*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press.

Aquí se encuentra una explicación clara de los experimentos de RMN multidimensional y la información que proporcionan. No obstante, la estructura es progresiva, por lo que no basta simplemente con echar un vistazo, por ejemplo, a COSY o NOESY para entender los detalles.

BREITMAIER, E., BAUER, G. 1984. *¹³C NMR Spectroscopy. A Working Manual with Exercises*. Chur, Switzerland: Harwood.

Este libro consiste en 100 páginas de teoría de RMN y a continuación 75 ejemplos de problemas de espectros de RMN-¹³C. Incluye las soluciones a los problemas. Una introducción útil y única.

KOLODZIEJSKI, W., KLINOWSKI, J. 1996. *New NMR Techniques for the Study of Catalysis. NMR Techniques in Catalysis*. A. T. Bell and A. Pines, eds. New York: Marcel Dekker. 361-411.

Una revisión concisa de los métodos contemporáneos de RMN de muestras sólidas. Las descripciones son bastante claras dada la complejidad de la física spin-nuclear.

LIU, C. C. 1996. «Quantitative Analysis of Solids by High-Resolution ¹H-NMR.» *Anal. Chem.* 68:1401-1407.

Se describe un método donde la goma de silicona se utiliza como un estándar de intensidad y las secuencias de pulsos especiales y giro de la muestra permiten obtener RMN-¹H cuantitativo de algunas muestras sólidas.

Ejercicios

11.1. Se lleva a cabo un espectro de RMN-¹H a 250 MHz, y se encuentran seis picos con áreas integrales iguales. Los picos están a 0, 346, 408, 467, 950 y 1787 Hz a bajo campo en relación al TMS. En la muestra hay tetrametilsilano, acetona, benceno, ciclohexano, *t*-butanol y dioxano. El protón hidroxilo del alcohol no se aprecia.

- Asígnense los seis picos a los seis compuestos.
- Si el espectro de RMN-¹H se lleva a cabo a 500 MHz, ¿a qué frecuencias relativas al TMS se encontrarían las seis resonancias?
- Si al TMS se le asigna una concentración de 10,0, ¿cuáles son las concentraciones de los otros cinco componentes de la mezcla?

11.2. Se realiza un espectro del tolueno (esto es, metilbenceno). El espectro consiste en dos singletes. El singlete a 7,2 δ tiene una integral de 72 unidades. El singlete a 2,35 δ tiene una integral de 36 unidades gráficas. ¿Está puro el tolueno?

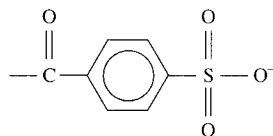
11.3. Asígnense los espectros I-V en la Figura 11.3.1. Los compuestos posibles son:

- 1-cloropropano, CH₃CH₂CH₂Cl
- 1,2-dicloropropano, CH₃CH(Cl)CH₂Cl
- 1,3-dicloropropano, Cl(CH₂)₂Cl
- isopropanol, (CH₃)₂CHOH
- 3-cloropropeno, H₂C=CHCH₂Cl
- 1-propanol, CH₃CH₂CH₂OH

11.4. Asígnense los espectros I-VI en la Figura 11.4.1. Los compuestos posibles son:

- etilbenceno, C₆H₅C₂H₅
- p*-cresol, CH₃C₆H₄OH
- p*-xileno, CH₃C₆H₄CH₃
- benceno, C₆H₆
- tolueno, C₆H₅CH₃
- anisol, C₆H₅OCH₃
- p*-dimetoxibenceno, CH₃O—C₆H₄—OCH₃

11.5. Se está desarrollando una nueva droga, que contiene el siguiente grupo en su estructura:



No es posible llevar a cabo un espectro de masas convencional porque el compuesto se degrada por calentamiento, por lo que se decide estudiar su masa molecular por RMN. Para hacer esto, se pesan 10,0 mg de compuesto en un tubo de RMN. Se añaden al tubo 5,0 mg de acetato de sodio anhidro (f.w. 82,04). Ambos compuestos se disuelven en D₂O. Se lleva a cabo un espectro de RMN. El pico a 1,90 δ tiene un área integral de 82 unidades (media de 3 análisis). Un singlete a 8,0 δ (no hay otros picos en la región) tiene una integral de 30,5 unidades (media de 3 análisis). ¿Cuál es la fórmula molecular del analito?

11.6. Existen dos niveles de energía para un protón dirigido hacia o en contra del campo externo, y la transición entre ellos ocurre a 100 MHz a 298 K.

(a) ¿Qué fracción de núcleos están en los niveles superior e inferior? (Pista: Pensar en Boltzmann.)

(c) Háganse los mismos cálculos para 200 MHz y 500 MHz.

(e) Hemos leído que las intensidades de las líneas de los componentes de un multiplete se deben a las probabilidades de que los protones estén dirigidos hacia fuera o a lo largo de la dirección del campo magnético. ¿Habrá diferencias observables en las alturas relativas de los componentes de los multipletes en espectros de RMN a estas frecuencias distintas? Supóngase que el 2% es observable experimentalmente.

11.7. La Figura 11.20 muestra el espectro de RMN de protón del 2-yodo-1,1,1-trifluoroetano. Si tenemos que obtener el RMN-¹⁹F del compuesto, ¿qué tipo de desdoblamiento mostrará el multiplete del flúor?

11.8. En la Figura 11.9, ¿el campo alto está a la izquierda o a la derecha?

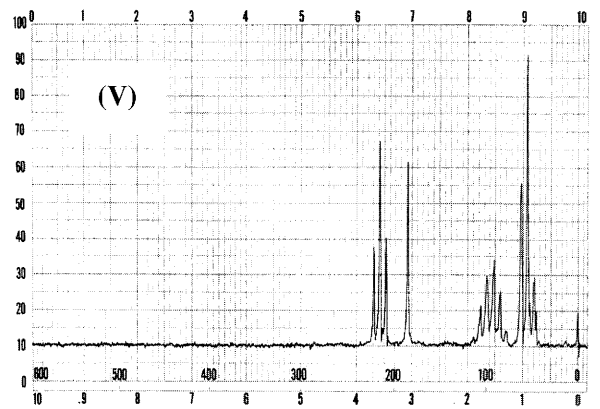
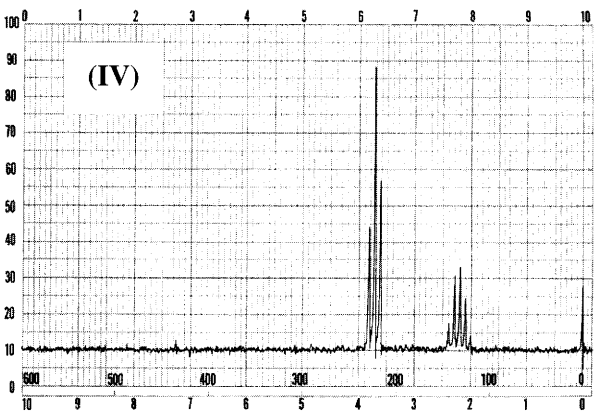
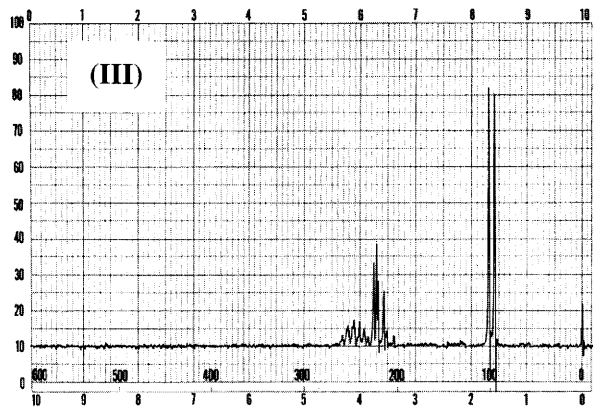
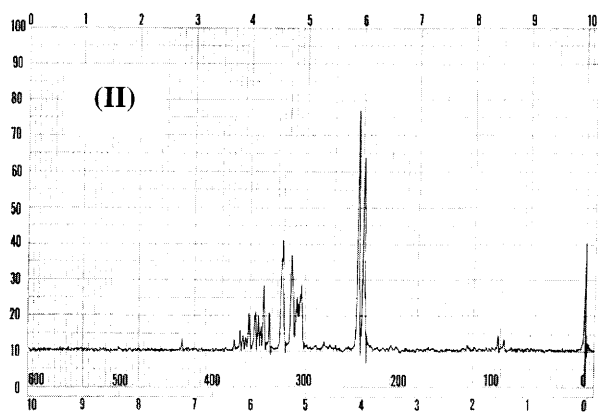
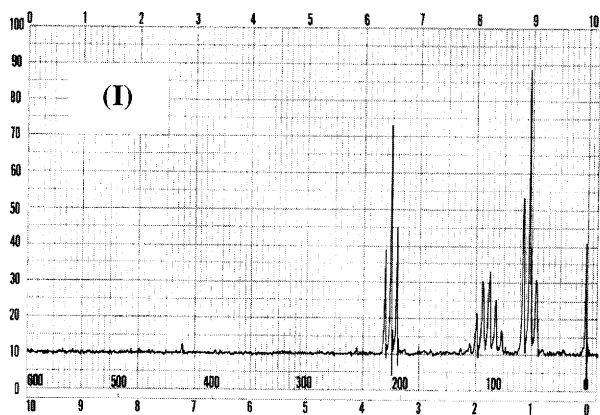


FIGURA 11.3.1 ▲

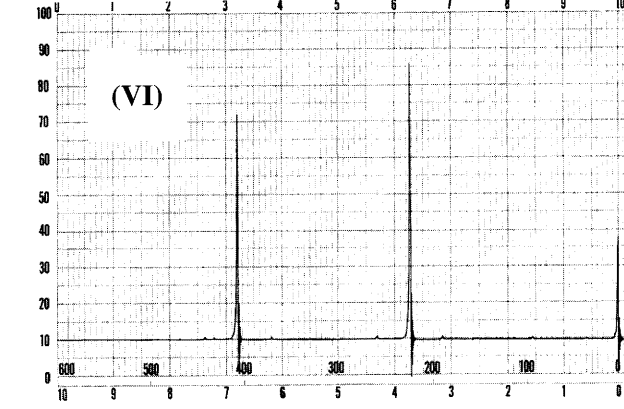
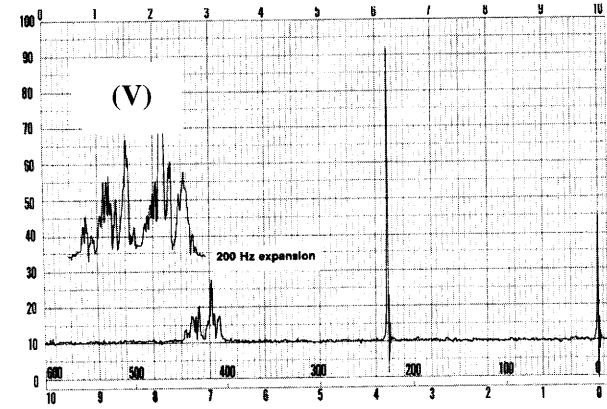
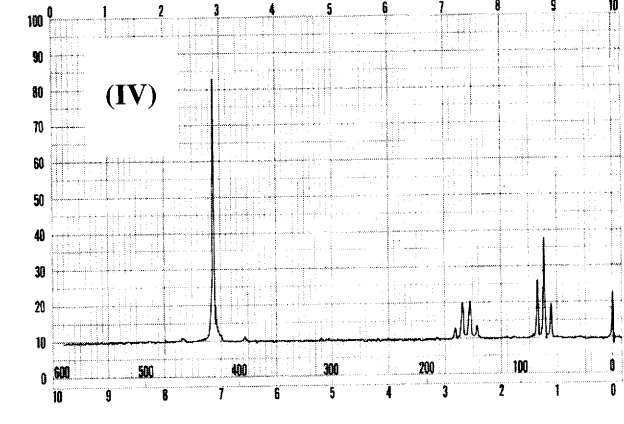
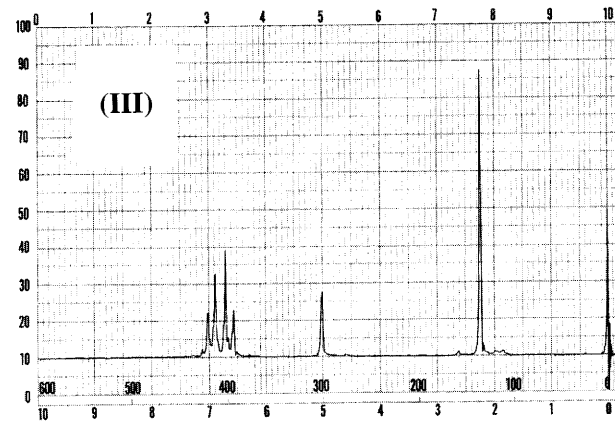
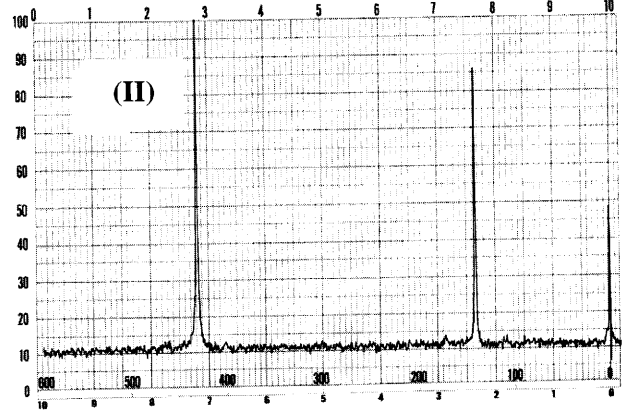
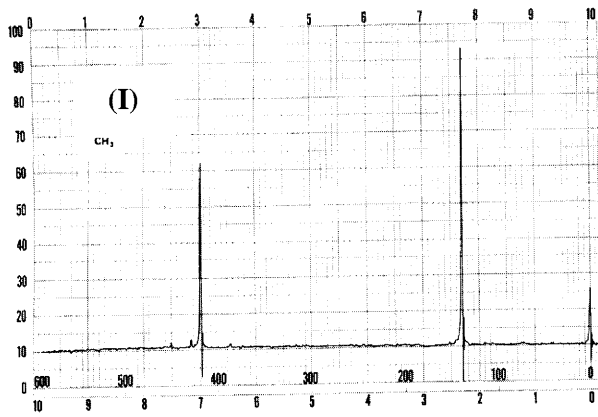
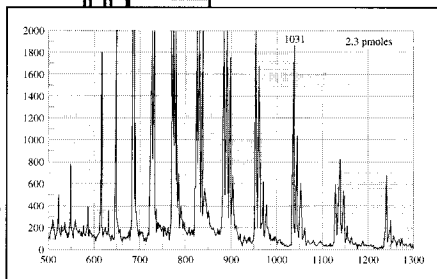


FIGURA 11.4.1 ▲

CAPÍTULO

Espectrometría de masas



Contenido

- 12.1. Introducción
- 12.2. Espectros de masas y la relación masa/carga
- 12.3. Análisis de espectros de masas de moléculas orgánicas
- 12.4. Poder de resolución del espectro de masas y la resolución del espectro
- 12.5. Determinación de masas exactas y fórmulas moleculares
- 12.6. Espectrometría secuencial de masas: MS/MS
- 12.7. Espectrometría de masas/separaciones
- 12.8. Espectrometría de masas de masas elevadas
- 12.9. Distribución espacial por espectrometría de masas
- 12.10. Variedad de fuentes de ionización
- 12.11. Analizadores de masas para espectrometría de masas
- 12.12. Análisis de alta precisión por espectrometría de masas: dilución isotópica

Profundizando

- 12A. La abundancia de isótopos naturales

12.1. Introducción

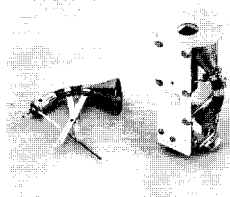
La espectrometría de masas (MS) da nombre a un conjunto de técnicas utilizadas para la medida de la masa de los iones y su abundancia en la fase gaseosa. Cada uno de los pasos de la medida de la masa,

- generación de las moléculas en la fase gaseosa (y fragmentos de moléculas y átomos),
- su ionización,
- su separación según su masa, y
- la detección del pico del ion

se obtiene de diferentes maneras. Estos métodos serán estudiados en este capítulo.

El conjunto de técnicas llamadas espectrometría de masas es uno de los más versátiles e importantes instrumentos de análisis químico. Su versatilidad se debe en parte al amplio abanico de posibilidades de cada una de las tres secciones de un espectrómetro de masas.

Las tres partes básicas son la fuente de ionización, el analizador y el transductor/detector, como se muestra en la Figura 12.1. Con pocas excepciones, un espectrómetro completo se mantiene a una presión entre 10^{-3} y 10^{-7} torr (1 torr = 133 Pa = 1 mm Hg). Una «presión alta» en un espectrómetro de masas es en torno a 10^{-3} torr. En la ilustración, se aprecia que las moléculas de la muestra se desplazan desde la izquierda, por donde se introduce la muestra en el aparato, hacia la derecha. La muestra puede introducirse tanto en fase gaseosa como en fase líquida o sólida. (Siempre que se evapore a los líquidos y se sublima a los sólidos.) La muestra gaseosa se ioniza entre dos placas cargadas. Se aceleran los iones mediante un potencial de pocos kilovoltios, y se focalizan utilizando campos eléctricos o rendijas. La zona donde se introducen las moléculas, se evaporan, se ionizan y se aceleran se llama **fente de ionización**. En la fuente de ionización se muestran tres tipos de iones con masas diferentes, indicados mediante círculos, triángulos y cuadrados. Los iones acelerados pasan desde la fuente de ionización a uno de los numerosos tipos posibles que hay de **analizadores de masas**. En la mayoría de los analizadores de masas, se separan los iones de distinta masa, de modo que diferentes tipos de iones llegan al transductor a diferentes tiempos. Esta pequeña corriente de iones se amplifica mediante el transductor, normalmente un **multiplicador**



A la izquierda tenemos un transductor de multiplicador de electrones. A la derecha tenemos la estructura del mismo transductor para usar.

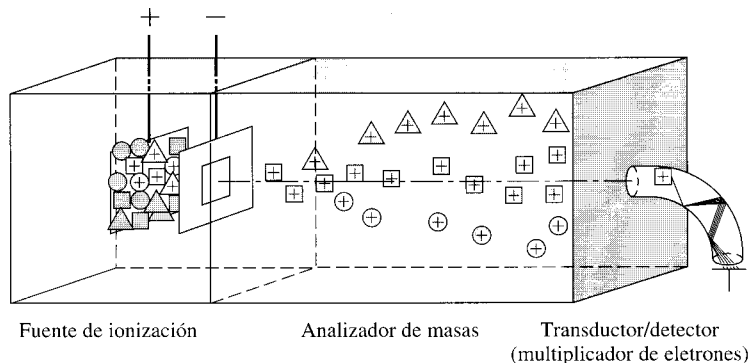
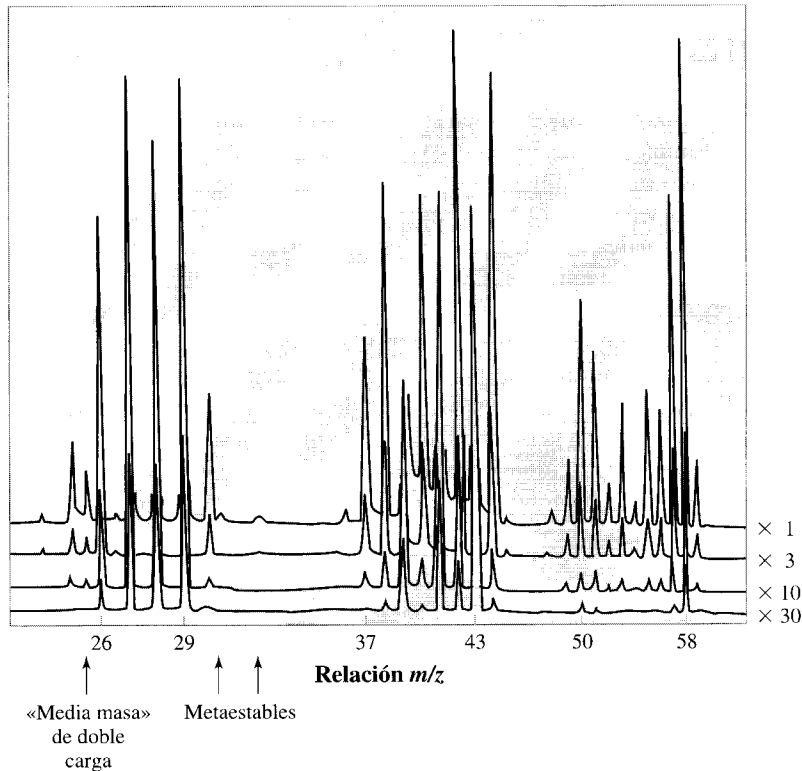
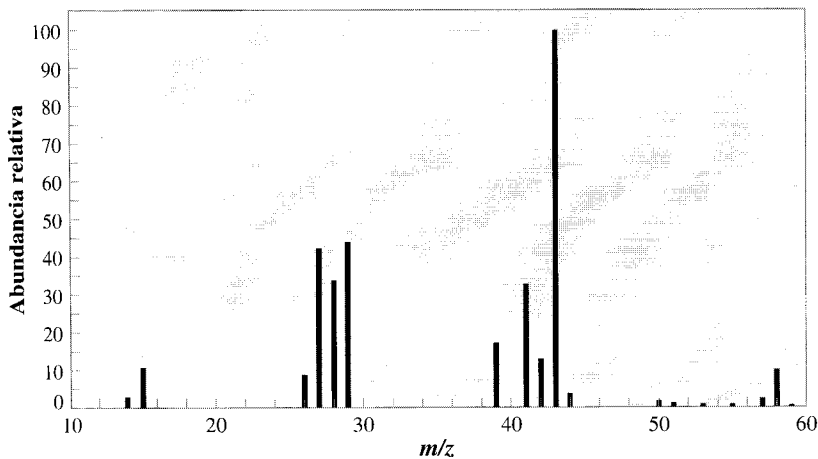


FIGURA 12.1 ▲
Esquema de las características principales de un espectrómetro de masas.

(a)



(b)



(c)

<i>m/z</i>	Abundancia relativa
2	0,61
12	0,31
13	0,63
14	2,02
15	10,80
16	0,26
25	0,70
25,5	0,36
26	8,99
27	42,82
28	33,83
29	44,21
30	0,98
30,4	0,15
31,9	0,21
39	17,32
39,2	0,5
40	2,36
41	31,77
42	12,61
43	100,0
44	3,42
50	1,94
51	1,39
52	0,35
53	1,00
54	0,24
55	1,15
56	0,87
57	2,72
58	11,75
59	0,52

FIGURA 12.2 ▲

Tres representaciones diferentes del espectro de masas de un compuesto.

(a) Un gráfico de la corriente iónica con cuatro escalas de sensibilidades diferentes impresas a la vez. Nótese las dos características especiales: Hay un pico a la masa/carga $25\frac{1}{2}$. Esto es debido a la fragmentación del pico masa 51 con dos cargas: un ion con doble carga con $m/z\ 25\frac{1}{2}$. También, en el margen, hay pequeños picos entre $m/z\ 30$ y 40 . Estos son **iones metaestables** —iones que se han descompuesto desde que se abandona la fuente de ionización—. (b) Un histograma computerizado. El pico más alto tiene en la escala el valor de 100. (c) Un listado de la relación m/z de los picos y su abundancia relativa. Tanto en (b) como en (c) se generan por sistemas computerizados. [Ref.: (a) Cortesía de DuPont, Wilmington, DE. (b), (c) Datos facilitados por la Biblioteca NIST.]

Fotomultiplicadores,
Figura 8C.4.
Electromultiplicadores,
Figura 9E.3.

de electrones, que amplifica las corrientes de modo similar a un fotomultiplicador. Esta corriente se amplifica más mediante sus componentes electrónicos asociados que producen la señal de salida. La señal de salida de la corriente iónica frente al tiempo es impresa como la corriente iónica frente a la masa, dando un espectro similar al de la Figura 12.2.

Desde sus comienzos, la espectrometría de masas se ha utilizado para analizar moléculas pequeñas y átomos. La más reciente expansión de la espectrometría de masas dentro del análisis de todo tipo de muestras se debe, en gran parte, a la variedad de fuentes de iones que se han diseñado para evaporar e ionizar moléculas y átomos de muestras que en condiciones normales no son gases. Es en este terreno donde su desarrollo y aplicaciones progresan más rápidamente. Debido a estos nuevos métodos de evaporación e ionización, la espectrometría de masas se está afianzando en campos como el análisis bioquímico, inorgánico y de polímeros. Es importante entender que no existe un único tipo universal de fuente de ionización para MS. El tipo depende de la naturaleza de las muestras. En la Tabla 12.1 se enumeran las áreas de aplicación general para las fuentes de ionización más comunes. En la práctica, el tipo de muestra se analiza con mayor detalle atendiendo a las transformaciones químicas que tienen lugar en la fuente de ionización, que se explicarán más profundamente en la Sección 12.10. Pero, primero, centrémonos en los datos de un espectro de masas.

Tabla 12.1. Tipos de fuentes de ionización y muestras para la espectrometría de masas

Muestra	Fuentes iónicas más utilizadas	Ejemplos
Especies gaseosas	Ionización electrónica (EI) Ionización química (CI)	He, H ₂ , D ₂ , Butano Butano
Elementos en disoluciones acuosas o suspensión	Plasma acoplado inductivamente (ICP)	Iones metálicos en agua
Elementos en muestras sólidas	Espectroscopia de masas de iones secundarios (SIMS) Ablación Láser-ICP Descarga luminiscente (GD)	Circuitos integrados, cristal de ventana Rocas Acero
Relación de isótopos	Ionización térmica (TI) Plasma acoplado inductivamente multicanales-MS	Relación de isótopos para datar rocas y metabolismos de drogas dañinas
Sólidos moleculares: orgánicos e inorgánicos	Vaporización térmica-EI Vaporización térmica-CI SIMS, ablación por láser, pirólisis	Azúcares derivados, acetatoaminfenoles Plásticos, elastómeros, pinturas
Moléculas/macromoléculas solubles en agua y en algunos disolventes orgánicos	Ionización de electrospray (ESI).	Polipéptidos Sulfactantes Óxido de polietileno
Macromoléculas y polipéptidos disueltos y secados en determinadas matrices sólidas (p. ej., 3-metoxi-4-ácido hidroxicinámico + ácido trifluoroacético)	Desorción/ionización asistida por láser (MALDI)	Polipéptidos Proteínas de mas de 10 ⁵ m.w. Ácidos nucleicos < 90-mer
Moléculas/macromoléculas solubles en líquidos específicos (glicerol, tioglicerol, etc.)	Bombardeo de átomos acelerados (FAB)	Polipéptidos, Proteínas < 5.500 m.w.

12.2. Espectros de masas y la relación masa/carga

La presentación de los datos de un espectro de masas normalmente viene dada por alguna de las maneras representadas en las Figuras 12.2b y 12.2c. La Figura 12.2a, un gráfico directo de la corriente iónica de salida de un espectrómetro de masas, no es la clase de gráficos que se obtendrán de los instrumentos actuales. Sin embargo, sirve para mostrar la complejidad química de la fase gaseosa. Estos tres espectros muestran las masas de las moléculas ionizadas (o átomos) y cada fragmento producido, así como la **abundancia relativa** de cada uno de ellos. En la espectrometría de masas, la abundancia relativa es otro concepto aparte de la concentración relativa. La abundancia relativa se determina a partir de la altura y de las áreas relativas de los picos.

En un espectro de masas, las masas son medidas a partir de la posición del pico en el eje horizontal. Hay que tener en cuenta que la magnitud del eje no es la masa. En espectrometría de masas se trabaja sólo con especies cargadas: iones en estado gaseoso. Lo que siempre se determina es la relación entre la masa y la carga eléctrica del fragmento. Por tanto, es correcto escribir en el eje horizontal m/z , la **relación masa/carga**. La Tabla de masas presenta otro tipo de representación. (Los datos numéricos correspondientes a las masas sólo pueden obtenerse contando una unidad de masa para un tiempo a partir de posiciones de estándares de masas conocidas.)

12.3. Análisis de espectros de masas de moléculas orgánicas

A continuación, expondremos una aplicación básica de la espectrometría de masas: la determinación de fórmulas y estructuras de moléculas orgánicas. Utilizaremos los datos de la Figura 12.2 para nuestro primer ejemplo. Nuestro proceso de identificación se lleva a cabo en este orden.

1. **Identificación del ion molecular.** La masa del ion molecular se calcula a partir de la fórmula molecular utilizando los pesos atómicos de los isótopos más abundantes en la naturaleza (esto es, ^{12}C , ^{14}N , ^{35}Cl ; véase la Tabla 12.2). Por ejemplo, en la Figura 12.2, el pico a m/z 58 es el ion molecular del *n*-butano.
2. **Modelo para el estudio de la distribución de los isótopos.** Ésta es la forma de los picos debida a la distribución de los diferentes isótopos atómicos presentes en una determinada molécula o en un fragmento. En la Figura 12.2, los picos con m/z 58 y 59, una distribución de isótopos, como lo son el 43 y el 44. Más adelante se explicará este punto con más detalle.
3. **Explicación del modelo de fragmentación.** Cuando las moléculas de la muestra son ionizadas en la fuente, parte de la energía introducida hace que la molécula, una vez ionizada, se fragmente. Los fragmentos de la ruptura ayudan a corroborar la identificación de la molécula. En la Figura 12.2, todos los picos por debajo de m/z 58 forman parte de la fragmentación. Sin embargo, las masas 43 y 29 son las más útiles.

Se debe tener en cuenta que esta secuencia no es la única para abordar el problema de la identificación. Las ayudas de búsqueda de las computadoras no trabajan de este modo; usan métodos de identificación basándose en el estudio del pico de mayor altura del espectro como característica de un grupo funcional.

La determinación de moléculas desconocidas, ya sean pequeñas, a partir de un espectro de masas es una habilidad que se obtiene con la práctica. (Las bases de datos de

Tabla 12.2. Abundancia en la naturaleza de los isótopos de los elementos en compuestos orgánicos más comunes

Elemento	Masa	Abundancia relativa	Masa + 1	Abundancia relativa	Masa + 2	Abundancia relativa
<i>Elementos con un solo isótopo</i>						
F	19	100				
P	31	100				
I	127	100				
<i>Elementos con dos isótopos mayoritarios</i>						
H	1	100	2	0,016		
C	12	100	13	1,08		
N	14	100	15	0,36		
C	35	100			37	32,5
Br	79	100			81	98,0
<i>Elementos con tres isótopos mayoritarios</i>						
O	16	100	17	0,04	18	0,20
Si	28	100	29	5,1	30	3,4
S	32	100	33	0,80	34	4,4

* La abundancia de los isótopos radiactivos es despreciable.

En los Capítulos 8, 10 y 11 se exponen las espectroscopias ultravioleta, infrarrojo y RMN, respectivamente.

espectros de masas elucidan moléculas incluidas en las bases de datos *mucho más sencillas*.) Para identificar o analizar moléculas desconocidas más complejas, normalmente tener información de otro tipo de espectros suele resultar muy útil, ya sea un espectro de ultravioleta, de infrarrojo o de resonancia magnética nuclear. Los datos de estequiometría pueden resultar muy útiles, como el tanto por ciento en peso de C, H, S o Cl. Pero pasemos ahora a profundizar en los tres pasos anteriores.

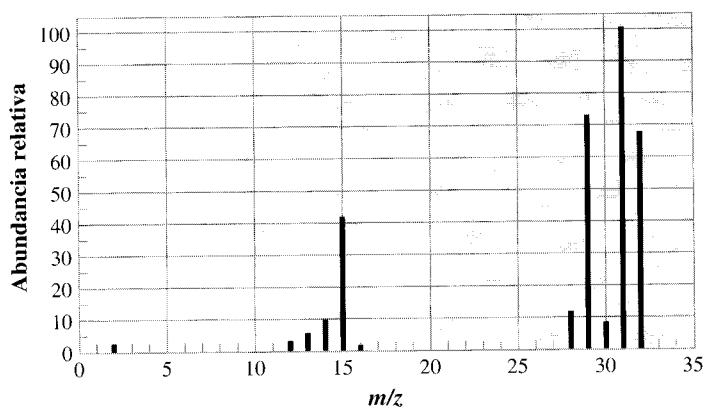
Identificación del ion molecular

Cuando asignamos un ion molecular a un pico, debemos haber determinado la masa molecular de la molécula. Ésta es la parte más importante de la identificación en espectrometría de masas. Sin embargo, la química de los iones en fase gaseosa tiende a complicar las cosas. Se explicarán brevemente a continuación las propiedades de algunos iones moleculares específicos y se verán algunos problemas.

Cabe destacar que para cada elemento de un compuesto orgánico indicado en la Tabla 12.2, el isótopo atómico estable más abundante es el que menor masa tiene. Como resultado, el pico del ion molecular es a menudo el de mayor m/z . El pico más alto se llama **pico base**. Sin embargo, no siempre coincide con el pico molecular, como se podrá ver en los siguientes ejemplos.

En la Figura 12.2a, el pico correspondiente al ion más pesado aparece a m/z 59. De un grupo de picos en esta zona, se ve que el pico base es el de masa 58. Aquí el pico base es también el pico molecular del *n*-butano.

La Figura 12.3 muestra un ejemplo menos claro: el espectro de masas del metanol, CH_3OH . Se espera que el ion molecular tenga una m/z a 32 de $^{12}\text{C}^1\text{H}_3^{16}\text{O}^1\text{H}$. Realmente hay un pico alto a m/z 32. Pero el pico a 31 es más alto. El que m/z sea más



<i>m/z</i>	Abundancia relativa
12	0,33
13	0,72
14	2,4
15	13,0
16	0,21
17	1,0
28	6,3
29	64,0
30	3,8
31	100,0
32	66,0
33	0,98
34	0,14

FIGURA 12.3 ▲
Espectro de masas del metanol.

abundante que m/z 32 es debido a que la molécula pierde un hidrógeno fácilmente. La forma CH_3O^{++} del ion en fase gas tiene un pico base más abundante que el ion molecular.

El método de ionización de la muestra puede, del mismo modo, provocar un cambio de carga en la masa de lo que sería el pico base. Por ejemplo, en la **ionización electrónica** (EI), los iones son producidos por las colisiones de un electrón de la molécula con el rayo de electrones acelerados. Esta interacción en fase gas produce un radical positivo, M^+ . (En la nomenclatura de los espectros de masas, M representa *cualquier* molécula **de partida**. La M mayúscula cursiva simboliza la masa de ion molecular.) Sin embargo, los espectros de masas se pueden obtener mediante la **ionización química** (CI). Las especies iónicas formadas mediante CI son del tipo MH^+ ; un protón se une a la molécula en fase gas. Las especies protonadas se llaman **iones cuasimoleculares**, MH^+ , y tienen una masa de $M + 1$. Esta diferencia entre EI y CI puede verse reflejada en los gráficos de los espectros de masas en las Figuras 12.4b y c. No obstante, la distribución de los isótopos en ambos casos es la misma, y lo comentaremos a continuación.

Estudio de la distribución de los isótopos

La distribución de los isótopos simplemente quiere decir la aparición de sucesivos picos con unas determinadas intensidades relativas. Por ejemplo, los isótopos de $-\text{Cl}$, $-\text{Cl}_2$, $-\text{Cl}_3$ y $-\text{Cl}_4$ que se muestran en la Figura 12.5. La distribución de los isótopos se determina mediante dos propiedades de las moléculas (o fragmentos de ellas):

- Las identidades de los átomos en la moléculas (C, H, N y demás).
- El número de cada uno de ellos.

En el ejemplo de la Figura 12.5 hay dos isótopos (véase Tabla 12.2), ^{35}Cl y ^{37}Cl , para los cuales la relación de abundancias es $^{35}\text{Cl}:^{37}\text{Cl}$ de 100:32,5.

Si obtenemos un espectro de masas de un átomo de cloro aislado (ionizado), aparecería tal y como muestra la Figura 12.5: un pico a m/z 35 con una altura tres veces superior a la altura del pico de m/z 37.

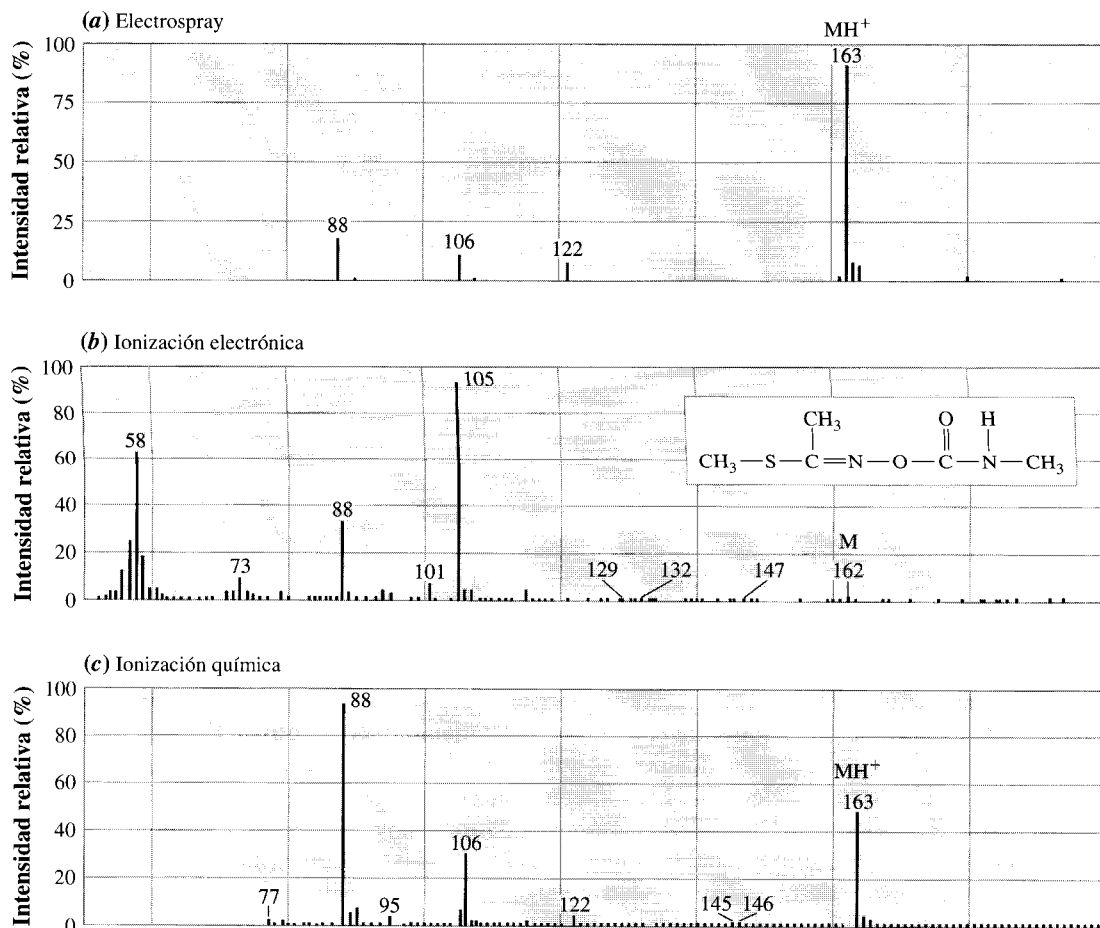


FIGURA 12.4 ▲
Espectro de masas del mismo compuesto con tres tipos diferentes de fuente de ionización y vaporización.

La muestra es el pesticida tipo carbonato Methomyl. Su estructura se indica en (b). El espectro (a) resulta de una fuente de electrospray. El espectro (b) se origina por ionización electrónica y el (c) por ionización química. (Véase la Sección 12.10 para su descripción.) Cabe destacar los diferentes modos de fragmentación. Mediante electrospray e ionización química se producen muchos iones con adición de un protón; así se puede ver m/z 163 en (a) y (c) pero m/z 162 en (b). Todos tienen el pico a m/z 88. ¿De qué fragmento se trata? [Ref.: Pleasance, S., Anacleto, J. F., Bailey, M. R., North, D. H. 1992. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 3:378-379.]

Cuando dos átomos de cloro está en una molécula, tanto si la estructura es rígida como si no, cada isótopo puede aparecer en cualquiera de las posiciones del cloro en la molécula. Por ejemplo, dos moléculas generales que se diferencian por la posición de los isótopos pueden escribirse como: $^{37}\text{Cl}-\text{R}-\text{C}-^{35}\text{Cl}$ y $^{35}\text{Cl}-\text{R}-\text{C}-^{37}\text{Cl}$. Los resultados para tres o cuatro átomos de cloro en la misma molécula son más complejos de explicar. No obstante, el razonamiento se basa en una estadística simple y en la relación isotópica 100:32,5 de dos isótopos.

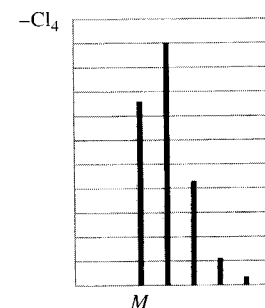
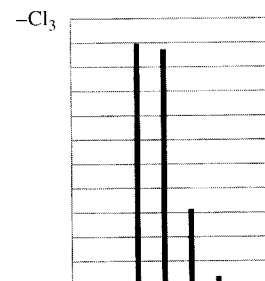
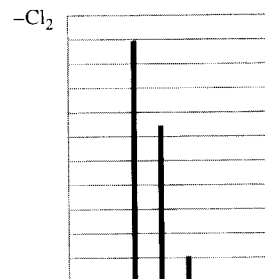
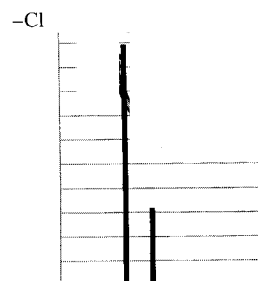
EJEMPLO 12.1

Si $^{35}\text{Cl}:^{37}\text{Cl}$ se encuentran en relación 100:32,5, ¿con qué probabilidad se combinarían cuando hay dos átomos de cloro en una molécula?

Abundancias relativas					
	M	$M + 2$	$M + 4$	$M + 6$	$M + 8$
-Cl	100	32,5			
-Cl ₂	100	65	10,5		
-Cl ₃	100	98	32	3,4	
-Cl ₄	77	100,0	44	10,5	0,9

▲ FIGURA 12.5 ►
Histograma y listado de la distribución de los isótopos para moléculas con uno, dos, tres o cuatro cloros.

La Tabla 12.3 indica el origen de la abundancia de los isótopos. El pico más alto de cada uno está en escala a 100.



Solución:

Es un cálculo de probabilidades. La probabilidad de que cada isótopo ocupe una posición específica en la molécula es distinta ya que es tres veces más probable que el ³⁵Cl esté presente que el ³⁷Cl.

Para ser más exactos: de los átomos de cloro encontrados, 75,77% son de ³⁵Cl, y 24,23% de ³⁷Cl. Nos formulamos la siguiente pregunta: ¿con qué probabilidad se combinarían cuando hay dos átomos de cloro en una molécula? Sabiendo que la probabilidad de encontrar dos cloros iguales es el producto de las probabilidades de encontrar cada uno presente, calculamos¹:

$$\begin{array}{ll}
 {}^{35}\text{Cl}{}^{35}\text{Cl} & {}^{35}\text{Cl}{}^{37}\text{Cl} \\
 0,758 \times 0,758 = 0,57 & 0,758 \times 0,242 = 0,18 \\
 \\
 {}^{37}\text{Cl}{}^{35}\text{Cl} & {}^{37}\text{Cl}{}^{37}\text{Cl} \\
 0,242 \times 0,758 = 0,18 & 0,242 \times 0,242 = 0,059
 \end{array}$$

Estos productos matemáticos necesitan unas modificaciones para aplicarse a un experimento. Primero, sabemos que dos de las fórmulas de isótopos tiene la misma masa: ³⁷Cl—R—C—³⁵Cl y ³⁵Cl—R—C—³⁷Cl. Segundo, necesitamos adecuar nuestras probabilidades a una escala sobre 100 para la especie más probable. Este simple ajuste de escala se lleva a cabo dando el valor de 100 a la especie más probable, que en este caso es ³⁵Cl³⁵Cl. Sumando las probabilidades y ajustando la escala a 100, obtenemos las siguientes abundancias relativas.

Masa del pico	M	$M + 2$	$M + 4$
Número de distintos isótopos × altura relativa del pico	1×100	2×32	1×10
Abundancia relativa (pico base de 100)	100	64	10

Los tres picos con una relación entre ellos de 100:64:10 son para M , $M + 2$ y $M + 4$, respectivamente.

¹ Para familiarizarnos con la teoría de probabilidad, partimos del hecho de que el total de todas las probabilidades es la unidad. Si utilizamos un número suficiente de cifras significativas, $0,5741 + 0,1836 + 0,1836 + 0,0587 = 1,0000$.

Tabla 12.3. Posibles composiciones para isótopos de cloro en una molécula^a

—Cl ₂	³⁵ Cl ³⁵ Cl	³⁵ Cl ³⁷ Cl	³⁷ Cl ³⁷ Cl		
Masa	<i>M</i>	<i>M</i> + 2	<i>M</i> + 4		
N.º de isómeros	1	2	1		
—Cl ₃	³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁵ Cl	³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁷ Cl	³⁵ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl	³⁷ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl	
Masa	<i>M</i>	<i>M</i> + 2	<i>M</i> + 4	<i>M</i> + 6	
N.º de isómeros	1	3	3	1	
—Cl ₄	³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁵ Cl	³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁷ Cl	³⁵ Cl ³⁵ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl	³⁵ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl	³⁷ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl ³⁷ Cl
Masa	<i>M</i>	<i>M</i> + 2	<i>M</i> + 4	<i>M</i> + 6	<i>M</i> + 8
N.º de isómeros	1	4	6	4	1

^a Se puede apreciar que estas multiplicidades (el número de isómeros) para cada composición son los coeficientes de los términos $(x + y)^n$, donde *n* es igual al número de cloros. Corresponden a los coeficientes del triángulo de Pascal.

La Tabla en el Ejemplo 12.1 muestra la regla general para estos cálculos:

La abundancia relativa de cada pico se halla multiplicando la probabilidad relativa de cada isómero de isótopo con masa determinada por el número de veces que los distintos isómeros tienen esa masa.

La Tabla 12.3 muestra la distribución de los isómeros de isótopos de cloro para una molécula de cuatro cloros. Los cálculos de las distribuciones de los isótopos se van complicando rápidamente a medida que la molécula o el fragmento va incrementando el número de átomos con dos o más isótopos.

Es interesante apreciar un efecto particular en la Figura 12.5. Obsérvense las distribuciones para una molécula que contiene cuatro cloros. Diferente a otras distribuciones, el ion molecular, que es el pico más bajo (el de menor masa), no tiene la abundancia relativa más elevada. Este resultado aparece de las probabilidades expuestas anteriormente.

Exposición de la secuencia de fragmentación

Como se puede observar en un espectro de masas, hay numerosos picos de *m/z* menor que la del pico molecular. Estos picos aparecen porque algunas moléculas se rompen en fragmentos. El conjunto de fragmentos que aparecen y sus abundancias relativas se denominan *secuencia de fragmentación*. Esta secuencia depende de la naturaleza (y química) de la molécula de partida y de las técnicas que se han utilizado para la evaporación e ionización de la muestra. Dichas diferencias pueden apreciarse en la Figura 12.4. Nótese la pequeña fragmentación que se produce en un espectro de masas con fuente de ionización por electrospray. Nótese también que, aparte de la cantidad de fuentes de ionización que se pueden utilizar, la mayoría de los picos que aparecen son los mismos para los tres espectros.

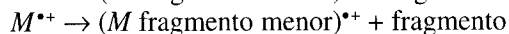
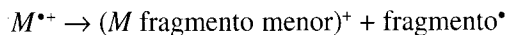
De hecho, habiendo una química descriptiva del comportamiento de los compuestos orgánicos en fase gaseosa estudiada en profundidad, los especialistas pueden identificar partes de la estructura de moléculas desconocidas partir de un único espectro de masas. Esta habilidad, lejos de llegar a expertos, es la que se necesita ahora. Sin embargo, a un nivel elemental, la información estructural se puede obtener a partir de las fragmentaciones (en unidades de masa) de los picos de la secuencia de fragmentación. Se pueden identificar las masas de algunos **fragmentos neutros** comunes a partir del ion molecular. El nombre de *fragmentos neutros* sólo indica la ausencia de carga eléctrica.

Tabla 12.4. Fragmentos neutros perdidos más comunes por iones en fase gaseosa

Pérdida de m/z	Fórmula	Fragmentos
1	H	H lábil, aldehídos
15	CH ₃	Favorecidos por posición en una ramificación
16	O	Sulfóxidos, compuestos nitrogenados
16	NH ₂	Amidas, aminas aromáticas
17	OH	Ácidos, óxidos
18	H ₂ O	Alcoholes primarios, aldehídos, cetonas y éteres
19	F	Fluoroalcanos
26	CN	Alquilianuros
27	HCN	Cianuros, aril-NH ₂
28	C ₂ H ₄	Alcanos, etilésteres
28	CO	Carbonilos aromáticos, fenoles
29	CHO	Alcoholes
29	C ₂ H ₅	Favorecidos por posición en una ramificación y etilésteres
30	NO	Compuestos nitrogenados aromáticos
30	CH ₂ O	Compuestos metoxy aromáticos
31	CH ₃ O	Ésteres metílicos
32	S	Sulfuros, tioles aromáticos
34	H ₂ S	Tioles
35, 37	Cl	Cloros lábiles
41	C ₃ H ₅	Propilésteres, propilaminas
42	CH ₃ CO	Acetatos metílicos
43	C ₃ H ₇	Grupos propilos
45	OC ₂ H ₅	Ésteres etílicos
46	NO ₂	Grupos nitrogenados aromáticos
79, 81	Br	Alquilbromuros
127	I	Alquilyoduros

Las pérdidas de masa de 4 a 14, de 21 a 23, 33, 37 y 38 son diferentes. Además de los fragmentos indicados antes, existen otros muchos. Estos fragmentos se diferencian por un adicional C_nH_{2n}; con masas de 14, 28, 42 y algunos más.

Los fragmentos neutros se originan a partir del **ion de partida** que puede o no ser el ion molecular. El *ion de partida* es un término para un ion que se fragmenta. Para un fragmento de una sola carga, la fragmentación puede generar un fragmento neutro y un ion de masa más pequeña. Los dos tipos de fragmentación sencilla son:



Las frases entre paréntesis indican que el ion es de menor masa del que parten; la diferencia es la masa del fragmento perdido. La Tabla 12.4 incluye algunos de los fragmentos neutros que se pierden normalmente en los compuestos orgánicos. Identifiquemos algunos en el ejemplo de *n*-butano y de metanol (Figura 12.3).

EJEMPLO 12.2

Para el ejemplo del *n*-butano hemos identificado el ion molecular como m/z 58. ¿Qué fragmentos se han perdido para dar picos tan importantes como el 43 y 29?

Solución:

Los fragmentos han perdido masa de 15 y 29 respectivamente. Reconocemos estas pérdidas como CH_3^\bullet y $\text{C}_2\text{H}_5^\bullet$. Las masas que quedan, 43 y 29, son consistentes con C_3H_7^+ y C_2H_5^+ . Las masas 28 y 27 corresponden a $\text{C}_2\text{H}_4^{+\bullet}$ y C_2H_3^+ .

EJEMPLO 12.3

Como se ha indicado anteriormente, para el metanol las pérdidas neutras de un protón extremadamente lábil del alcohol provocan un pico de m/z 31 que es más alto que el ion molecular. ¿A qué fragmento corresponde el pico de masa 15?

Solución:

La masa de 15 es de CH_3^+ y resulta de la pérdida de O^\bullet . Si pensamos que m/z 31 es el ion molecular, la fórmula correspondiente sería CH_3O , que no es un compuesto estable. La secuencia de fragmentación nos permite asignar correctamente el pico molecular.

12.4. Poder de resolución del espectro de masas y la resolución del espectro

Un concepto adecuado para describir la versatilidad experimental de la espectrometría de masas es el **poder de resolución**. Para la espectrometría de masas,

$$\text{Poder de resolución} = \frac{M}{\Delta M} \quad (12-1)$$

Las definiciones de poder de resolución y de resolución en espectrometría de masas son iguales que las de espectroscopia óptica. Véase la Sección 8.4.

En la ecuación, ΔM es la diferencia entre las masas de dos especies (la **resolución**, que se muestra en la Figura 12.6) y M es la masa de la especie más ligera. Con esta definición del poder de resolución, un valor elevado significa que es posible resolver pequeñas diferencias de masas. Pero esta definición no es suficiente para definir la calidad de la separación. ¿Por qué no? La respuesta es que no se especifica la anchura experimental

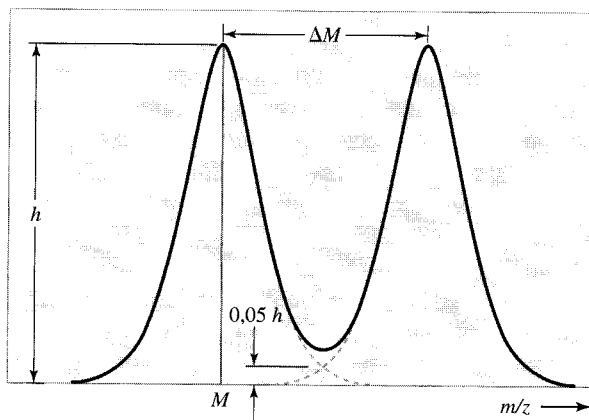


FIGURA 12.6 ▲
Explicación de la definición de resolución en espectrometría de masas.

La resolución se define experimentalmente como ΔM cuando dos picos experimentales idénticos se solapan un 5% de su altura, produciendo un separación de 90% entre los picos. Los resultados pueden darse con picos diferentes solapados. El término *resolución* se refiere a la separación entre dos picos del espectro, y el término *poder de resolución* se refiere al instrumento.

Tabla 12.5. Características de los espectrómetros comerciales

Tipo	Límites de m/z	Poder de resolución
Doble enfoque	2–5000	20000–100000
Enfoque simple	1–1400	1500
Tiempo de vuelo (Reflecton)	1–10000	10000–20000
Cuadrupolo	1–1000	1000
Trampa de iones	10–650*	~500
Transformada de Fourier	18–100000†	mayor de 10^6

* Los instrumentos de investigación pueden ser 10–5000.

† Las masas a 1 se pueden medir, pero las frecuencias son elevadas y no es muy corriente su utilización.

‡ Depende del tiempo empleado en la acumulación de los datos y el intervalo de masas barrido.

de los picos individuales. Esa información debe incluirse. Por ejemplo, el poder de resolución puede ser expresado como *poder de resolución xxx con un 90% de separación*. Esto significa que los picos se representan como en la Figura 12.6; la separación es de un 90% de la altura de dos picos iguales. Sin embargo, es bastante común que la información obtenida se presente con cierta ambigüedad. Para conocer por completo la versatilidad de un instrumento se debe conocer el poder de resolución. Cuando se utiliza el instrumento, para obtener una medida correcta se usa **la resolución**. La resolución tiene unidades tales como la **unidad unificada de masa atómica** (u). Estos dos conceptos de las características de espectrómetro se distinguen en el ejemplo siguiente.

EJEMPLO 12.4

Calcúlese el poder de resolución necesario para distinguir $(^{14}\text{N})_2$ del $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ en una mezcla de gases.

Solución:

La resolución necesaria para distinguir los picos de $(^{14}\text{N})_2$ y de $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ es 0,0057 u . Si la especie más ligera tiene una masa de 27,99, se necesita un instrumento con

$$\text{Poder de resolución} = \frac{27,99}{0,0057} = 4900$$

Véase que el número calculado no dice nada del porcentaje de separación entre dos picos experimentales de igual altura en un espectro de masas.

El poder de resolución de un espectrómetro de masas está en función de su diseño y la calidad de sus componentes. Normalmente, a mejor poder de resolución, mayor precio. En la Tabla 12.5 se indican los nombres de algunos tipos de espectrómetro de masas y el poder de resolución de cada uno.

12.5. Determinación de masas exactas y fórmulas moleculares

El espectro de masas mostrado en este capítulo incluye los picos una vez caracterizados por masas de, por ejemplo, 48 ó 70. De hecho, puede haber dos o más sin resolver, pose-

yendo distintas moléculas un mismo pico. Un caso sencillo es el del Ejemplo 12.4, (^{14}N)₂ y $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$; ambos aparecen a una masa de 28, su masa de origen. Pero masas idénticas de átomos no dan los mismos resultados. Algunos isótopos de masas iguales se recogen en la Tabla 12.6. A partir de estos isótopos de masas iguales, se pueden calcular con mayor exactitud masas del (^{14}N)₂ y el $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$, que son de 28,00061 y 27,99491 u.

Por tanto, si una medida de masa molecular se realiza de forma exacta, podríamos determinar su fórmula molecular a partir de la masa molecular. Esta es la base de un espectrómetro de masas de alta resolución. Experimentalmente, se debería utilizar un instrumento de alta calidad.

Tabla 12.6. Masas atómicas exactas*

Isótopo	Masa atómica	Isótopo	Masa atómica
^1H	1,00782522	^{19}F	18,9984046
^2H	2,01410222	^{28}Si	27,9769286
^{12}C	12,00000000	^{31}P	30,9737633
^{13}C	13,00335508	^{32}S	31,9720728
^{14}N	14,00307440	^{35}Cl	34,96885359
^{16}O	15,99491502	^{79}Br	78,9183320
^{18}O	17,99915996	^{127}I	126,9044755

*Los superíndices son las masas nominales.

Tabla 12.7. Iones moleculares con masas exactas entre 203,000 y 203,2000 (limitado a moléculas que contengan C, H, y menos de cuatro N y cuatro O)

(Masa 203,000)	Fórmula empírica	(Masa 203,000)	Fórmula empírica
0,0007	$\text{C}_{13}\text{HNO}_2$	0,1032	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$
0,0093	$\text{C}_9\text{H}_3\text{N}_2\text{O}_4$	0,1060	$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$
0,0120	$\text{C}_7\text{HN}_3\text{O}$	0,1072	$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_2$
0,0133	$\text{C}_{14}\text{H}_3\text{O}_2$	0,1158	$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_4$
0,0218	$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{NO}_4$	0,1185	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$
0,0246	$\text{C}_{13}\text{H}_3\text{N}_3\text{O}$	0,1271	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$
0,0331	$\text{C}_9\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_3$	0,1284	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_4$
0,0344	$\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_4$	0,1298	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_4$
0,0359	$\text{C}_{12}\text{H}_3\text{N}_4$	0,1311	$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}$
0,0371	$\text{C}_{14}\text{H}_5\text{NO}$	0,1396	$\text{C}_9\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$
0,0457	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_3$	0,1424	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3$
0,0484	$\text{C}_{13}\text{H}_5\text{N}_3$	0,1436	$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}$
0,0497	$\text{C}_{15}\text{H}_7\text{O}$	0,1509	$\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_2$
0,0570	$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_4\text{O}_2$	0,1522	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NO}_3$
0,0583	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_3$	0,1549	$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_2$
0,0610	$\text{C}_{14}\text{H}_7\text{N}_2$	0,1635	$\text{C}_9\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$
0,0695	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	0,1648	$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{O}_3$
0,0708	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3$	0,1675	$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}$
0,0736	$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}$	0,1761	$\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_2$
0,0821	$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$	0,1801	$\text{C}_{15}\text{H}_{23}$
0,0861	$\text{C}_{16}\text{H}_{11}$	0,1873	$\text{C}_9\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}$
0,0934	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}$	0,1886	$\text{C}_{11}\text{H}_{25}\text{NO}_2$
0,0947	$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_2$	0,1999	$\text{C}_{10}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$

Datos ofrecidos por: Benyon, J. H. 1960. *Mass Spectrometry and Its Applications to Organic Chemistry*. Amsterdam: Elsevier.

EJEMPLO 12.5

Una molécula tiene una masa molecular exacta de 203,1522. Si la molécula sólo contiene C, H, N y/u O, ¿cuál es su fórmula?

Solución:

Mirando en Tablas como la Tabla 12.7, podemos encontrar que la fórmula es $C_{10}H_{21}NO_3$. La molécula más parecida es *n*-decilnitrato. Pero el peso molecular que se recoge en los manuales es de 203,28. La diferencia se debe a la distribución de los isótopos en la naturaleza: La masa molecular exacta corresponde a las especies puras isotópicamente $[^{12}C]_{10}[^1H]_{21}^{14}N[^{16}O_3]$.

12.6. Espectrometría secuencial de masas: MS/MS

Con un equipo adecuado, una de las especies iónicas que se separa de las demás puede fragmentarse y estos fragmentos se conducen a otro espectrómetro de masas para su análisis. (Véase Figura 12.7.) En otras palabras, un segundo espectrómetro de masas se enciende después de que el ion original lleve sus fragmentos para que se identifique. Esta espectrometría secuencial de masas es un método de análisis muy útil llamado **espectrometría de masas en tandem**. *Cualquier* ion seleccionado en el primer analizador de masas se llama **ion progenitor**. Esta nomenclatura es algo confusa para espectrometría de masas de estados-sencillos de un solo ion. (Previamente, se les ha llamado **iones hijos**.) La espectrometría de masas en tandem se usa para elucidar estructuras de iones de partida complicados y determinar componentes de una mezcla de unas pocas especies.

Probablemente el esquema más claro para visualizar los instrumentos de MS/MS es el mostrado en la Figura 12.7. Una vez ionizada la muestra en la fuente de ionización, se selecciona por MS1 una masa determinada y se pasa a través de una apertura hasta la **cámara de colisiones**. En la cámara de colisiones, los iones colisionan con los átomos del gas que se introduce intencionadamente para romper los iones en fragmentos neutros y en otros iones. Los iones que salen de la cámara de colisiones son

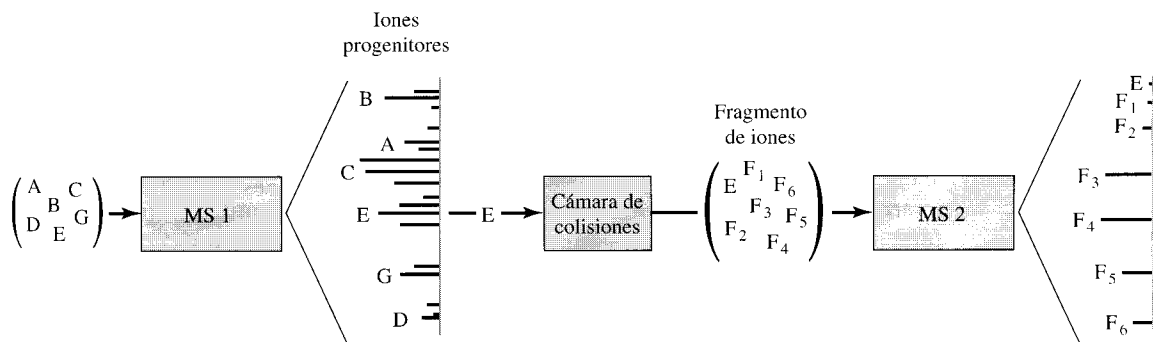


FIGURA 12.7 ▲
Descripción del funcionamiento de un sistema de MS/MS.

La muestra mezcla de masas moleculares $B > A > C > E > G > D$ se puede separar, pero con los iones progenitores y sus fragmentos solapados. El primer separador de masas está preparado para seleccionar un ion progenitor, que se introduce en la cámara de colisiones donde se produce la fragmentación mediante colisiones con un gas como el argón o el helio. Por ejemplo, supongamos que se selecciona el E. Los iones que ahora tenemos son iones progenitores sin fragmentar junto con los fragmentos F_1 - F_6 . Éstos se introducen en un segundo separador de masas, el cual lleva a cabo el espectro de masas de E y de sus fragmentos producidos.

analizados por el segundo espectrómetro de masas, MS2. Esta fragmentación se llama **disociación activada por colisiones (CAD)** o **disociación inducida por colisiones (CID)**.

Cabe la posibilidad de operar de otros dos modos teniendo estos dos analizadores de masas. Para el primero de ellos, MS2 puede utilizarse para monitorizar la masa de un ion producto en particular mientras MS1 barre todo el intervalo de m/z . La señal de salida muestra todos los iones progenitores que se han fragmentado en un ion producto específico. El efecto es, esencialmente, el análisis de grupos estructurales.

El segundo modo es barrer un determinado fragmento neutro. Designamos como fragmento neutro a M_{nl} en la siguiente ecuación de conservación de la carga y la masa.



Los tipos de analizadores de masas mencionados ahora se explicarán en la Sección 12.11.

Ambos analizadores de masas barren a la misma velocidad, pero sus masas están centradas en M_{nl} . Este modo detecta la pérdida de un determinado grupo estructural.

Se ha adoptado una nomenclatura abreviada para indicar las diferentes configuraciones de los instrumentos de MS/MS. Las abreviaturas son Q para un analizador de masas de cuadrupolo, B para un sector magnético, y E para un sector electrostático. El sector electrostático no separa por masa, sino por energía. Está siempre asociado a un sector magnético y posee un poder de resolución mayor. Como ejemplo del uso de las abreviaturas, un instrumento puede describirse como un BEQ cuando emplea un selector electro-magnético de alta resolución en MS1, con un analizador de cuadrupolo en MS2. Una parte que resulta confusa de la nomenclatura MS/MS es la referente a los selectores cuadrupolares. Un *triple* cuadrupolo, escrito como QQQ, es normalmente un aparato de MS/MS. Un doble cuadrupolar no es selectivo másicamente, pero ayuda al traslado de los iones a la cámara de colisiones. Todos los instrumentos de masas anteriores se clasifican como instrumentos de **transmisión** de MS/MS.

MS/MS también se aplica a instrumentos que pueden medir m/z de los iones que se mantienen dentro de ellos. De forma colectiva, se los denomina **espectrómetros de masas de trampa de iones**. Tanto los **espectrómetros de masas de trampa de iones** como **espectrómetros de masas con transformada de Fourier** son espectrómetros de trampa de iones que pueden trabajar en modo MS/MS.

Una mayor extensión de espectrometría de masas en tándem se aplica a ampliar el número de cámaras de colisiones y el número de filtros selectores de masa. Para los instrumentos de transmisión, se incrementa el hardware, pero no suele hacerse. Sin embargo, para los instrumentos de trampa de iones, se añaden pasos intermedios como clave en los programas de potenciales dependientes del tiempo que se usan para mantener y mover iones. De esta manera, un fragmento puede aislarse, y fragmentarse, y volver a aislarse, y así llevar a cabo numerosos análisis (MS)ⁿ, donde n es el número de pasos intermedios. Las propiedades de estos experimentos y su versatilidad son motivo de profundas investigaciones.

12.7. Espectrometría de masas/separaciones

Como se puede apreciar, una de las aplicaciones más importantes de la espectrometría de masas es la capacidad de identificar especies moleculares y atómicas. Sin embargo, cuando surge el mayor problema es a la hora de introducir una mezcla en la fuente de ionización. Por otro lado, la cromatografía y los métodos de electroseparación poseen una capacidad importante para separar mezclas en sus componentes individuales. No obstante, estos métodos flaquean a la hora de la identificación de los componentes

separados. Por tanto, la complementariedad de estos métodos de espectroscopia y de separación hace que el uso de la espectrometría de masas para detectar e identificar los componentes ya separados de una mezcla constituya, probablemente, el método más importante entre los métodos de análisis. Los tipos incluyen cromatografía de gases (GC/MS), cromatografía de líquidos (LC/MS) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC/MS). También se puede utilizar como detector de la electroforesis capilar (CE/MS o CZE/MS).

Un ejemplo sencillo de GC/MS es el que aparece en la Figura 12.8. Mientras el espectrómetro de masas adquiere y acumula el espectro de masas del efluente, se lleva a cabo la separación de cromatografía. Se muestran dos presentaciones diferentes.

Con el objeto de mostrar todos los componentes eluidos durante la separación, se representa **un cromatograma de ion total (TIC)**. La amplitud del TIC es la suma de las respuestas del detector a todos los iones que pasan durante ese tiempo. Alternativamente, se representan cromatogramas de determinadas masas de los iones. Esto muestra la elu-

Métodos Cromatográficos, Capítulos 13-15. Electroseparación, Capítulo 16.

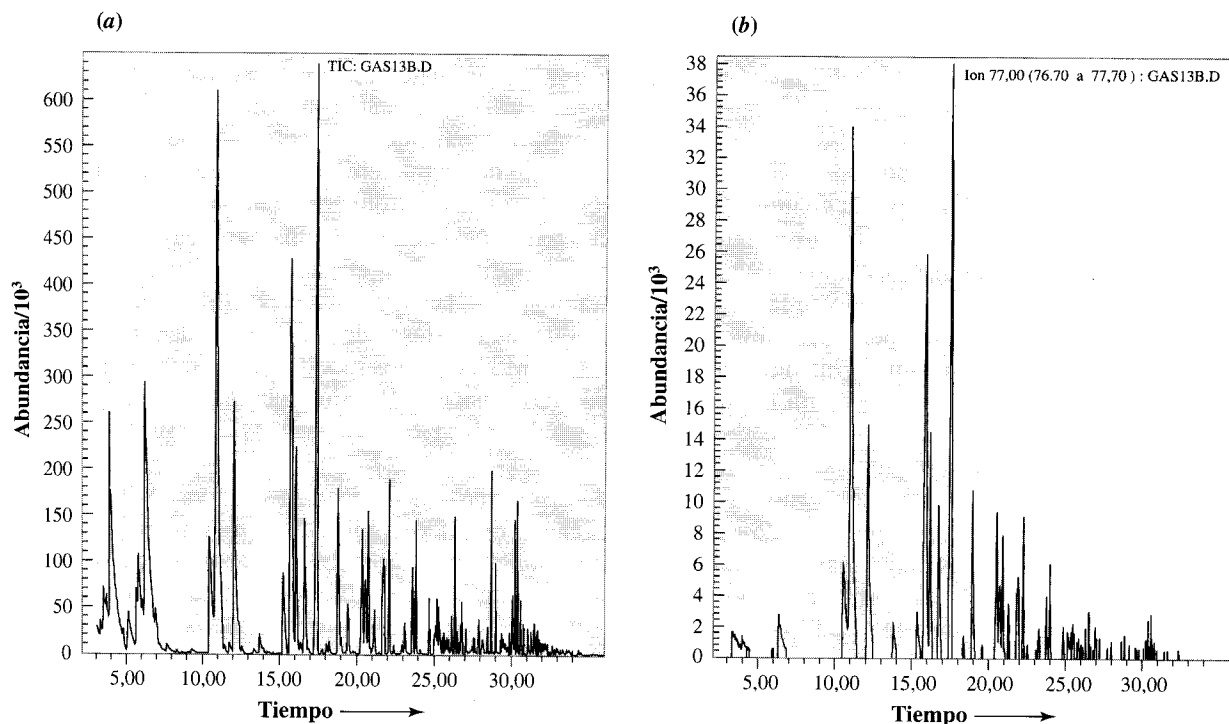


FIGURA 12.8 ▲

Ilustración de (a) un cromatograma de un ion completo y (b) un cromatograma de un ion extraído.

Cuando se utiliza un espectrómetro de masas como detector cromatográfico, muchos de los instrumentos permiten la opción de barrer un intervalo de masas en tiempo real o monitorizar un determinado ion. Si se escanea un intervalo, y se presenta la respuesta total frente al tiempo, se obtiene un cromatograma completo de todos los iones. Si se monitoriza un determinado ion, sólo aparecerán sus picos en el cromatograma. Se presentan aquí dos cromatogramas de un muestra de gasolina sin plomo, diluida 1 a 1000 con pentano. Como un gran número de sus componentes son sustituidos por bencenos, viendo el dato obtenido a $M = 77$, se hace posible la separación con un cromatograma de ion extraído en (b).

Véase que en ambos cromatogramas el eje del tiempo empieza a 3 minutos. El detector se apaga para no saturar la señal con el disolvente. Esta práctica usual se llama **tiempo de espera del disolvente (solvent delay)**.

Condiciones experimentales: Inyección de 1 μL , relación de split 18:1; 30 m \times 0,25 mm HP-1; portador de helio a 0,5 mL/min. Temperatura de inyección: 200 $^{\circ}\text{C}$; temperatura del detector: 280 $^{\circ}\text{C}$. Programa de temperaturas de la columna: rampa desde 35 a 100 $^{\circ}\text{C}$ a 3,2 $^{\circ}$ /min, se mantiene a 100 $^{\circ}\text{C}$ por 0,5 min, entonces se produce una rampa desde 100 hasta 265 $^{\circ}\text{C}$ a 18,5 $^{\circ}$ /min y se mantiene por 2 minutos. [Cortesía de Dionex Corp.]

ción de fragmentos de masa determinadas, a menudo de grupos específicos. A estos cromatogramas se les llama **cromatogramas de iones reconstruidos** o **cromatogramas de iones extraídos**. Véase la Figura 12.8b.

Para obtener un cromatograma de ion completo, se debe barrer el intervalo de masas repetidas veces mientras se produce la separación. Sin embargo, en vez de barrer el intervalo de m/z , el espectrómetro de masas sólo se debe utilizar para registrar la magnitud de una masa sencilla. Esto se denomina *monitorización de un ion sencillo*. La monitorización de un ion sencillo tiene dos aplicaciones fundamentales. Primera, un bajo límite de detección por monitorizar una masa solamente, simplemente porque la señal se ha recogido en un amplio intervalo de tiempo. No obstante, la monitorización de un ion sencillo también puede utilizarse para simplificar la señal de salida. Por ejemplo, el sistema puede aplicarse para monitorizar masa 77 ($C_6H_5^+$) para encontrar sustituyentes aromáticos en un cromatograma extremadamente complicado que puede tener interferencias cromatográficas.

Debido al elevado volumen de muestra, el efluente de fase gaseosa, líquida y fluido supercrítico de las columnas cromatográficas, no se puede introducir directamente al inyector de un espectrómetro de masas. Exceptuando la CG capilar con caudales bajos de eluyente, las **interfases** entre la columna cromatográfica y el espectrómetro de masas son necesarias. La misión de las interfases es eliminar lo máximo posible la matriz o medio (en otras palabras, la fase móvil) manteniendo tanto como se pueda los analitos. Dicha tarea no es fácil, y, en general, sólo desde uno en 10^3 hasta uno en 10^6 de analito eluido por la columna cromatográfica pasa al espectrómetro de masas.

El concepto de interfase es para todas las columnas cromatográficas el mismo. Sin embargo, como se puede esperar, es más fácil eliminar el exceso de gas portador que eliminar líquido de la fase móvil. Para dicho fin, las interfases de LC/MS tienden a alcanzar temperaturas elevadas mientras que las interfases de GC/MS tienden a evaporar el disolvente. Una limitación más para LC/MS es que los modificadores o tampones deben ser volátiles para minimizar las interferencias en MS. Sin embargo, LC/MS se utiliza ampliamente y más desde que CL puede aplicarse a separar más compuestos que CG, que requiere sustancias volátiles.

Se han llegado a inventar algunas interfases de lo más curiosas. Sólo vamos a explicar aquí dos de ellas: **un separador de jet** y una **interfase de haz de partículas**. Los diagramas esquemáticos se muestran en la Figura 12.9. El separador actúa porque el gas portador de moléculas, normalmente helio, se difunde en una zona de presión reducida más rápidamente que las moléculas de un analito con masas elevadas.

Como se muestra en la Figura 12.9a, el flujo de efluente de una CG pasa a través de un orificio y entonces atraviesa una estrecha sección de evacuación para ser introducido a otro orificio. Se producen tres efectos en este tránsito: (1) parte del gas portador es eliminado; entonces (2) el efluente se enriquece con las moléculas de la muestra; pero (3) parte de la muestra se pierde. Para mejorar los resultados, el efluente se pasa a través de otros dos pasos antes de alcanzar la fuente de ionización, como se muestra en la Figura 12.9. El resultado del proceso completo es que una amplia fracción del gas portador es eliminado, pero el flujo de efluente enriquecido no contiene toda la muestra. Además, la muestra se mueve lentamente hasta alcanzar el espectrómetro de masas.

A las partes importantes de la interfase se les ha dado un nombre, dentro de la figura, para facilitar la explicación. La cantidad relativa de gas portador perdido comparado con la cantidad relativa de muestra perdida se llama **factor de enriquecimiento**. El porcentaje total de la muestra que llega al espectrómetro de masas es la **eficiencia de separación**, y el tiempo de retardo se denomina **lapso de tiempo**. Estos tres paráme-

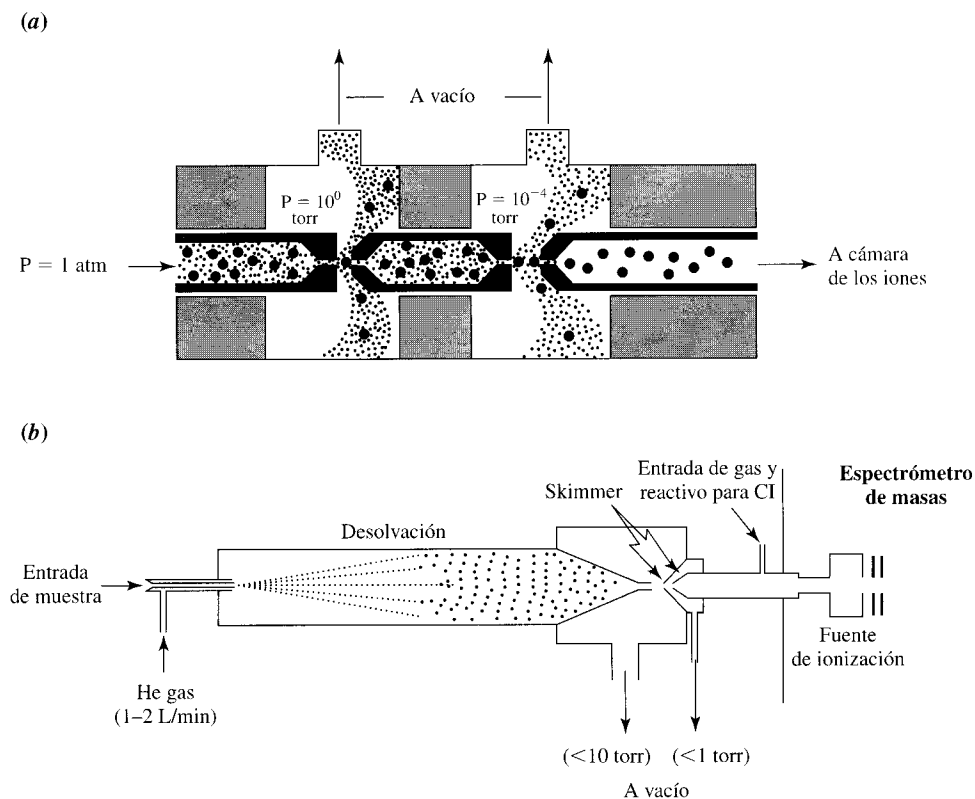


FIGURA 12.9 ▲
Interfases cromatografía/MS.

(a) Diagrama de un separador jet utilizado como interfase de GC/MS. El enriquecimiento depende de la presión del gas portador, del flujo del portador, y de la velocidad de expansión del vacío en ambos sistemas. La eficiencia del separador (equivalente a la recuperación en tanto por ciento) puede variar desde un 20% hacia abajo. Debido a que el enriquecimiento y la eficiencia de cada componente puede variar, se necesitan estándares para su cuantificación. (b) Una interfase LC/MS llamada interfase de haz de partículas. El efluente es propulsado con flujo de helio en un evaporador caliente. Los analitos son liberados fragmentados del disolvente; el resto de la interfase es similar a la de GC/MS en (a). [Ref.: (a) Ryhage, R. 1966. *Arkiv. Kemi.* 26, 305. (b) Cortesía de Hewlett-Packard.]

tros se utilizan para caracterizar las prestaciones de las interfases de GC/MS y LC/MS. La eficiencia de separación, como indicamos anteriormente, pertenece a un intervalo entre 10^{-3} y 10^{-6} .

La interfase de haz de partículas tiene un flujo de helio que rodea el efluente de un cromatógrafo de líquidos. Esto nebuliza el flujo del efluente, y el disolvente entonces es evaporado en una cámara de calor. A esto le sigue una interfase similar a un separador jet con diferentes expansiones y skimmers en el mecanismo del espectrómetro.

Una vez que el analito se encuentra dentro del espectrómetro, el intervalo determinado de m/z se debe barrer lo suficientemente rápido para obtener frecuencias para todo el intervalo de las masas. Por ejemplo, si un pico de GC eluye a 2 segundos, es preferible un espectrómetro que necesite un minuto para obtener un espectro. Normalmente, los instrumentos actuales de varios diseños son capaces de barrer un intervalo de masas 10-1.000 en 100 ms o en menos tiempo. Todos los espectrómetros de masas se describen en la Sección 12.11, pero sólo el espectrómetro de masas que tiene el campo magnético más amplio es el que se utiliza con cromatógrafos.

Resumiendo, hay que considerar el problema de la cantidad de información que se debe manejar para la cromatografía con un analizador de masas. Supongamos que después de la optimización de la separación por GC, se puede inyectar una muestra nueva cada 30 minutos. Desde que se instaló un inyector automático, GC puede funcionar durante las 24 horas del día. El espectrómetro funciona de continuo, recogiendo cada espectro de masas, digamos, cada 100 ms y acumulando magnitudes de masas desde 50 a 500 daltons en cada barrido. Esto es, se obtienen 451 puntos en cada espectro cada 100 ms a lo largo de todo el día. El instrumento produce

$$24 \text{ h} \times 3600 \text{ s h}^{-1} \times 10 \text{ espectro s}^{-1} \times 451 \text{ puntos en cada espectro}^{-1} \\ = 3,9 \times 10^8 \text{ puntos de datos}$$

En un byte por punto, esto es 390 Mbytes d⁻¹. Se necesita un sistema de computadoras para grabar y analizar esta avalancha de información de los instrumentos de GC/MS.

12.8. Espectrometría de masas de masas elevadas

Los métodos de evaporación/ionización para moléculas de masas mayores que 10,000 daltons incluyen **bombardero de átomos acelerados (FAB)**, **ionización por electrospray (ESI)**, **ionización por desorción de la matriz asistido por láser (MALDI)**, y **desorción de plasma (PD)**. La introducción de ionización por electrospray ha extendido la espectrometría de masas hacia el análisis de moléculas de pesos moleculares mayores de 100000 en los instrumentos actuales. ESI tiene la ventaja sobre otros métodos de que genera iones multicarga, que producen moléculas pesadas de *m/z* entre 500 y 2000. La unidad de resolución de las masas de partida no se aprecia. La limitación es, entonces, que estas moléculas grandes puedan permanecer intactas en la fase gaseosa. Véase en la Figura 12.10, un ESI-MS de un polímero biológico, la proteína citocromo *c*.

La Figura 12.11 muestra un ejemplo de un espectro de MALDI en que las moléculas de analito, junto con una matriz sólida específica que las contiene, se evaporan mediante un pulso de láser calentando la mezcla. Un espectro de MALDI se puede apli-

Estas cuatro fuentes iónicas se describen en la Sección 12.10.

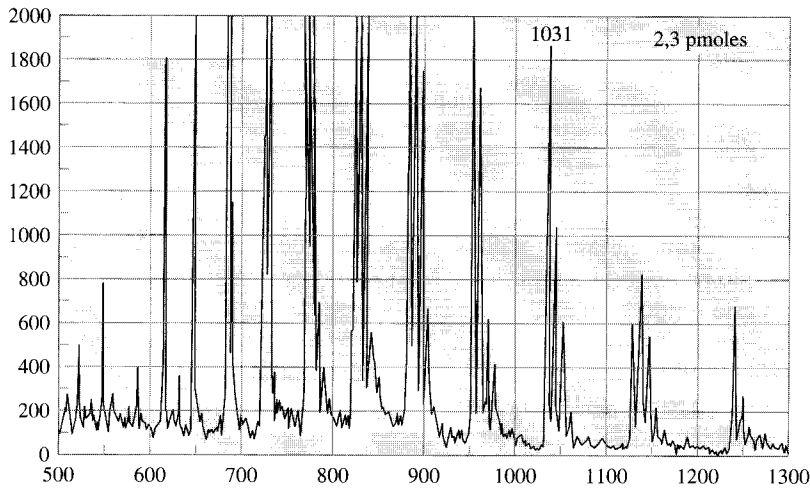
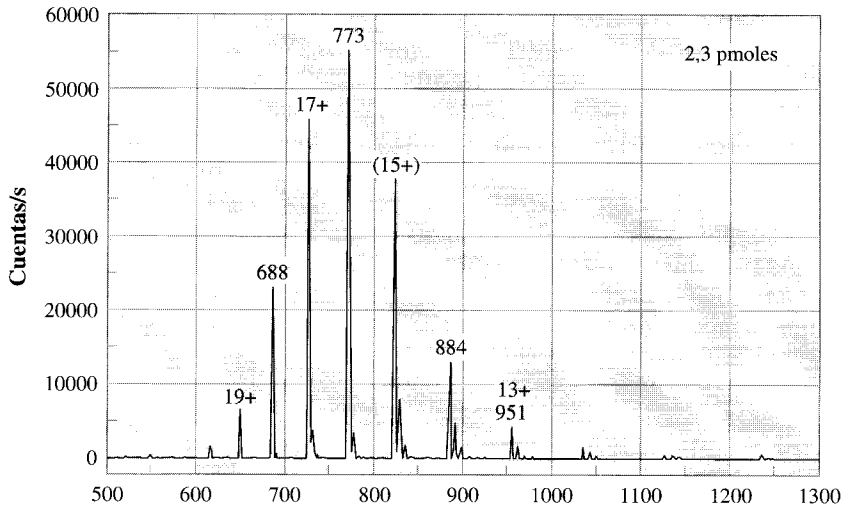
La Figura 12.18 muestra un espectro ESI de un polímero industrial.

FIGURA 12.11 ►
Espectro de masas MALDI de la proteína sin sustituir y de la alquil tiroxina.

El espectro (a) muestra el espectro MALDI de la proteína tiroxina (*m/z* 11.673), que se utiliza para comprobar un mecanismo de la toxicidad del 1,2-dicloroetano. El 1,2-dicloroetano genera espontáneamente una forma conjugada con la glutatiónina (un agente tripéptido reductor que contiene un tiol, que protege el interior celular de la oxidación). Esta conjugación que se produce a pH 7,4 con la tiroxina produce el compuesto que se ve en (b). Este incluye la proteína de partida, la alquil tiroxina con una, dos, tres y cuatro conjugaciones de masa 334.

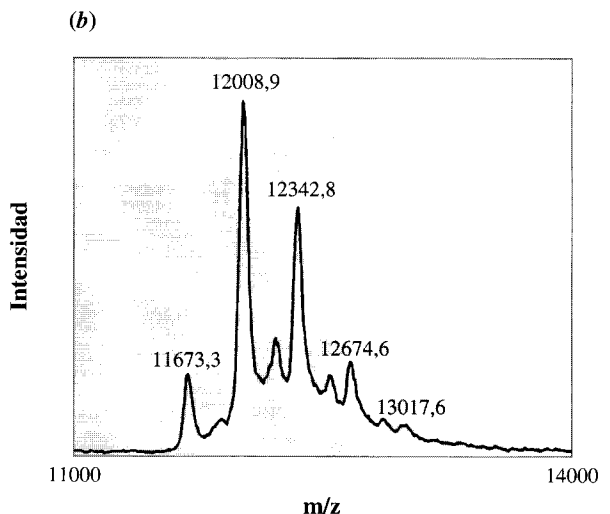
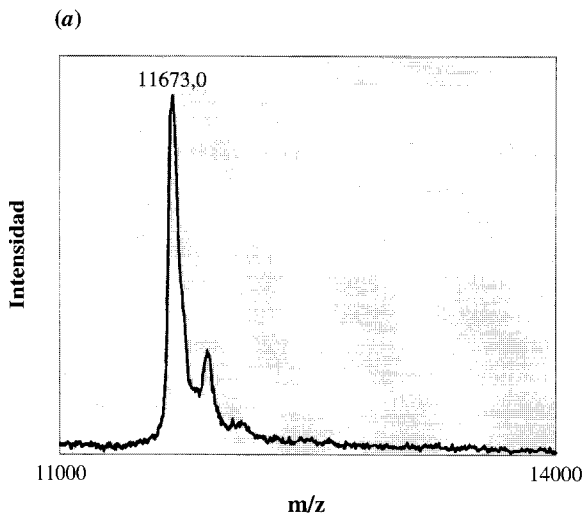
El valor de *m/z* en el pico de la tiroxina se asigna exactamente por esta proteína conocida. El poder de resolución del espectrómetro es de más o menos 100, y la exactitud de *m/z* con calibrado interno es de unos $\pm 2u$.

Condiciones experimentales: Muestra: una alícuota de 1 μL de 0,1 g L⁻¹ de mezcla de proteínas en 0,1 %-CF₃COOH:acetonitrilo (2:1) + 1 g L⁻¹ ácido sinapínico. Espectrómetro de masas: Suma de 50 pulsos de láser (355 nm) de triple frecuencia Nd:YAG láser; *m/z* calibrado con equinmioglobina (M. W.16.951). [Ref.: Meyer, M., Jensen, O. N., Barofsky, E., Barofsky, D. F., Reed, D. J. 1994. *Chemical Research in Toxicology*, 7, 659-665. Espectro por cortesía de D. F. Barofsky.]



◀ FIGURA 12.10
Ejemplo de un espectro de masas
mediante ionización por
electrospray.

Éste pertenece a citocromo c, una proteína. El espectro se obtiene en 90 s en un flujo de una disolución de concentración $1,5 \times 10^{-6}$ M de la proteína. Los dos espectros mostrados están en escalas diferentes en cuentas s^{-1} . El número de las cargas de los iones está indicado sobre sus picos respectivos. [Ref.: Smith, R. D., Loo, J. A., Edmonds, C. G., Barinaga, C. J., Udseth, H. R. 1990 *Anal. Chem.* 62:882-899. Por cortesía de *Analytical Chemistry*. Copyright 1990 American Chemical Society.]



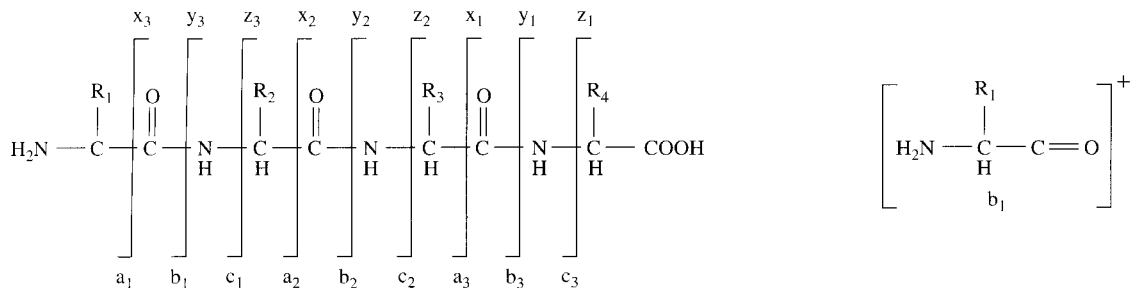


FIGURA 12.12 ▲

La nomenclatura aceptada generalmente para la fragmentación de proteínas por espectrometría de masas.

Cuando un péptido se fragmenta, la ruptura de enlaces se produce a lo largo de la estructura de la proteína en cada uno de los tres tipos de enlaces existentes: C—CO, CO—N y N—C. La carga del ion puede residir tanto en el fragmento que contiene el N terminal, como en el fragmento que contiene el C terminal del aminoácido. Si el N terminal tiene carga (y es entonces uno de los que se miden en el espectro de masas), se le asigna al fragmento la letra a, b o c, dependiendo del tipo de enlace que se haya roto. Se añade un subíndice a la letra para indicar el número de aminoácido (o parte de aminoácido) en el ion fragmentado. Un fragmento común es b₁, que produce un ion acilio (a la derecha de la figura).

Se utiliza un esquema similar cuando la carga del ion reside en el —COOH extremo terminal (el C terminal). Sin embargo, en vez de a, b y c se utilizan las letras x, y, y z para los tres tipos de enlaces. De nuevo, los subíndices indican cuántos aminoácidos (o partes de aminoácidos) contiene el fragmento.

Además de producirse la ruptura de las cadenas lineales, también se puede producir la de las ramificadas. La nomenclatura siguiente se aplica en el caso en que: iones d_n surgen de β, la fragmentación de los enlaces γ de los iones a_n + 1; los iones w_n surgen del mismo proceso para los iones de z_n + 1; y los iones v_n surgen de los iones y_n, que pierden parte de la cadena y un protón. [Refs.: (1) Roepstoff, P., Fohlman, J. 1984. *Biomedical Mass Spectrometry*. 11, 601. (2) Biemann, K. 1988. *Biomedical and Environmental Mass Spec.* 16, 99-111.]

car a una gran variedad de muestras y disolventes más que el ESI o FAD. (MALDI se considera un método **robusto**.) La ionización MALDI posee una amplia versatilidad. Por ejemplo, cuando está unido a un analizador con tiempo-de-vuelo, MALDI puede analizar biopolímeros de más de 500000 u. Además, tanto MALDI como ESI pueden realizar espectros de 1-10000 pmol. Lo cual implica que para una proteína de 100000 daltons, la muestra necesita un intervalo de 0,1 ng hasta 1 μg.

No sólo se analizan moléculas tan largas como las proteínas, sino también polipéptidos cortos. *Secuenciar* significa obtener el orden de los aminoácidos de un segmento. Los detalles de la secuenciación constituyen una técnica más especializada de lo que queremos explicar en esta sección, pero merece la pena entender la nomenclatura de la fragmentación de un péptido en espectrometría de masas. Dicha nomenclatura se introduce en la Figura 12.12 y su descripción.

12.9. Distribución espacial por espectrometría de masas

Cuando se piensa en la distribución espacial de un analito en una muestra, quizás se pueda recordar un mapa como la portada del presente texto. Por supuesto, es un mapa de dos dimensiones para una lámina sencilla de dos kilómetros de espesor. El mapa puede parecer diferente a distintas altitudes. Análogamente, los mapas de distribución pueden ser mapas de profundidad (un **perfil de profundidad**) o distribuciones de superficies. La espectrometría de masas puede aplicarse a ambos, dependiendo de la manera en que se recojan los datos. En ambos casos, los átomos o moléculas deben eliminarse de la superficie y transportarse dentro del espectrómetro. A continuación explicamos cómo se realiza.

Cuando una muestra sólida o líquida se ve afectada por átomos o moléculas energéticas (intervalos de keV) fragmentadas se produce la expulsión de átomos, grupos de átomos e iones de la superficie de la muestra. Esta erosión del material deja un hueco en la superficie, y el proceso de erosión/expulsión se denomina **proyección**. El material proyectado está en fase gaseosa y entonces puede analizarse mediante el espectrómetro de masas. Ejemplos de partículas para el bombardeo son iones como Cs^+ o O_2^+ con un intervalo de energía 0,5-100 keV. Estos iones energéticos se denominan **iones primarios**, y los que son proyectados de la superficie reciben el nombre de **iones secundarios**. La espectrometría de masas de los productos resultantes del bombardeo se llama **espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS)** y **espectrometría de masas de descarga luminiscente**. Los iones acelerados pueden golpear una amplia superficie al azar, que es como la espectrometría de masas de descarga luminiscente produce los iones para el análisis. Por contraste, el empleo de un estrecho haz de partículas para golpear pequeños puntos concretos de la superficie, es la base del método SIMS.

Las muestras luminiscentes sobre las que se utiliza esta técnica son normalmente sólidos, y cuando el material desorbe unas pocas moléculas de las capas más superficiales, tanto el SIMS como la espectrometría de masas de descarga luminiscente pueden analizarlo. El análisis cualitativo elemental puede realizarse con un espectro de masas, pero la cuantificación es más difícil. La cantidad de cada especie que se desprende como iones depende mucho del medio o matriz. Por ejemplo, cuando se golpea una superficie de cobre metálico comparando con óxido de cobre, la fracción de especies de Cu que se desprende como Cu^+ difiere en un factor de 24. Una comparación similar entre aluminio y óxido de aluminio da lugar a un factor de aproximadamente 100. Además, muchos materiales tienden a expulsar de su superficie óxidos antes que metales para impactos de iones primarios. Esto es, la **eficiencia de proyección** es mayor para los óxidos. Lo cual significa que es bastante difícil calibrar para realizar el análisis cuantitativo. El método se encuentra limitado por la complejidad de la química de ablación, no por el instrumento.

Concentrémonos por un momento en SIMS. Los análisis de SIMS se llevan a cabo de tres maneras diferentes, como se expone en la Tabla 12.8. Para determinar las propiedades de elementos y moléculas en la superficie, el modo **SIMS estático** provoca la desorción o proyección con ligeros cambios en la superficie. La cantidad de material que

Tabla 12.8. Diferentes modos para SIMS

Modo de análisis	Típico haz de partículas primarias	Parámetros del haz primario		Tiempo experimental	Tipo de datos y su uso
		Flujo del haz	Diámetro del haz		
SIMS estático	Ar^+ o Xe^+ Ar^0 o Xe^0	$<10 \text{ nA cm}^{-2}$	2–3 mm*	$>10^3 \text{ s}$	Espectro de masas para compuestos orgánicos
SIMS dinámico	O_2^+ o Cs^+	0,1–1 mA cm^{-2}	$>10 \mu\text{m}$	$<1 \text{ s}$	Profundizando en elementos
Imágenes SIMS	Ga^+ o In^+	$\sim 10 \text{ nA cm}^{-2}$	100 nm	$\leq 10^3 \text{ s}$	Imágenes de mapas de elementos/compuestos orgánicos

* Un haz focalizado se puede utilizar y barrer sobre un área equivalente.

Refs.: (1) Briggs, D., Brown, A., and Vickerman, J. C. 1989. *Handbook of Static Secondary Ion Mass Spectrometry*. Chichester: John Wiley & Sons. (2) Varias referencias bibliográficas.

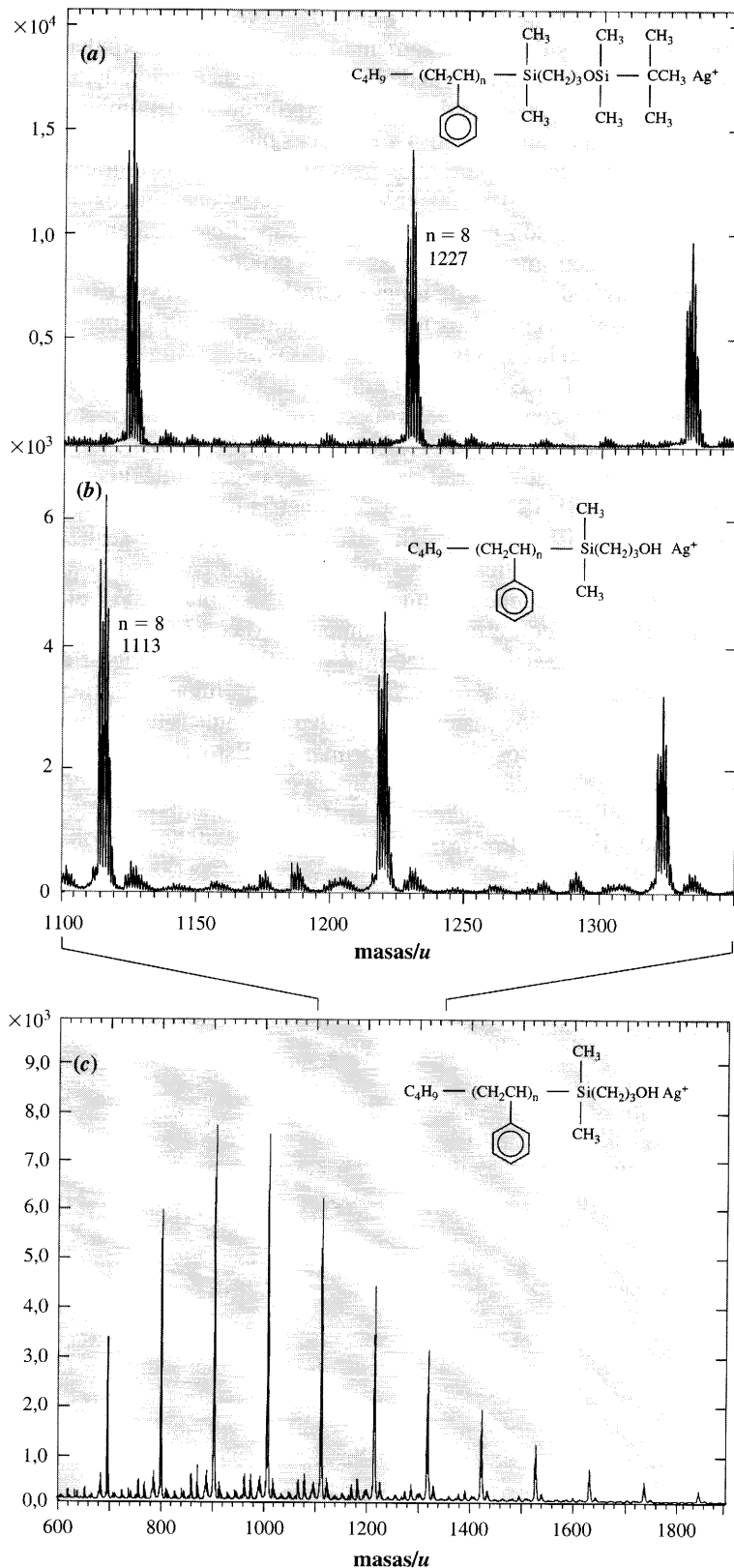


FIGURA 12.13 ►
Un ejemplo del uso de SIMS para la caracterización de polímeros.

Los investigadores prepararon pequeños polímeros de poliestireno con grupos terminales que contenían un grupo funcional alcohol protegido. El grupo protector se eliminó añadiendo metanol. Estos resultados fueron corroborados utilizando SIMS. Un pulso de un haz de iones golpea el material y produce pulsos de iones secundarios que se analizan con un analizador de masas con tiempo-de-vuelo. La abreviatura de la técnica es SIMS-TGF. Los espectrómetros TGF se utilizan para recoger este tipo de datos, y se describirán en la Sección 12.11.

Condiciones experimentales: Haz primario: Ar^+ , 1,2 pA, pulsado a 1 ns con $150 \mu s$ tiempo de repetición. Porciones: $\sim 3 \times 10^{11}$ iones cm^{-2} . Área de superficie: $0,25 mm^2$. El espectro de masas se adquiere y se suma a 200 s a $150 \mu s$ tiempo de repetición. [Ref.: Peters, M. A. *et al.* 1995. *J. Am. Chem. Soc.* 117, 3380-3388. Por cortesía de *Analytical Chemistry*. Copyright 1995 American Chemical Society.]

se proyecta de la superficie es pequeña ya que el número de iones primarios por unidad de área por unidad de tiempo (**flujo de iones**) es bastante bajo. Como se puede apreciar en la Tabla, el intervalo de bombardeo se mide en amperios. (Como regla mnemotécnica, cada ion primario genera entre 0,1 y 10 iones secundarios expulsados de la superficie.) La Figura 12.13 muestra el espectro de masas que resulta de un análisis de SIMS estático de un polímero.

Otro modo es utilizar el espectrómetro de masas para detectar una masa determinada, esto es, para monitorizar una determinada especie. Entonces, un flujo lento de un haz primario se focaliza en un punto pequeño y se escanea la muestra en líneas paralelas —es decir, resulta **una representación de la muestra**— y la intensidad de un ion seleccionado frente a la posición del punto focalizado. Se puede obtener una imagen de las localizaciones de especies elegidas. Tenemos así las **imágenes SIMS**. Debido a la dificultad de calibrado, la cantidad absoluta es muy difícil de medir, pero si la matriz es relativamente homogénea, las concentraciones relativas en distintas posiciones se pueden medir.

Esta aplicación del material es imprecisa pero consistente al aplicar un estándar interno en **SIMS dinámico**. Aquí, se utiliza un flujo de iones más rápido, lo que erosiona la superficie más deprisa que el estático SIMS y las imágenes SIMS. La ablación produce un hueco cuya profundidad varía con el tiempo. Midiendo la variación de la concentración de los elementos de interés con la profundidad se puede obtener un perfil en profundidad de los elementos seleccionados. Un ejemplo de distribución de profundidad SIMS se muestra en la Figura 12.14.

Merece la pena destacar una interferencia que se produce durante el SIMS. Aunque los iones positivos y negativos se expulsan de la superficie, si la muestra es un aislante eléctrico, la superficie se carga durante el proceso. El campo eléctrico de estas cargas distorsiona el camino tanto de los iones primarios como de los iones proyectados. Como resultado, la intensidad del ion en el detector cambia con el tiempo; por lo que se dice que la **eficiencia iónica** cambia con el tiempo. El SIMS, entonces, es más fácilmente aplicable a materias conductoras.

Tanto la dificultad del calibrado del SIMS como los problemas de carga de los aislantes han provocado un reciente desarrollo de la **espectrometría de proyección de masas neutras** (SNMS). Sus operaciones se muestran en la Figura 12.15. En vez de extraer iones dependientes de la matriz, se extraen átomos neutros y asociaciones que son recogidos e ionizados por ionización electrónica y después se analizan. Se ha descubierto que la SNMS tiene una sensibilidad independiente de la matriz, y la ionización de electrones realizada en la superficie es reproducible. Como resultado, la cuantificación de SNMS es superior a la de SIMS. La desventaja es que los límites de detección en SNMS son mucho mayores que los encontrados en el SIMS. En la Figura 12.15 se recoge una distribución de profundidad por SNMS.

Todos los métodos mencionados en esta sección se pueden usar para obtener una distribución de profundidad de elementos y moléculas a medida que el haz erosiona las capas superficiales. No obstante, la calidad de la información está limitada por la homogeneidad de la erosión.

Si una de las partes se erosiona más deprisa que las otras, la señal aumenta por donde lo hace la profundidad. Este mecanismo de pérdida de resolución se aplica a todos los métodos, tanto si la ablación se produce por descarga luminiscente en una superficie relativamente grande como si se bombardea un pequeño punto por SIMS o SNMS. Por otro lado, la máxima resolución sobre coordenadas laterales de una superficie depende de las dimensiones del haz primario y, sólo secundariamente, de la forma de los bordes del punto erosionado.

La fuente iónica de SNMS se muestra en la sección siguiente, Figura 12.24.

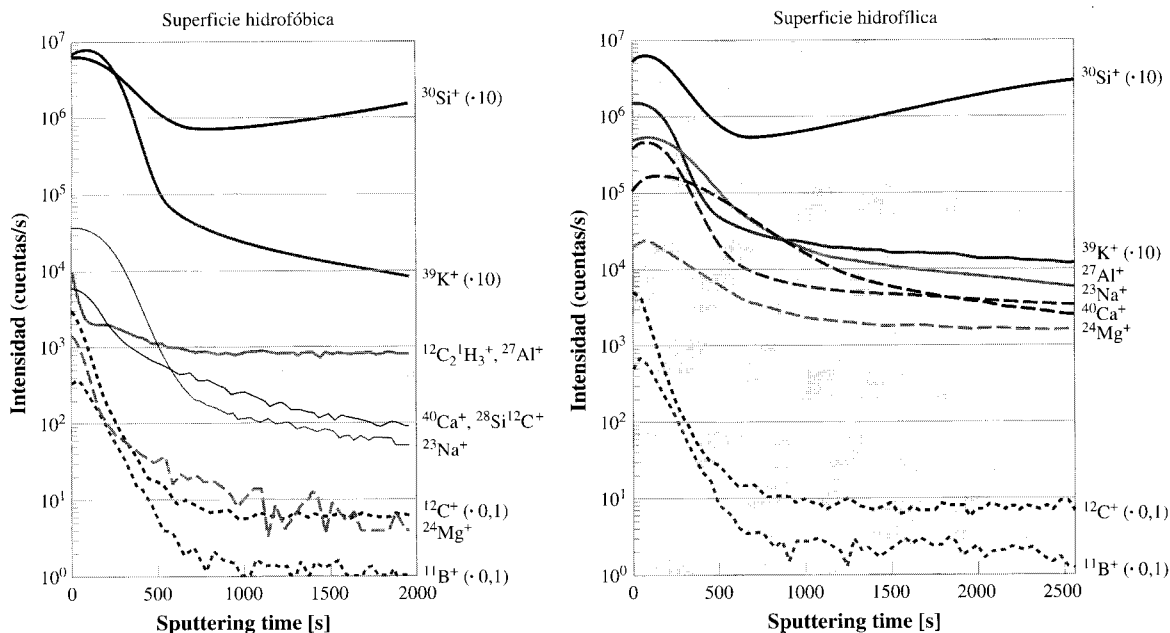


FIGURA 12.14 ▲
Un ejemplo de un perfil de profundidad de elementos en la superficie de una lámina lisa de silicio determinada por SIMS.

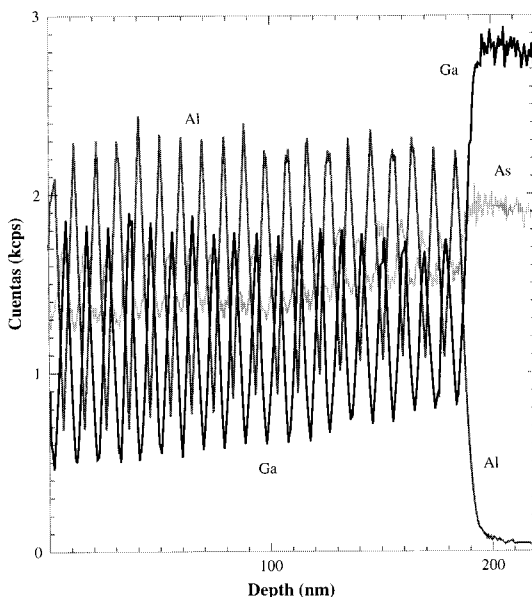
Se muestra la típica distribución de contaminantes después de la limpieza para la preparación de microchips electrónicos. (A la izquierda) La superficie hidrofóbica forma durante una «inmersión en HF» y agua grupos SiH en la superficie. (A la derecha) La superficie hidrofílica, que se compone de enlaces de grupos $\text{SiO}(\text{OH})_{x-1}$, resulta de la oxidación en un baño de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_3/\text{agua}$. Debido a que la eficiencia de ionización de Si depende fuertemente de la concentración de oxígeno que hay en la superficie analizada, aparecen restos del proceso de lavado en las cuentas de silicio. La señal de salida se representa frente al tiempo, y la correlación con la profundidad exacta es muy difícil de establecer, cuando el grado de erosión depende de la composición del material, y no hay presente ningún estándar interno para establecer la variación de la composición. El grado de erosión es, en este caso, aproximadamente 0,5 capas atómicas/minuto. Nótese la interferencia isobárica entre los fragmentos orgánicos $^{12}\text{C}_2\ ^{1}\text{H}_3^+$ y $^{27}\text{Al}^+$ y otra entre $^{40}\text{Ca}^+$ y $^{28}\text{Si}^{12}\text{C}^+$. Se aprecia un gran número de fragmentos orgánicos pero no se registran ya que se adsorben en la superficie o sus señales no permanecen estables. Los números entre paréntesis son los multiplicadores.

Condiciones experimentales: Haz primario: 5,5 keV O_2^+ . Flujo: $I_p = 20$ nA. Área de penetración: $500 \times 500 \mu\text{m}^2$. [Ref.: Stinger, G., Grundner, M., Grasserbauer, M. 1988. *Surface and Interface Analysis*. 11, 407-413. Por cortesía de John Wiley & Sons, Ltd.]

FIGURA 12.15 ►
Ejemplo de un análisis del perfil profundidad por espectrometría de proyección de masas neutras.

Aquí se muestra una representación de numerosos átomos de Ga, Al y As en un material compuesto por láminas alternadas de 5 nm de espesor de GaAs y AlAs, una **superestructura** de arseniuro de galio y arseniuro de aluminio crecen en un soporte de arseniuro de galio. Nótese la respuesta (aquí en kcps: kilo cuentas por segundo) para estequiometrías iguales, Ga y As en GaAs: no es la misma debido a las diferencias de eficiencia del proceso de proyección e ionización.

Condiciones experimentales: Haz primario, 1 keV Xe^+ , 200 nA, dimensiones de hueco $\sim 100 \mu\text{m}$ de diámetro. [Ref.: Bayly, A. R., et al. 1994. *Surface and Interface Analysis*. 21, 414-417. Por cortesía de John Wiley & Sons, Ltd.]



12.10. Variedades de fuentes de ionización

Factores normales en las fuentes de ionización: estabilidad, control del movimiento iónico

Cualquiera que sea la fuente de ionización que se utilice en espectrometría de masas, una propiedad deseable es la estabilidad del ion producido. La estabilidad debe ser independiente del tiempo de la producción del ion: desde minutos para un instrumento que escanea un sector magnético hasta microsegundos para láser pulsados. Los dos factores principales que afectan a la estabilidad de la fuente de ionización son:

- a) Eficiencia de las especies. Si la muestra no es un gas, la composición del material vaporizado puede no reflejar la composición de la muestra; la fragmentación puede ocurrir.
- b) La eficacia de la ionización. Parece evidente que para cada especie difiere. Para sólidos y líquidos la fracción ionizada por cada método de ionización a menudo varía con la composición de la matriz.

Idealmente, tanto el estado de las especies como la eficacia de la ionización deberían permanecer constantes. Si la fuente de ionización no es estable, entonces los picos de abundancia no se pueden comparar entre muestras ni con el estándar. Obviamente, para un análisis cuantitativo con espectrometría de masas, los estándares deben ser una preocupación primordial. Un analito sustituido isotópicamente es el prototipo de estándar interno.

Todos los métodos de evaporación/ionización producen iones con distribuciones de sus energías cinéticas, dirección de la trayectoria y posiciones. Todas las fuentes de ionización para espectrometría de masas deben tener **ópticas de iones** para acelerar y focalizar los iones producidos por la ionización y también, quizás, para limitar su intervalo de energías cinéticas. El término óptica de iones se toma de la terminología óptica. Al igual que la luz es manipulada con espejos y lentes, los iones en fase gaseosa se focalizan, reflejan y reflejan con campos eléctricos formados por láminas de metal, anillos o cilindros cargados con el potencial apropiado. No obstante, los iones pueden acelerarse (a diferencia de la luz), decelerarse hasta pararlos, y ser introducidos en volúmenes en intervalos de centímetros cúbicos a presiones de unas 10^{-10} atm por aplicación de campos eléctricos AC (MHz) a electrodos con la geometría apropiada.

Para acelerar los iones, se puede impartir energía cinética a iones con carga q para acelerarlos a través de un potencial V . Esto es,

$$E_k = qV \quad (12-2)$$

donde $q = z \cdot e$, y e es la carga electrostática. Si V está en voltios, E_k tiene unidades de electrón voltio cuando la energía cinética es relacionada con la velocidad por $E_k = \frac{1}{2} mv^2$.

$$v = \sqrt{\frac{2E_k}{m}} = \sqrt{\frac{2qV}{m}} \quad (12-3)$$

Idealmente, las energías cinéticas de los iones de una m/z dada deberían ser las mismas. Sin embargo, tal perfección no puede ser alcanzada porque los iones son acelerados a través de un intervalo de potenciales. El intervalo procede de las siguientes contribuciones instrumentales:

1. El campo eléctrico acelerador no es perfectamente homogéneo.
2. La distribución de los iones está extendida en el espacio, por lo que sus aceleraciones varían (algunos aceleran a través de más campos eléctricos que otros).
3. El alimentador de corriente fluctúa.

En los casos 1 y 2, la energía cinética de cada ion varía dependiendo de su posición en el campo de aceleración. En el caso 3, el potencial de aceleración varía con el tiempo de toma de datos.

No obstante, aun cuando los campos eléctricos pudieran ser perfectos, la agrupación de los iones tan cercana que todos estuvieran al mismo potencial, y el alimentador de corriente fuera perfecto, cada especie de iones seguiría teniendo un intervalo de velocidades. Esta expansión es debida a la distribución de Maxwell-Boltzmann de velocidades de cualquier gas en equilibrio térmico. Sin embargo, el equilibrio térmico no se da en vacío, y algunas técnicas de ionización —sobre todo aquellas que usan láser o partículas impactando a gran velocidad sobre una superficie— no producen iones en equilibrio térmico. En ambos casos, la distribución de velocidades puede ser mucho mayor que la observada en equilibrio. Estrechar el intervalo de velocidades siempre mejora la resolución en un espectro de masas.

Ante todo, las características de la fuente de ionización determinan qué problemas analíticos pueden ser abordados por espectrometría de masas². ¿Por qué? Porque la fuente de ionización determina qué especies pueden pasarse a estado gaseoso y ser ionizadas (o ionizadas y después pasadas a estados gaseoso). A continuación se describen algunos aspectos de la química de las fuentes de ionización.

Ionización de electrones (EI) e ionización química (CI)

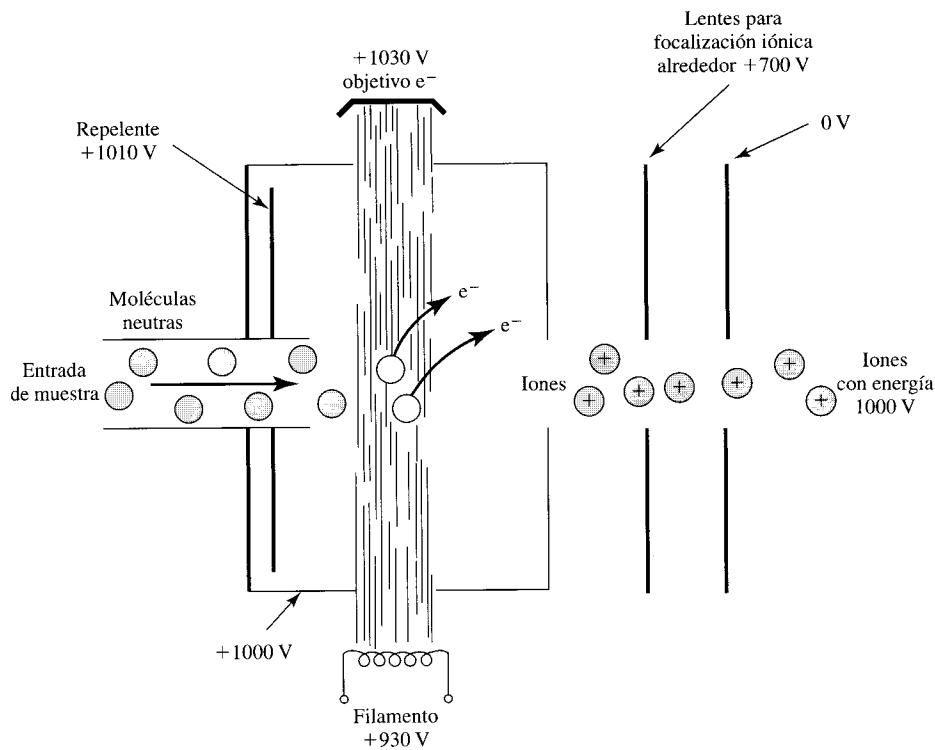
Las fuentes de ionización de electrones (IE) e ionización química (CI) se han convertido en las más habituales para la espectrometría de masas. Ambas fuentes de ionización son similares al diseño de la Figura 12.16, y existen en el mercado aparatos que se pueden usar en ambas funciones. Existen dispositivos instrumentales preparados para sólidos y líquidos con alto punto de ebullición que serán volatilizados cerca de la cámara de colisiones. Los vapores de líquidos de ebullición y gases se pueden introducir a caudales controlados.

Los electrones requeridos para ionizar la muestra se emiten desde un filamento incandescente y se aceleran entre electrodos de hasta 70 eV (una energía usada con frecuencia). Pasan a través de una apertura que colima el haz antes de atravesar el vapor de la muestra. Los electrones que no reaccionan (la inmensa mayoría) son recogidos. Se mide la corriente resultante de electrones sin reaccionar, y se usa un circuito de realimentación para mantener la corriente del haz de iones constante. Los electrones que interaccionan con las moléculas extraen una fracción de electrones para formar iones de carga positiva. La energía necesaria para esta reacción oscila entre 7 y 12 eV. La energía remanente permanece asequible para la fragmentación.

Los iones que se forman por ionización de electrones son extraídos del haz de electrones, acelerados, y colimados en un haz de iones en el que éstos tienen casi la misma energía cinética: un haz de iones monoenergético. Los potenciales de aceleración y las consiguientes energías cinéticas de los iones están en el intervalo de kV.

Las fuentes de ionización químicas utilizan un gas reactivo como mediador para «suavizar» las condiciones de ionización de la muestra. Como puede verse en la Figura 12.4 de la pág. 528, aparece menos fragmentación con CI que con EI, en tanto que hay menos energía «en exceso» (por encima de la que se necesita para la ionización) disponible para romper y reorganizar los enlaces químicos. Se introduce el gas reactivo

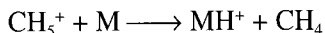
² Una excepción es la determinación de masa con alta resolución, que está limitada por la calidad de la separación de masa.



◀ FIGURA 12.16.
Diagrama del funcionamiento de una fuente de ionización de impacto de electrones.

Las moléculas neutras se evaporan en la cámara de colisiones. Un haz de electrones pasa a través del vapor, causando la formación de iones positivos. Los iones son repelidos fuera de la cámara, focalizados, e introducidos en el analizador de masas. Los potenciales que muestra la figura son los de los iones que entran en el analizador de masas con energías cinéticas distribuidas en torno a una media E_i de 1000 eV. Obsérvese que a pesar de que el haz de electrones se acelera mediante 100 V, se mantiene ambos electrodos en un potencial lo suficientemente alto como para que los electrones se conduzcan en y a través de la cámara de ionización. Algunas fuentes de ionización tienen campos magnéticos colocados de forma que los electrones del haz cruzan la cámara con trayectorias helicoidales. Esto hace que la trayectoria de la ionización sea mucho más larga.

(con frecuencia metano u otro hidrocarburo de baja masa molecular) en la cámara de ionización a unos 10^{-3} torr; su concentración es mucho más alta que la muestra. Se ioniza el gas reactivo por el haz de electrones y, a través de las subsiguientes reacciones en fase gaseosa, acepta protones para formar iones moleculares. Si se usa el metano, el ion reactivo primario es CH_5^+ , y transfiere un protón a las moléculas del analito que tienen mayores afinidades por el protón con la reacción.



El ion MH^+ se acelera a través del campo eléctrico hacia dentro del analizador de masas.

Hay que tener en cuenta que la introducción del gas reactivo se realiza a altas presiones en la fuente de ionización de CI mientras que el analizador de masas está al vacío. Una manera de eliminar esta dificultad potencial es una bomba de alto vacío para evacuar la región entre la fuente de ionización y el analizador de masas. En este caso, la ranura no sólo colima el haz de iones sino que también separa las regiones del instrumento que operan a distinta presión. Permite sólo un escape lento desde la región de alta presión.

La diferencia en la fragmentación entre EI y CI muestra la dicotomía entre ionizaciones de baja energía y alta energía y colisiones que dan lugar a diferentes fragmentaciones. Los procesos de baja energía tienen lugar durante la ionización química, la ionización en electrospray, y las colisiones en un espectrómetro MS/MS de sector cuadrupolar. Los procesos de alta energía incluyen la ionización de electrones y colisiones en MS/MS en la cámara de colisiones seguida de separación en el sector magnético del instrumento. A este nivel, sólo se estudiarán las diferencias que existen.

Electrospray (ES, ESI)

En la Figura 12.17 se muestra una fuente de ionización de electrospray. A partir de una disolución que fluye a través de una aguja hueca sometida a un campo eléctrico de $5\text{--}10\text{ kV cm}^{-1}$, se forman gotas pequeñas cargadas eléctricamente. La aguja tiene dos flujos concéntricos. El interior lleva la muestra. El exterior es un segundo líquido que se mezcla con la muestra (y puede modificar el contenido de iones) y ayuda a producir un buen contacto eléctrico con el metal. Por último, uno de los diseños tiene un tercer fluido que suele ser un portador gaseoso que ayuda a la formación de gotas. Otros diseños tiene la aguja vibrante a frecuencias de ultrasonidos para ayudar a la formación de gotas homogéneas. Las gotas son de $1\ \mu\text{m}$ de diámetro y tienen una carga neta que hace que sean atraídos a un electrodo a través de un volumen abierto. Las gotas se mueven a contracorriente en ese volumen, que evapora parte del disolvente —un proceso llamado **desolvación**—. Como consecuencia, las gotas se encogen y los iones que se encuentran en la superficie se ven forzados a aproximarse entre sí. En cierto momento, la repulsión

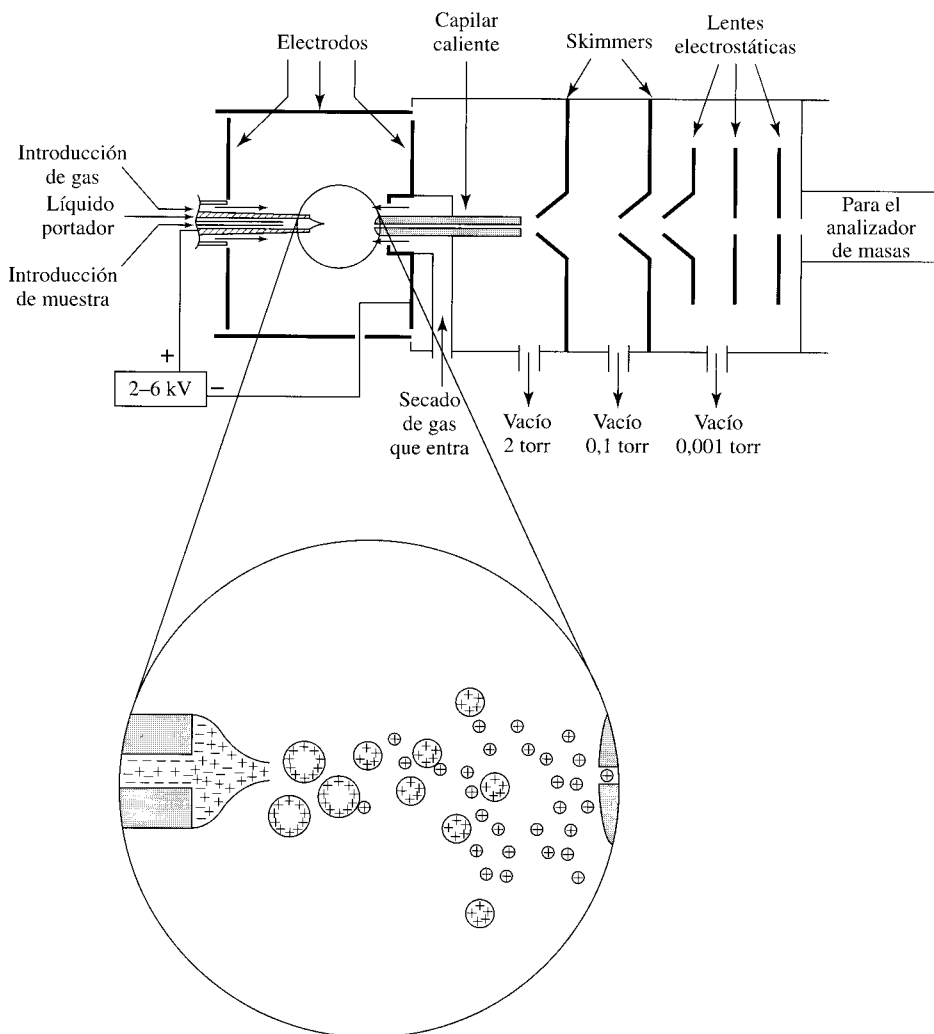


FIGURA 12.17 ►
Exposición de los
componentes principales de
una fuente de ionización de
electrospray.

Se muestra la aguja de tres vías por donde penetra el disolvente. El líquido toma la forma de un **cono de Taylor** que se encuentra influido por el flujo y por el campo eléctrico que captura los iones que están en el líquido. (La fuerza sobre los iones empuja al líquido mientras que la tensión superficial los empuja a formar esferas.) Las condiciones de flujo, concentración de los iones, disolvente y potencial se deben escoger cuidadosamente para conseguir unas condiciones estables. Se muestran aquí las operaciones necesarias para un ion de carga positiva. Los iones de carga negativa también se pueden seleccionar. Los iones creados electroquímicamente desde el metal repelen la carga de los iones que conllevan las gotas. Los capilares por los que las pequeñas gotas pasan, se calientan para mejorar la evaporación del disolvente. La succión diferencial se lleva a cabo a través de numerosos pasos para introducir un sistema a presión atmosférica en uno de vacío que es el que necesita para una separación por masas efectiva.

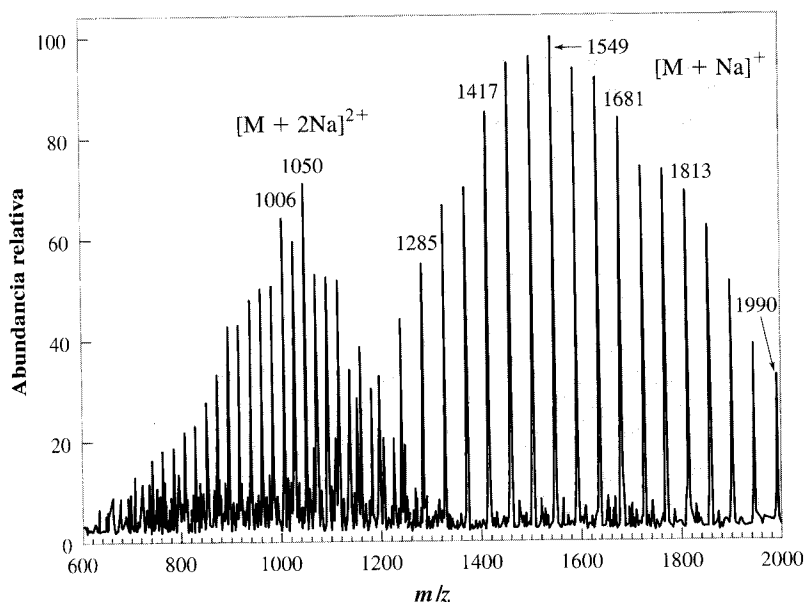
de los iones se hace mayor que la tensión de la superficie que mantiene unidas las gotas en forma esférica, y las pequeñas gotas se rompen. (El punto donde se pronostica que las gotas se romperán se llama **el límite de Rayleigh**, pero la ruptura se suele producir antes de que se alcance dicho punto.) Las gotas pequeñas sólo se rompen aproximadamente un 2%, pero llevan el 15% de la carga de la masa original sobre su pequeña y recién creada área. Este proceso se lleva a cabo un determinado número de veces para cada gota original de 1 μm .

De estas gotas más pequeñas, que continúan perdiendo disolvente, se generan los iones en fase gaseosa. No obstante, no existe convenio para la última etapa de la producción de iones. El proceso completo se llama **evaporación de iones**. Los iones producidos tienen un pequeño exceso de carga y, por tanto, pequeña fragmentación. El electrospray es la menos agresiva de las técnicas de ionización.

El proceso de generación de iones y evaporación del disolvente son reacciones superficiales, y cualquier cambio sobre la superficie influye en el proceso. Por ejemplo, cuando iones con la carga del mismo signo se evaporan, las impurezas iónicas se disminuyen; si no, las impurezas predominan sobre los iones del analito. Una regla mnemotécnica dice que la concentración total de los iones debe permanecer inferior a 1 mM. Esto incluye a los iones de hidrógeno, por lo que el pH influye notablemente. Especialmente tienen un efecto represivo de la formación de iones los surfactantes debido a su gran afinidad por la superficie. Por eso, se evita el uso de éstos.

La fuente de ionización de electrospray produce iones que tienen carga múltiple, como se muestra en la Figura 12.18. Como se ve en los picos, la carga varía al conjugarse con un metal. Los protones pueden realizar la misma función.

En general, la ionización en electrospray produce iones inorgánicos u orgánicos, con carga doble o sencilla de la masa molecular de pocos cientos de daltons y macroiones multicargados; ambos tipos de iones, los creados por el hombre y los biológicos, dan



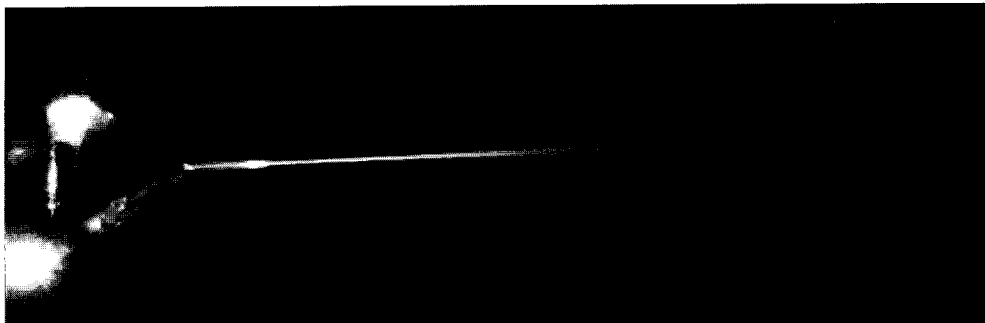
◀ FIGURA 12.18

Espectro de masas por ionización de electrospray de un polímero, octilfenoxypolietanol.



Se presentan aquí dos tipos de fragmentos del polímero, una especie de carga sencilla y otra de carga doble. Ninguna señal de MS por ionización en electrospray puede verse sin la adición de yoduro de sodio.

Condiciones experimentales: Dimensiones de tres columnas de cromatografía de exclusión en serie: 10³, 500 y 100 Å de exclusión. Dimensiones de la columna: 30 cm × 7,8 mm i.d. Disolvente: tetrahidrofurano, ~ 5 × 10⁻⁵ M NaI, 1,0 mL min⁻¹. Inyector: 100 μL . Interfase: divisiones del flujo con 8-10 μL min⁻¹ al ESI-MS. Espectrómetro de masas: Vestec 200 ES cuadrupolar, m/z 200-2000 a 3 espectrometría de masas Da⁻¹ velocidad de barrido. Electrospray: 0,005 i.d. × 0,010 o.d. aguja hipodérmica de vertido horizontal a 3,0 kV de potencial. Temperatura de la fuente de ionización: 250 °C, temperatura de la cámara de nebulización 55-60 °C. [Ref.: Simonsick, W. J., Jr., Prokai, L. 1995. In *Chromatographic Characterization of Polymers* (Advances in Chemistry Series #247) T. Provder *et al.* eds. Washington D.C.: American Chemical Society. Chap. 4, Figura por cortesía de L.Prokai. Reproducida con permiso. Copyright 1995 American Chemical Society.]



El electrospray.

El extremo de una aguja hueca está en el lado izquierdo de la foto. La tensión superficial y la repulsión entre cargas hacen que el flujo disminuya su diámetro adoptando la característica forma de Cono de Taylor. El flujo a veces sale en forma de aerosol de gotas que se subdividen y pierden disolvente hasta la obtención de los iones individuales de carga múltiple.

lugar a pocos cientos de kilodaltons. La nomenclatura general utilizada para describir las masas y las cargas de dichos iones es, por ejemplo, $(M + 5H)^{5+}$. Ésta es la molécula de partida de masa M con 5 protones conjugados. La conjugación controla la carga de +5. El número de carga está relacionado con el número de grupos básicos asociados con los iones en la disolución. Sin embargo, el número exacto se ve modificado por la concentración del ion que adquiere la disolución al evaporarse la matriz para producir la fase gaseosa. Uno de los grandes beneficios de tener estos iones con carga múltiple es que los polímeros con alto peso molecular proporcionan picos de m/z bajos en el espectrómetro de masas. Por ejemplo, una molécula de masa 10000 con una carga de +10 aparecerá a m/z 1000, que entra en el intervalo de casi todos los espectrómetros.

Cuando una serie de picos, cada uno de carga diferente, aparecen de una misma molécula de partida, entonces la carga y el peso fórmula se puede obtener a partir del espectro de masas. Cuando aparecen especies cargadas asociadas con progenitoras, los poliones aparecen a distintos m/z . A estos m/z los llamaremos valores de m/z aparentes y se representan como A_1 y A_2 , siendo A_2 el valor más alto de m/z . Los iones poseen cargas de z_1 y z_2 respectivamente. Además, se combinan con protones para neutralizar la carga. Utilizando esta nomenclatura, las dos ecuaciones siguientes expresan los valores de m/z aparentes:

$$A_1 = \frac{M_r + 1,0079z_1}{z_1} \quad (12-4)$$

$$A_2 = \frac{M_r + 1,0079z_2}{z_2}$$

El valor de 1,0079 es el peso atómico del protón que aumenta su carga. Si fuese sodio los iones que se unen, se debería multiplicar por 22,99.

Cuando $A_2 > A_1$ para los picos relacionados mediante $z_2 = z_1 - 1$, se puede calcular z_1 resolviendo las ecuaciones anteriores.

$$z_1 = \frac{A_2 - 1,0079}{A_2 - A_1} \quad (12-5)$$

Esta ecuación se utiliza para obtener la carga. Una vez que se conoce la carga, se puede calcular la masa molecular, como se verá en el siguiente ejemplo.



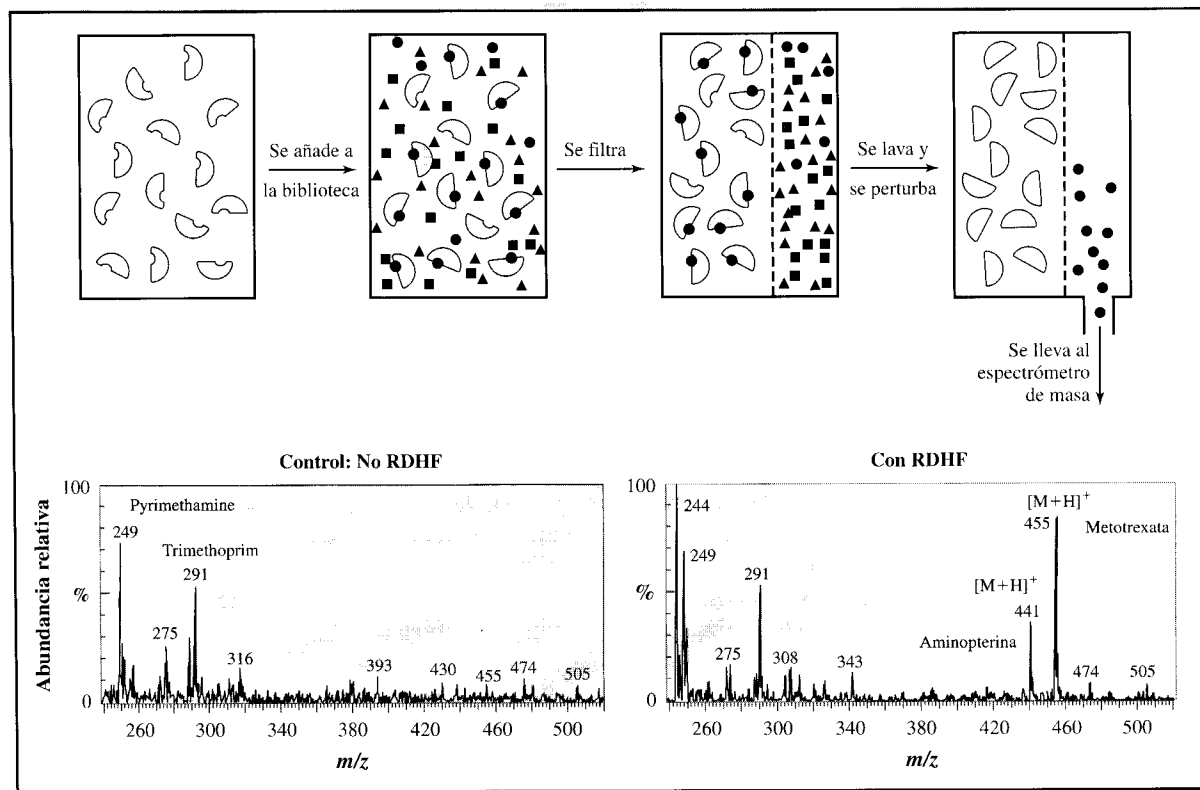
CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 12-1

Pegado a ti... Bibliotecas de cobertura combinatoria

La química combinatoria ha dado un importante empuje al descubrimiento de drogas. Esta técnica puede producir conjuntos de números de miles de compuestos sin necesidad de realizar tanto un análisis químico como analítico para cada uno. Ante tal avalancha de compuestos, se requieren métodos de amplio espectro. Uno de los avances puede ser comprar instrumentos automatizados. No obstante, una estrategia más acertada sería evitar el análisis de compuestos que no se deseen. Los métodos de amplio espectro siguen siendo necesarios, pero parte del trabajo (es duro decirlo de antemano) sería innecesario. La siguiente técnica es un avance para disminuir el trabajo analítico. Requiere que el receptor de la droga se conozca perfectamente para su aislamiento sea, estable *in vitro*, y que las moléculas pequeñas que reaccionan con él tengan una disociación lenta.

Para que un compuesto sea eficaz como droga, debe tener una elevada afinidad con el lugar receptor. (Esto no implica que el compuesto funcione o que lo haga sin efectos secundarios, pero la elevada afinidad es una condición *sine qua non*.) Por tanto, si se eliminan los compuestos que se unen débilmente, se excluye la necesidad de analizarlos. La cobertura se hace según la Figura. La proteína se mezcla con el sustrato potencial, y la baja afinidad del sustrato hace que se desprenda por lavado, se filtre con una membrana de ultrafiltración y se elimine. La unión entonces se altera añadiendo ácidos, disolventes orgánicos o ambos, y el sustrato eliminado se introduce en el espectrómetro de masas mediante la fuente de ionización de electrospray.

El espectro de masas muestra los resultados de un test para detectar inhibidores de la reductasa



Pegado a ti... Bibliotecas de cobertura combinatoria (*continuación*)

dihidro-folato (RDHF). La inhibición de la RDHF es la base de para la actividad antitumoral por los inhibidores. Entre los 22 compuestos de la biblioteca sólo unos pocos exhiben uniones no específicas (en ausencia de RDHF). Con presencia de la proteína RDHF, se detectan dos inhibidores conocidos: metotrexata y aminopterina.

[Refs.: (1) NIKOLIC, D., VAN BREEMEN, R. B. 1998. «Screening for Inhibitors fo Dihydrofolate Reductase Using Pulsed Untrafiltration Mass Spectroscopy». *Combinatorial Chemistry & High Troughtput Screening*. 1, 47 - 55. (2) VAN BREEMEN, R. B., HUANG, C.-R., NIKOLIC, D., WOODBURY, C. P., ZHAO, Y. -Z., VENTON, D. L. 1997. «Pulsed Untrafiltration Mass Spectroscopy: A New Method for Sreening Combinatorial Libraries». *Anal. Chem.* 69, 2159-2164. Reproducción con permiso de *Analytical Chemistry*. Copyright 1997. American Chemical Society.] ■

EJEMPLO 12.6

La molécula Concanavalina A puede analizarse utilizando la ionización por electrospray. Allí aparecen numerosas bandas solapadas, menos un tetrámero de la molécula con carga +21 que aparece sin interferencias. Utilizando la Ecuación 12-5, el pico para la molécula +21 (sin resolver masas individuales) se encuentra a m/z 4860. ¿Qué masa tiene el tetrámero? Para confirmar la asignación, ¿a qué m/z debería aparecer la especie de +20?

Solución:

Si m/z es 4860 para +21 de carga, la masa de la molécula original se encontrará si $z = 1$. (El poder de resolución es demasiado pequeño para incluir la diferencia del hidrógeno.) La masa del tetrámero será $21 \cdot (4860) \approx 102000u$. El pico de la molécula de carga +20 saldrá a $m/z \approx 5100 = 102000/20$.

La fuente de ionización de electrospray descrita anteriormente trabaja a una velocidad de flujo de $1-10 \mu\text{L min}^{-1}$. Otras fuentes de ionización basadas en el concepto de electrospray se utilizan para flujos de menos de 10 nL min^{-1} . Los nombres que recibe esta técnica son normalmente los informales **microelectrospray**, **nanoelectrospray** y **nanospray**. A un flujo de 20 nL min^{-1} , una muestra de $2 \mu\text{L}$ permite una hora y media de tiempo de recogida de datos.

Aunque los ejemplos mostrados en esta sección son de macromoléculas, el electrospray es más flexible que todo eso. Se puede utilizar para moléculas de masa desde las de las proteínas hasta pocos cientos de daltons.

El electrospray es uno de los numerosos métodos de ionización en los que los iones se forman a presiones atmosféricas o próximas a éstas. En un método similar, **ionización química a presión atmosférica** (APCI), las gotas se forman primero y se cargan mediante una descarga visible y de alto potencial (una **corona**), para después introducirse dentro del analizador. Todo esto difiere del electrospray en que la formación y la carga de las gotas son simultáneas. Tanto ESI como APCI se pueden clasificar dentro de un grupo llamado **ionización a presión atmosférica** (API).

Fuentes de ionización por plasma acoplado inductivamente (ICP)

Una antorcha de plasma acoplado inductivamente (ICP) se puede utilizar para atomizar e ionizar muestras para análisis de trazas y ultratrazas de elementos. La antorcha

ESI de pequeña molécula: Véase Figura 12.5(a).

Más información sobre la antorcha ICP en la Figura 9.10.

trabaja a temperaturas en el intervalo de 3000 K, y los compuestos en las muestras se rompen en sus formas elementales. Algunas fracciones de cada especie individual se ionizan simultáneamente. Para los análisis se prefieren las formas monocatónicas (1+), y se determinan las condiciones para incrementar la producción de esas formas. El plasma se acopla con un filtro de masas de cuadrupolo, y los iones que se separan por la masa, se detectan. Debido a que el transductor responde de forma análoga ante cualquier ion que golpea en él, muchos de los iones se detectan de manera similar. La combinación de un plasma acoplado inductivamente y un espectrómetro de masas se denomina, de forma abreviada, como ICP/MS.

La cuantificación con ICP/MS sufre interferencias análogas a las que afronta cualquier combinación con espectrometría de masas. Entre estas interferencias se encuentran las siguientes:

El porcentaje de cada elemento en forma de monocación en la antorcha, depende de la naturaleza del elemento.

Una pequeña fracción de algunos iones que pueden dar doble carga, produce respuestas de la mitad de los m/z esperados mientras disminuye la respuesta de los m/z esperados.

Los picos solapados en espectros de masas suelen ser de isótopos de elementos diferentes. El nombre que recibe este solapamiento es **interferencias isobáricas** (de igual peso). Un ejemplo de interferencia isobárica es $^{87}\text{Rb}^+$ y $^{87}\text{Sr}^+$. En general, las interferencias isobáricas no suelen ser demasiado importantes para otros tipos de isótopos de elementos en el análisis. Véase la Tabla 12.9. Una excepción es ^{40}Ca , que es isobárico con ^{40}Ar .

Los iones de los metales que excepcionalmente forman óxidos estables tienden a formar óxidos de moléculas diatómicas. Esto reduce la intensidad del pico esperado en la masa del ion metálico. Por ejemplo, las formas del uranio U^+ y UO^+ . El problema se minimiza cuando se diseña con sumo cuidado el instrumento.

Sólo unas pocas limitaciones (otras además de las usuales para la preparación de la muestra) se necesitan prever para ICP/MS.

El contenido total salino que se puede tolerar es de un 1%, pero 0,1% es la cantidad preferible.

Algunos iones moleculares de los ácidos de la digestión pueden interferir si su concentración es lo suficientemente alta. Por ejemplo, ClO^+ (masas de 51 y 53) del ácido perclórico o clorhídrico con ^{51}V .

Los disolventes orgánicos tienden a saturar la antorcha de plasma. Como resultado, el uso de disolventes orgánicos requiere que se ajusten las condiciones para el mantenimiento del plasma.

Con la disolución apropiada de la muestra, ICP/MS se utiliza sobre un amplio intervalo para el análisis de ultratrazas. Sin embargo, debido al requisito de bajo contenido salino, la dilución de altas concentraciones de sal aumenta los límites de detección igualmente. ICP/MS se ha convertido en uno de los métodos de análisis elegidos para muestras inorgánicas. Los otros métodos están basados en espectroscopia de emisión ICP (de forma abreviada, ICP-AE, ICP-AES o ICP-OES). Una ilustración de la señal de salida de ICP-MS se muestra en la Figura 12.19. La asignación de los picos en este espectro queda para el lector.

MS cuadrupolar se describe en la Sección 12.11.

Los límites de detección del ICP/MS se encuentran recogidos en el Apéndice III.

En la Sección 9.7 se describe ICP en espectroscopia.

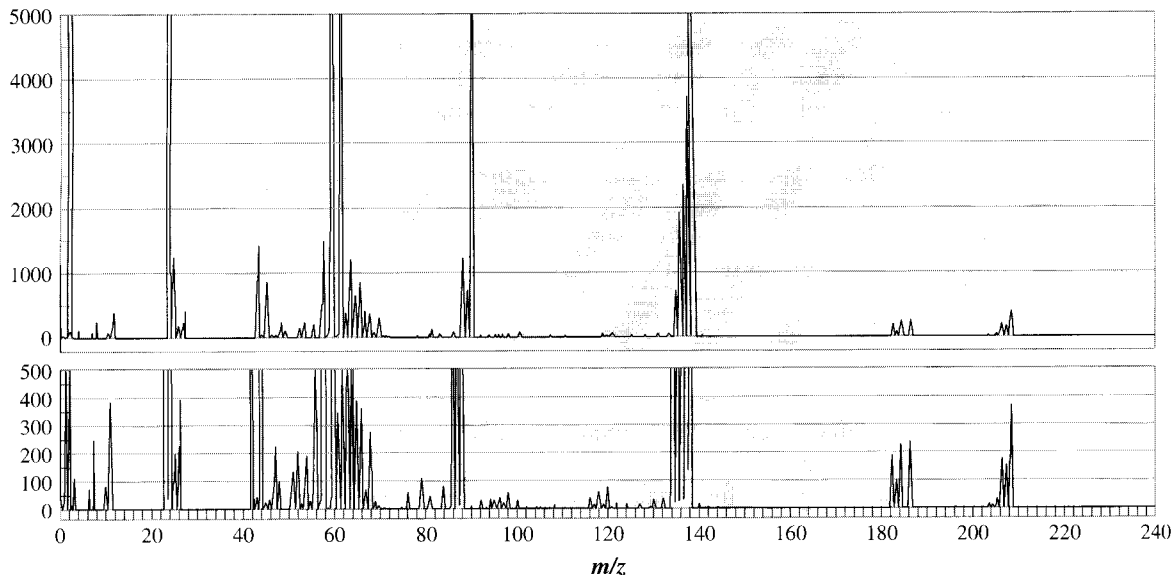


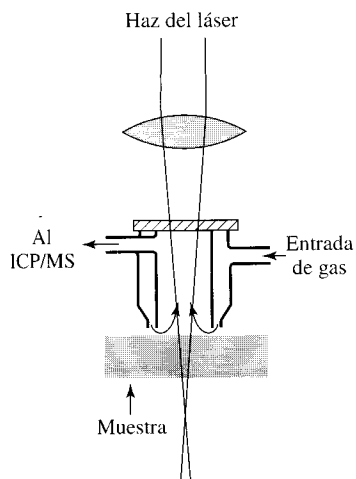
FIGURA 12.19 ▲
Un espectro de ICP-MS de mezcla de iones.

Se muestran en dos escalas diferentes para incluir el amplio intervalo dinámico de la técnica. En la escala mostrada, 3000 cuentas son aproximadamente 10 ppb de cada isótopo.

Un filtro de masas cuadrupolo tiene un poder de resolución adecuado para separar todos los elementos, y a pesar de su alto nivel de estabilidad, la precisión para ICP no es la adecuada para la mayoría de los análisis geológicos y de química nuclear de la relación de isótopos. Ello por una doble razón. En primer lugar, el ruido característico de un barrido cuadrupolo de masa es el mismo que cualquier barrido espectroscópico, el cual se muestra en la Figura 6.18 en la página 191. En segundo lugar, los efectos de discriminación de masas se encuentran presentes; lo que implica que algunos isótopos convergen en el espectrómetro de masas en mayores cantidades que otros. (Una razón para que se produzca la discriminación se debe a la carga de los iones y electrones en el plasma dentro del campo eléctrico que conduce sus movimientos, lo cual recibe el nombre de un efecto de espacio-carga.) No obstante, el empleo de un instrumento con selector magnético con múltiples detectores —más de siete en siete masas adyacentes—, incorpora los beneficios de la detección con multicanal a la espectrometría de masas. No sólo se puedan cuantificar mediante estándares los efectos de la discriminación de masas en la fuente de ionización, después de las correcciones; también el ICP-multicanal MS parece ser el mejor método para determinar la relación entre isótopos.

Fuentes de ionización basadas en láser pulsados

Dos fuentes de ionización diferentes utilizan láser pulsados para eliminar y evaporar las superficies de los sólidos. La **ablación por láser** se utiliza para sublimar muestras sólidas que son difíciles de digerir químicamente: cerámicas, vidrio y sustancias resistentes a los ácidos. Para lo cual, los análisis atómicos se llevan a cabo mediante espectrometría de masas después de obtener partículas generadas mediante láser pulsados y que son introducidas mediante un flujo de gas inerte dentro de una antorcha de plasma acoplada



◀ FIGURA 12.20

Diagrama de una celda de eliminación por láser.

La muestra a analizar se coloca bajo la celda de recogida con un pequeño espacio entre ellas de ($\sim 1/2$ mm). El láser es pulsado y la absorción de la luz calienta la superficie y elimina parte de la muestra. La cantidad que elimina depende de la longitud de onda, la potencia del láser, y la longitud del pulso, así como de las propiedades térmicas y ópticas de la muestra. El material eliminado en forma de pequeñas partículas se conduce hacia la antorcha de ICP mediante el flujo del portador tal y como se muestra. La antorcha de ICP atomiza e ioniza las partículas eliminadas del material. La celda y el láser se ajustan a una posición mientras que la muestra se arrastra entre los pulsos del láser. [Reproducido por cortesía de Cromwell, E. F., and Arrowsmith, P. 1995. *Anal. Chem.* 67, 131-138. Utilizado con permiso. Copyright 1995 American Chemical Society.]

inductivamente. La ablación por láser ICP se utiliza para análisis de elementos, normalmente con un filtro de masas cuadrupolar. Una indicación de su uso se muestra en la Fig. 12.20. La resolución espacial se puede obtener mediante el rastreo del haz del láser. El método se puede caracterizar como semicuantitativo, con un $\pm 2\%$ RSD en el caso mejor y $\pm 10\%$ más frecuente. Parte de la razón es que la eficiencia depende de la reflectividad de la superficie y su rugosidad. Es necesario utilizar un estándar interno. Por ejemplo, para una roca o un cristal, a menudo se aplica el pico de silicio, elemento predominante. Como era de suponer, el material eliminado puede ser no representativo debido a los puntos de fusión y ebullición; los componentes de bajos puntos de fusión y ebullición se enriquecen. A menos que se quiera realizar un perfil de profundidad, se hace pasar una muestra a través del haz, dejando una trayectoria de huecos. Otros protocolos requieren solapamiento de huecos. Los huecos son del orden de unas $100 \mu\text{m}$ de diámetro.

Otra fuente de ionización con láser se vio en la Sección 12.8: ionización por desorción de la matriz asistida por láser (MALDI). El láser calienta la muestra que contiene el analito y los componentes de la matriz para producir los iones en fase gaseosa. Los espectros de masa MALDI son sensibles al método de formación de la matriz y a su composición. Tales diferencias se pueden apreciar en el espectro de masas de la Figura 12.21. Las condiciones diferentes se enumeran en el pie de la figura. La producción de los iones MALDI es, sin embargo, un arte. Los iones MALDI se producen con un pulso corto en tiempo (nanosegundos), y una fuente de ionización MALDI resulta excelente para combinarlos con un espectrómetro de tiempo-de-vuelo. Este método se designa con el acrónimo MALDI-TOF.

¿Por qué el espectrómetro de tiempo-de-vuelo se beneficia de pulsos cortos? Véase la página 561.

Bombardeo con átomos acelerados (FAB)

La evaporación es realmente una forma de proporcionar a las moléculas la energía necesaria para romper los enlaces entre los analitos y la matriz sin destruir los analitos. La energía puede suministrarse mediante átomos acelerados golpeando la muestra; en realidad, golpeando los fragmentos y moléculas de la muestra dentro de la fase gaseosa.

Las partículas volatilizadas son del tipo $(MH)^+$, M y $(M \text{ menos } H)^+$. Las moléculas neutras no se ven afectadas por el campo eléctrico; en cambio, los iones negativos o positivos se aceleran hacia el espectrómetro de masas. Este método de evaporación/ionización recibe el nombre de **bombardeo de átomos acelerados (FAB)**.

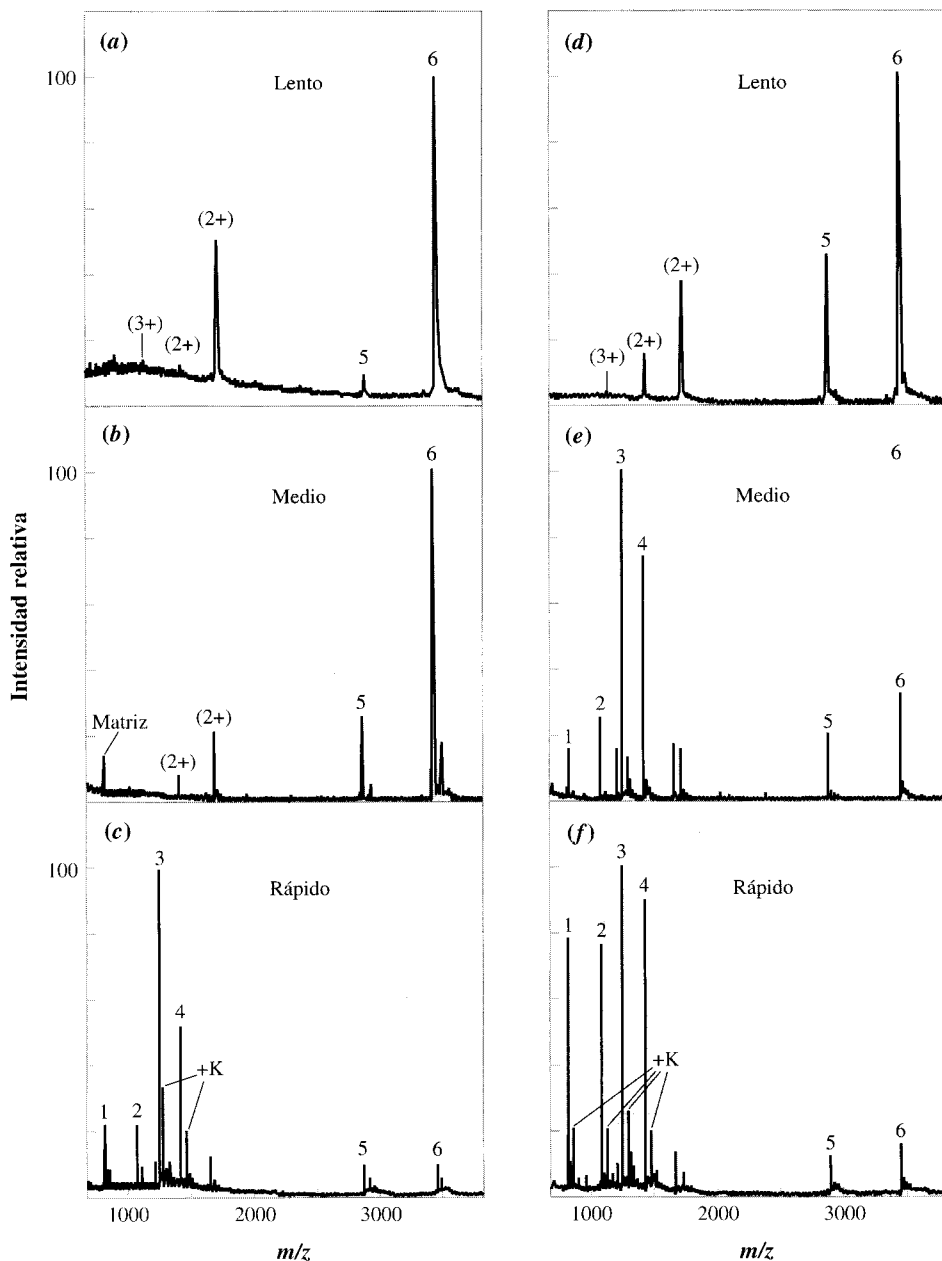


FIGURA 12.21 ▲

Exposición de la influencia de la composición de la matriz y las condiciones de formación en un espectro de masas MALDI de una proteína.

La proteína tiene un peso molecular conocido de 10826. Los picos (numerados del 1 al 6) son seis fragmentos diferentes protonados con un solo protón, los (+2) y (+3) son fragmentos protonados con varios protones, y el +K indica fragmentos con potasio, de peso atómico 39.

El experimento se lleva a cabo de la siguiente manera. Parte de la muestra se rompió mediante proteólisis utilizando una enzima que corta los residuos de glutamato. La digestión se cristalizó en dos diferentes matrices, cada una, a su vez, en tres modos diferentes. Los espectros de masas se realizan de la misma manera. [Láser itrio-aluminio-rubi (YAG) dopado con Nd a 355 nm con pulsos de 10 ns a 150 disparos min^{-1} , con 100-200 disparos para recoger cada espectro medido en un espectrómetro de tiempo-de-vuelo.] Los tiempos de cristalización fueron: lento —de 8 a 12 horas—; medio —algunos minutos—; rápido —menos de 12 segundos a vacío—. Las dos disoluciones diferentes fueron: **(la de la izquierda)** ácido 4-hidroxy- α -cianocinámico saturado (29 mM) en ácido fórmico:agua:propanol 1:3:2 (v/v/v); **(la de la derecha)** ácido 4-hidroxy- α -cianocinámico saturado (74 mM) en agua:propanol 2:1 (v/v). [Ref.: Reproducido con permiso de Cohen, S. L.; Chait, B. T. 1996 *Anal. Chem.* **68**(1) 31-37. Copyright 1996 American Chemical Society.]

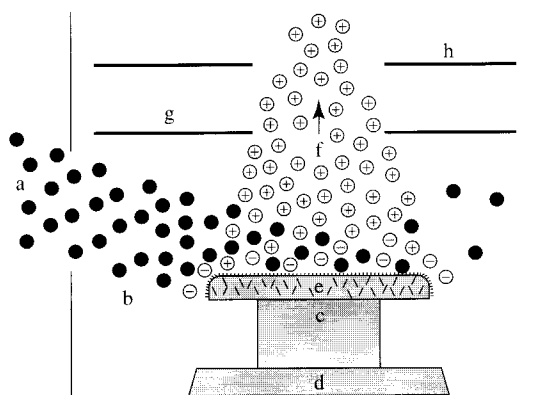


FIGURA 12.22 ▲
Diagrama de la operación de una fuente de ionización de bombardeo con átomos acelerados.

Los átomos tienen una energía cinética dentro de un intervalo desde 3 hasta 10 keV e incide en la muestra con un ángulo de 20° desde el paralelo hacia la superficie. Las características son: (a) el bombardeador de átomos; (b) el haz de átomos; (c) el compartimento de metal de la muestra; (d) el extremo de analizador que se utiliza para introducir la muestra en la cámara; (e) la muestra en disolvente de baja volatilidad; (f) los iones de la muestra conducidos desde la superficie; (g) el plato de extracción de iones que se encuentra cargado para seleccionar los iones positivos para el posterior análisis de masas; y (h) sistema de lentes para guiar a los iones hacia el analizador de masas. [Ref.: Barber, M., Bordoli, R. S., Elliott, G. J., Sedgwick, R. D., Tyler, A. N. 1982. *Anal. Chem.* 54, 645A-657A. Reproducido con permiso del *Analytical Chemistry*. Copyright 1982 American Chemical Society.]

Un esquema de una fuente de ionización FAB se muestra en la Figura 12.22. La fuente de ionización de átomos de argón acelerados opera mediante átomos ionizados de argón acelerados a través de un potencial eléctrico desde 3 a 10 kV. Secuencialmente, los iones de elevada velocidad (E_k 3-10 keV) se neutralizan para volver a formar átomos para dirigirlos hacia un punto del analito. Dicho haz de átomos de argón incide en la muestra con un ángulo de 20° desde el paralelo hacia la superficie. La interacción de los átomos con la muestra genera iones positivos y negativos, moléculas neutras y fragmentos de la muestra. Dependiendo de la polaridad del potencial acelerador, los iones de una u otra carga se conducen hacia el analizador de masas. La muestra puede ser un sólido, pero para obtener una mayor estabilidad, se debe disolver la muestra sólida en un disolvente de baja presión de vapor. El glicerol es un buen disolvente para este fin. Las moléculas de la muestra aparentemente surgen de la capa superficial de un líquido. Junto con las moléculas del analito, se volatilizan también las moléculas de la matriz. Los iones de los componentes de la matriz producen interferencias de fondo, pero la masa más elevada es la del disolvente.

Desorción/ionización por impacto iónico: desorción de plasma, descarga luminiscente, propulsión de partículas neutras

Una técnica profundamente ligada al FAB incluye ionización y evaporación por bombardeo sobre la muestra, pero no con átomos, sino con iones. Los iones eliminados son introducidos dentro del espectrómetro. En general, los resultados son similares a los obtenidos por espectro de masas con bombardeo atómico.

Existen tres tipos diferentes de fuentes de ionización de bombardeo. Uno de ellos tiene los iones focalizados como un haz que golpea sobre un pequeño punto, como se vio

en la Sección 12.9 (SIMS). El segundo utiliza un plasma generado sobre la superficie del analito, que, en las condiciones presentes, acelera los iones del plasma hasta que éstos impactan sobre la superficie para evaporar e ionizar el material. Véase la Figura 12.23. El plasma se produce mediante un potencial de radiofrecuencia y tiene una visible descarga luminosa. Esta propiedad de la fuente de ionización MS recibe el nombre de **descarga luminiscente**. El proceso de proyección se puede denominar como **desorber** materiales en la superficie, recibiendo el nombre de **desorción de plasma**. Estos nombres se utilizan indistintamente. El tercer tipo general de fuente de ionización por proyección también produce la desorción de plasma. El proceso ocurre cuando las partículas α de emisores α radiactivos impactan sobre la superficie.

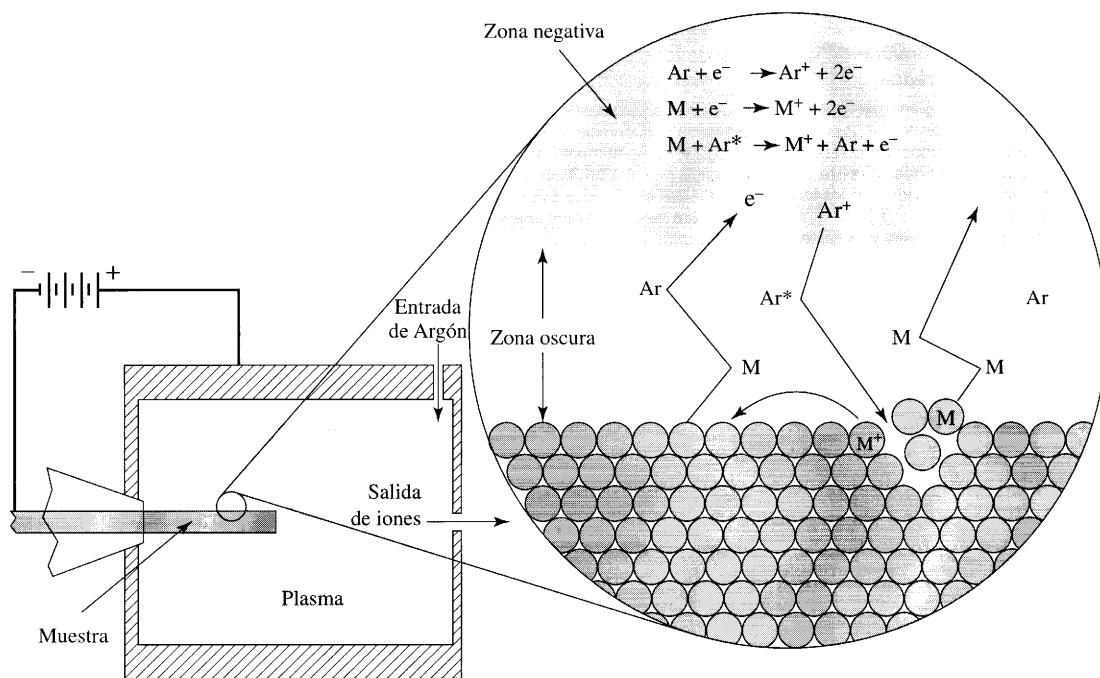


FIGURA 12.23 ▲

Diagrama de una fuente de ionización de descarga luminiscente y de la química de proyección.

En la fuente de ionización, la presión del gas es de 0,1-10 torr, y con muestras conductoras (metales y semiconductores) la potencia consumida a potencial CC de 100-1000 V es de 5-10 vatios. Si la muestra es un aislante, la potencia de la radiofrecuencia puede inducir el potencial necesario en la superficie de la muestra.

El mecanismo de la acción se encuentra muy bien establecido. El plasma resulta de una descarga donde los electrones emergen de la superficie y excitan e ionizan los átomos por colisión de la región adyacente. La **zona oscura** existe debido a la alta energía de los electrones que no producen iones. Sin embargo, después de unas pocas colisiones en la zona oscura, los electrones se deceleran lo suficiente para interaccionar y producir plasma luminoso. En el plasma, el argón y los átomos del analito se ionizan. La ionización se produce mediante dos mecanismos generales como se muestra: el impacto electrónico es directo, y la **ionización Penning** se produce mediante la interacción entre los átomos de argón excitados con el metal.

La caída del potencial a través de la región entre los electrodos ocurre casi por completo en la zona oscura. Esta característica aumenta debido a que el plasma, con su región de iones libres y electrones, tiene una baja resistencia. Sólo para dos resistencias en serie, el alto potencial cae a través de la alta resistencia. El potencial, a través de la zona oscura, acelera los iones de argón en el plasma hasta que éstos impactan contra la superficie. Entonces los iones de argón poseen energía suficiente para proyectar a los electrones. Se forma una pequeña porción de iones durante el proceso de proyección (de lo contrario SIMS no sería posible), pero, en este caso, se capturan mediante el campo eléctrico y se vuelven a depositar sobre la superficie.

Como para una fuente de ionización que no se encuentra a vacío, los iones producidos entran en el analizador de masas a través de una interfase que fracciona el material, eliminando parte del fondo y, por tanto, enriqueciéndose del analito.

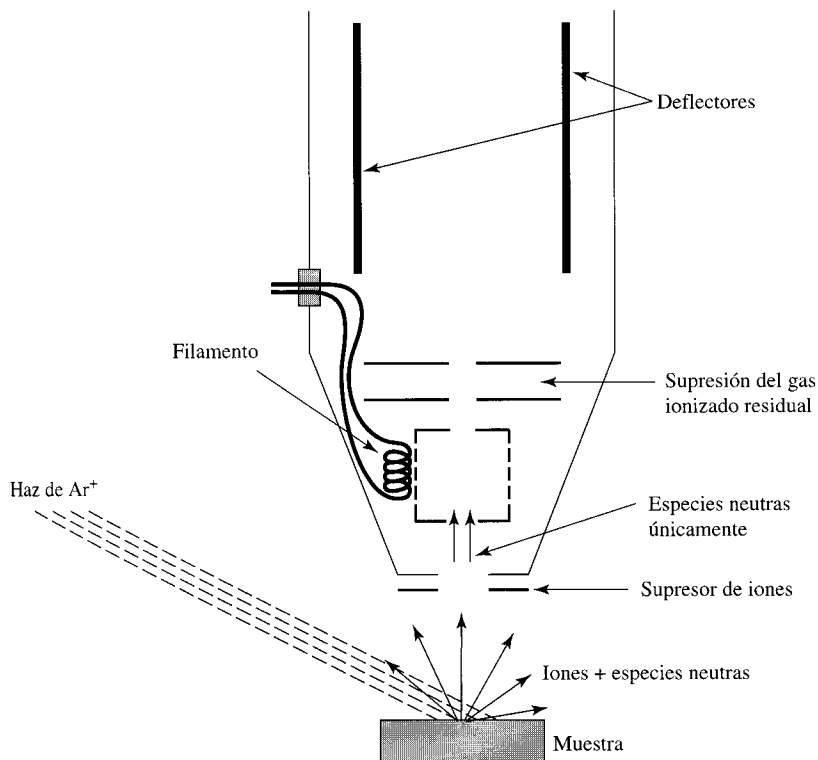
Experimentalmente, estas fuentes de ionización difieren significativamente. Si embargo, todas tienen en común sus mecanismos químicos: la formación de iones tiene lugar en el proceso evaporación, aunque todavía se discuten algunos detalles del proceso. Lo que se conoce es que el ángulo con el que los iones golpean la superficie afecta significativamente al conjunto de iones secundarios y que los componentes de la matriz también tienen una gran influencia.

Existe una diferencia significativa entre los métodos de bombardeo de un haz de iones o electrones y de descarga luminiscente: en el primer método el ángulo de impacto con la superficie y la energía del ion primario son controlables, mientras que para la descarga luminiscente, no se pueden controlar. Además, el haz de iones se puede aplicar para la detección del área de distribución de los elementos barriendo la superficie, como se describió en la Sección 12.9. La descarga luminiscente se puede calibrar para producir una resolución de profundidad limitada, debida a la heterogeneidad de la superficie.

El proceso de ionización que tiene lugar durante la proyección es extremadamente sensible a la composición de la superficie y a la química que se produce inmediatamente encima de ella. Como resultado, la eficiencia de ionización no se puede calibrar con seguridad. Para obtener una mejor cuantificación, las especies neutras que son proyectadas de la superficie pueden ionizarse separadamente de la fuente iónica por espectrometría de masas con proyección de especies neutras (SNMS). Véase la Figura 12.24. Se trata todavía de un método que depende de la proyección.

Los métodos de bombardeo de iones se pueden aplicar desde medidas de macro hasta de ultratrazas, y la muestra puede ser un sólido conductor o aislante. Los sólidos aislantes necesitan analizarse en condiciones que eviten un aumento de carga electrostática sobre sus superficies.

La fuente iónica para EPMN se describió en la Sección 12.9.



◀ FIGURA 12.24
La región interna de una fuente de ionización de espectrometría de masas mediante proyección de especies neutras.

En esta fuente de ionización, un haz de iones golpea el objetivo oblicuamente y las especies neutras y unos pocos iones se proyectan desde la superficie. Los iones son repelidos mediante un campo eléctrico antes de entrar en el analizador de masas, y las especies neutras se ionizan por ionización eléctrica. Los gases residuales de baja masa que se han ionizado se eliminan mediante otro campo electrostático y los iones se dirigen a un selector de velocidad que permite sólo la entrada a los iones que posean una energía térmica que caiga dentro del estrecho intervalo, para su posterior entrada en el selector de masas. Este intervalo limitante de energías cinéticas resulta mayor en la resolución de masas. [Ref.: Figura reproducida de Colligon, J. S., Kheyrandish, H., Walls, J. M., Wolstenholme, J. 1991. *Thin Solid Films*. 200, 293-300.]

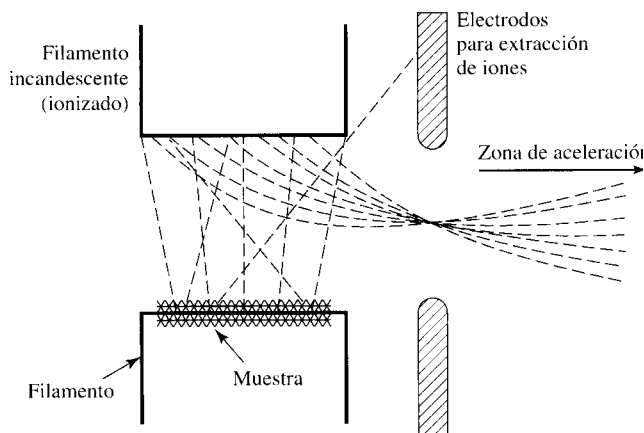


FIGURA 12.25 ►
Diagrama de una fuente de ionización térmica.

La muestra se evapora mediante un filamento caliente y parte del material se ioniza en el filamento incandescente. Los iones de carga sencilla se extraen a la región de aceleración y de allí al analizador de masas.

Ionización térmica

La ionización térmica (TI) es un método antiguo que se utilizó por primera vez hace 70 años. Ahora se aplica principalmente en campos de la geología y en química nuclear para obtener la relación exacta entre isótopos. Como se muestra en la Figura 12.25, el calor de la fuente de ionización se debe a dos filamentos separados una distancia de 1 mm. Los filamentos son de alambre de renio de alta pureza de fino espesor. La operación para los elementos de los grupos IA y IIA es relativamente sencilla. Una pequeña gota de la disolución de la sal para analizar, se seca sobre un filamento liso. Una vez evacuado el compartimento de la fuente de ionización, el filamento recubierto se calienta suavemente mientras el filamento adyacente se calienta hasta la incandescencia. Como se indica en la Figura, los átomos de la sal se desorben del primer filamento, se ionizan en el segundo, más caliente, y se aceleran hacia el analizador de masas. Para otros elementos, se adhiere un fino polvo de sílice al filamento, la disolución de la sal se seca sobre la superficie, y se cubre el extremo con una fina capa de ácido fosfórico de alta pureza. La operación siguiente es la misma para los elementos de los grupos IA y IIA. Las desviaciones estándares relativas de las medidas de abundancia que utiliza el TI, dependen del analizador de masas, pero se encuentran dentro del intervalo 0,1%-0,5%. Éste ha sido el método elegido para el análisis de isótopos desde hace décadas. Como se ha indicado anteriormente, ahora se está sustituyendo por las fuentes de ionización de ICP unido con un selector discriminatorio de masa que tiene detección multicanal. La detección multicanal permite una corrección para la baja estabilidad de la antorcha de ICP debida a la ionización térmica.

12.11. Analizadores de masas para espectrometría de masas

El objetivo de un analizador de masas es limitar los iones que llegan al detector permitiendo que lo hagan aquellos que posean un estrecho intervalo de masas. Como el detector no discrimina las masas, el poder de resolución del espectrómetro de masas es, en gran parte, debido a las prestaciones de su analizador de masas. Con el fin de aumentar la sensibilidad, los instrumentos se diseñan de modo que un gran número de iones que emergen desde la fuente de ionización pasen a través del detector; se maximiza el **muestreo**.

Los iones son focalizados en el mismo sentido que la luz es focalizada en una pequeña área. La ciencia de diseño de analizadores de masas para maximizar su poder de resolución y su sensibilidad, mediante iones focalizados, forma parte de la **óptica de iones**.

La mayoría de los espectrómetros de masas contienen seis tipos de analizadores de masas: sector magnético, doble sector magnético (doble enfoque), filtro cuadrupolo, trampa de cuadrupolo, tiempo-de-vuelo y ciclotrón iónico (transformada de Fourier). A continuación se describen en el mismo orden.

Sector magnético

Cuando un ion en movimiento pasa perpendicularmente a través de un campo magnético, se desvía de su trayectoria original. Si un ion de masa m y carga z se acelera mediante un potencial V , y la fuerza del campo magnético es B , la trayectoria que la partícula sigue mientras el campo magnético traza sectores circulares de radio,

$$r = \left(\frac{1}{B}\right) \left(2V\frac{m}{z}\right)^{1/2} \quad (12-6)$$

El comportamiento se aplica en un analizador de masas con sector magnético. El detector y la rendija de salida se colocan en posiciones tales como las mostradas en la Figura 12.26. Lo más usual es que el potencial de aceleración V se mantenga constante. De modo que, para un determinado r (requerido por la geometría), la magnitud de B determina la masa de los iones que alcanzan al detector. Se obtiene el espectro de masas mediante el barrido de B . Los iones con masas diferentes de las focalizadas se pierden por colisión con la superficie del aparato y las láminas de la rendija.

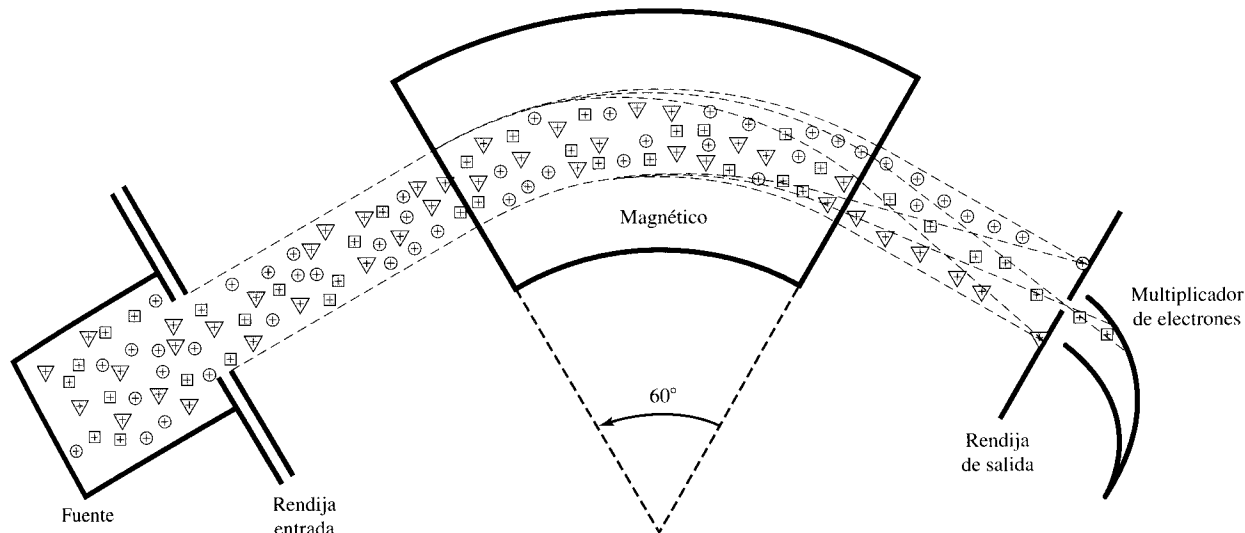


FIGURA 12.26 ▲

Diagrama de la utilización de un analizador de masas con un sector magnético.

La velocidad de los iones a través del campo magnético entre las láminas de metal magnético depende de sus masas. Sólo un intervalo estrecho de masas puede incidir en el transductor, habiendo seleccionado las dimensiones de la rendija con precisión. La teoría y la práctica de la óptica de iones nos muestra que si el ángulo del sector es de unos 60° (la forma de los bordes tienen cierto efecto) y si las trayectorias de los iones son perpendiculares al extremo de la lámina magnética próxima a la fuente de ionización, entonces los iones de igual m/z focalizan juntos en un punto. Por tanto, además de separar masas, la placa magnética es una lente de iones.

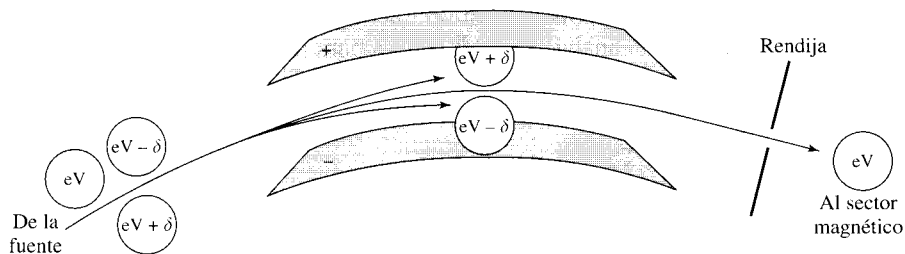


FIGURA 12.27 ▲

Exposición de la forma de trabajo de un filtro de energía electrostática.

Las dos láminas del sistema se encuentran completamente pulidas y con la forma adecuada para formar un sector con dos cilindros coaxiales. El movimiento de los iones a través del sistema se filtra mediante el haz (y golpean algunos en determinadas superficies del instrumento) hasta que sus energía cinética cae dentro del intervalo estrecho. La selectividad depende del potencial a través de las láminas, de su geometría, y de la posición dentro de él y las dimensiones de la rendija. La manera con que este filtro aumenta la resolución es estrechando el intervalo de las energías de los iones que se aceleran desde la fuente de ionización.

Doble sector magnético

Como se describió en la Sección 12.10, los iones emergentes de la fuente de ionización aparecen con una distribución de energías cinéticas en función de la temperatura. Esta variedad de energías degrada el poder de resolución del espectrómetro porque, para un determinado r en la Ecuación 12-6, las variaciones en la velocidad hacen que los iones con igual relación m/z alcancen el detector por encima del intervalo de B .

Para limitar esta variedad de energías iónicas, el haz de iones se pasa a través de un filtro de energías y una segunda rendija. El filtro de energías se construye con dos electrodos que son a su vez dos sectores de cilindros concéntricos, como se aprecia en la Figura 12.27. Sólo los iones con un intervalo estrecho de energías cinéticas pueden pasar a través del filtro y, por consiguiente, atraviesan el segundo sector magnético. Esta energía focalizada puede, en el mejor de los casos, aumentar el poder de resolución de un doble sector magnético hasta valores mayores de 100000.

Filtro de masas de cuadrupolo

El filtro de masas de cuadrupolo opera sin las láminas magnéticas. La separación se realiza mediante los efectos de un campo eléctrico variable con el tiempo. Como se muestra en la Figura 12.28, el filtro de masas se construye a partir de cuatro barras metálicas esmeriladas con precisión alineadas paralelas entre sí. Se aplica un potencial de CC a dichas placas en las zonas indicadas en la figura, y entonces las placas diagonalmente opuestas tienen el mismo potencial.

El haz de iones que atraviesan desde la fuente este conjunto de barras, pasa a través del centro del mismo. Como el potencial a través de dichas barras es constante, no tiene ningún efecto en el movimiento de los iones a lo largo de las piezas. Además, si sólo el campo CC cuadrupolar estático estuviese presente, los iones podrían dirigirse fuera del centro hasta colisionar con las barras de cargas opuestas.

No obstante, los inventores de este método fueron muy listos. Una radiofrecuencia con potencial CA se superpone sobre el campo CC cuadrupolar estático. Cuando los iones se encuentran a punto de colisionar con las barras, el campo debido a CA los aleja. Esto se hace de tal modo que los iones se dirigen a lo largo de las piezas realizando oscilaciones completas. La trayectoria es única para cada relación m/z . Por tanto, sólo un intervalo estrecho de m/z puede pasar a un mismo tiempo a través del filtro del transductor.

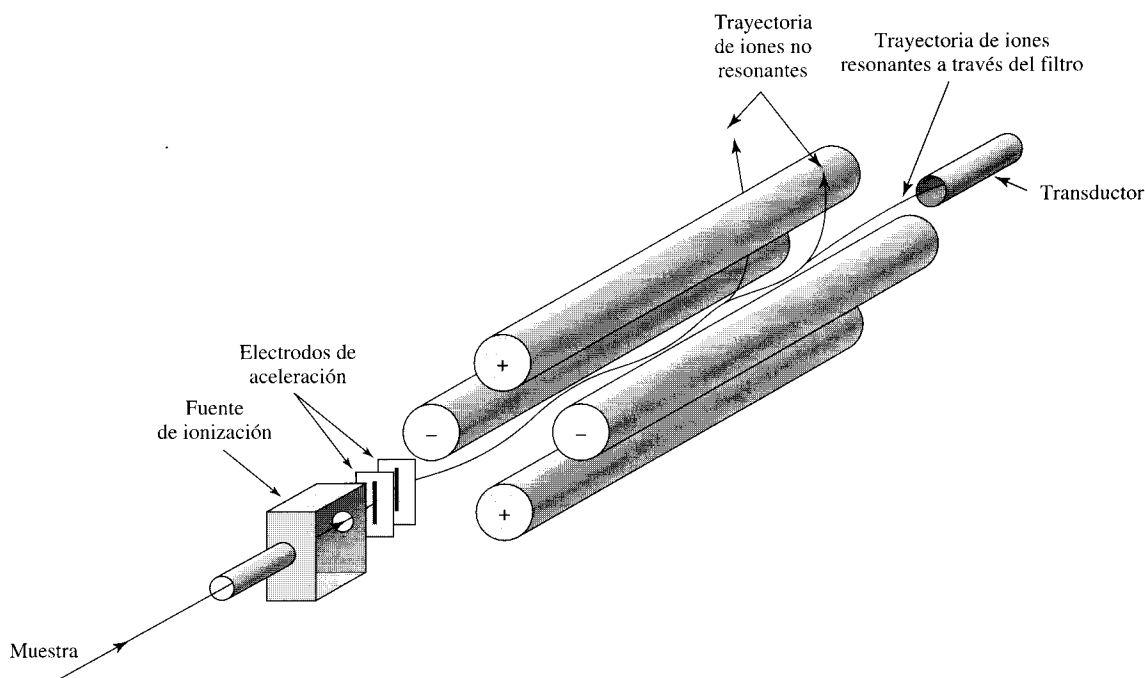


FIGURA 12.28

Diagrama de la estructura y utilización de un filtro de masas de cuadrupolo.

La combinación de campos CC y CA permite que sólo iones con m/z específicas pasen a través del detector/transductor. Los demás toman otra trayectoria, como las mostradas. Los cilindros positivos y negativos del cuadrupolo siempre mantienen la carga de la polaridad mostrada.

La trayectoria de un ion con m/z depende de los siguientes factores. En lugar de atravesar el filtro, cada vez que se aproxima a un electrodo cargado, un campo eléctrico presente lo aleja, ya que colisionaría contra el electrodo y se pegaría a él. Por tanto, debe existir una coordinación entre el tiempo de aplicación del potencial CA y el tiempo de llegada de los iones a las cercanías de las piezas. Pero el tiempo de llegada de los iones desde la región previa depende de la velocidad del ion en la distancia fijada entre piezas. El campo CA imparte la misma energía cinética a cada ion (monovalente). Pero, como $E_k = 1/2 mv^2$, la velocidad depende de la masa del ion: $v = (2E_k/m)^{1/2}$. Por tanto, sólo un pequeño intervalo de masas con su velocidad y trayectoria compatibles con los campos repulsivos pueden pasar a través del filtro a la vez. El resto colisiona con la superficie de las piezas o vuelan entre ellas.

La frecuencia de la CA se mantiene constante durante el barrido. ¿Cómo se puede, entonces, obtener un espectro de masas con un instrumento cuadrupolar? Esto se hace cambiando los potenciales CC y CA simultáneamente mientras se mantiene constante la relación de los potenciales. Cuanto más elevado es el potencial, mayor es la fuerza alternante que repele al ion de m/z más alto y le permite el paso a través del filtro de masas.

El cuadrupolo puede utilizarse como región de colisiones en MS/MS, pero el protocolo de potenciales difiere mucho del utilizado en un filtro de masas. Para colisiones, sólo un determinado potencial para una radiofrecuencia es situado en el cuadrupolo: los componentes de CC se apagan. El potencial RF guía a los iones en su trayectoria oscilante a lo largo de los ejes del cuadrupolo, donde no hay selectividad para las masas. Esta propagación en presencia de un gas de colisión produce baja energía (unos pocos cientos de keV) de fragmentación en medio del sector MS/MS de filtro cuadrupolo. Hasta un



Los electrodos de una trampa cuadrupolar.

90% de los iones que entran y sus fragmentos pueden propagarse. De este modo, recibe el nombre de **cuadrupolo de ion guía**.

Trampa de cuadrupolo de iones

La trampa de cuadrupolo de iones puede acumular iones de un amplio intervalo de m/z debido al movimiento en trayectorias determinadas entre electrodos en forma de anillos y dos láminas separadas. Véase la Figura 12.29. Las trampas de iones pueden acumular iones cuyas masas se extienden a lo largo de varios miles de unidades de m/z simultáneamente.

Los detalles del potencial y las frecuencias de RF para mantenerlos son bastante complejos. Sin embargo, los movimientos de los iones se pueden describir de forma más sencilla. Véase la Figura 12.30. Se empuja a los iones hacia el anillo ecuatorial, e, inmediatamente antes que colisionen con él, el potencial cambia de signo y los iones son repelidos del anillo, y así sucesivamente. La alternancia de potenciales de atracción y repulsión crea movimientos similares entre las dos capas. Los movimientos axiales (entre las capas) y ecuatoriales (en el plano del anillo) son independientes. El potencial varía en frecuencias de MHz para atrapar iones.

Los iones de una masa específica se proyectan para su detección por incremento del campo de radiofrecuencia en dirección a los extremos de las láminas de modo que se aceleren hacia la capa aquellos que tengan una m/z determinada. Los iones que avanzan a través de la apertura central golpean dentro del detector.

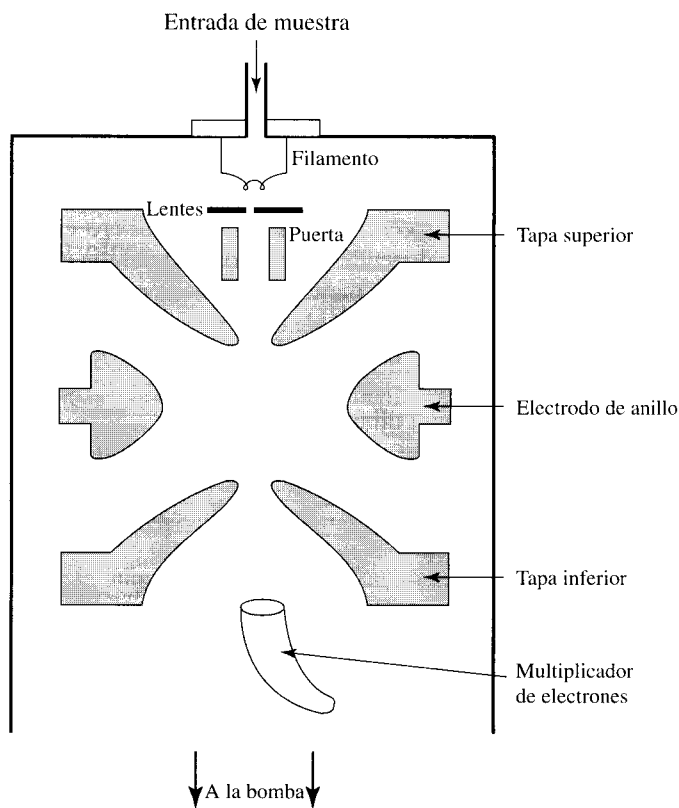


FIGURA 12.29
Sección trasversal de una trampa cuadrupolo de iones de cuadrupolo común.

El espacio entre los electrodos está exagerado. El anillo del electrodo es una sencilla pieza que permanece centrada entre las dos capas de los extremos que tienen sendos agujeros en sus centros. La muestra se inyecta en uno de los extremos y los iones específicos se proyectan hacia el lado opuesto hacia dentro del detector. El detector en forma de cuerno produce una corriente amplificada de electrones cada vez que un ion impacta dentro de su superficie.

[Ref.: Modificado con permiso de Niessen y van der Greef, 1992. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, New York: Marcel Dekker, 1992.]

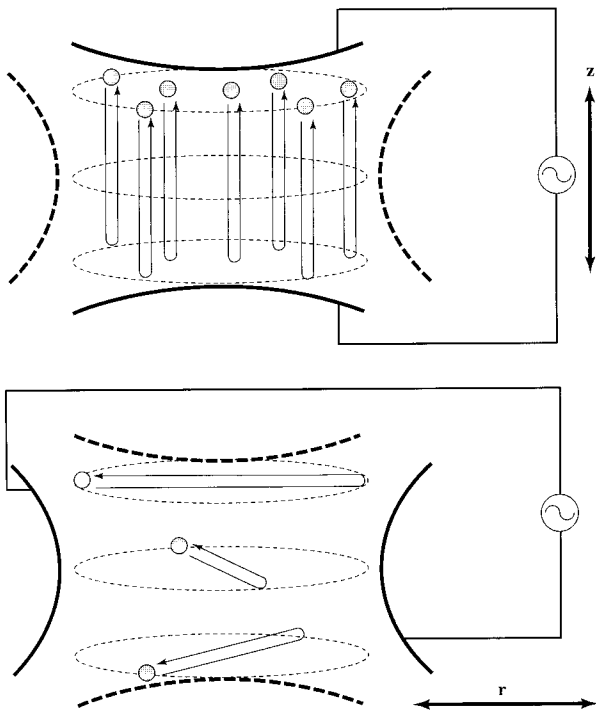


FIGURA 12.30

Diagrama de la utilización de un espectrómetro de masas de trampa de iones.

El control de los movimientos de los iones depende de la inversión de los campos eléctricos a una frecuencia que repele a los iones a su lugar de partida, y, además, los repele entre los electrodos de los extremos. **(Parte superior)** Los iones se encuentran atrapados en la dirección del eje z (axial) por oscilaciones del campo eléctrico en las **capas de los extremos**. Los iones se aceleran desde una de las capas, pero antes de colisionar contra la opuesta, el campo cambia de signo y los acelera en sentido contrario. **(Parte inferior)** Los iones se encuentran atrapados en la dirección del eje r (ecuatorial) por oscilaciones del campo eléctrico de un **electrodo en forma de anillo** de manera similar. Los movimientos en las direcciones r y z son independientes entre sí. La frecuencia se encuentra en un intervalo en MHz.

La principal debilidad de las trampas de iones son las interacciones entre los iones acumulados a través de interacciones carga-carga que perturban las trayectorias. Este efecto —**límite de espacio de carga**— restringe la precisión de las medidas de m/z y también la concentración de iones que se pueden controlar y medir de forma precisa. El intervalo (de concentraciones) dinámico de trampa de iones permanece por debajo que los selectores de masas de tipo de transferencia. Su ventaja: la capacidad de retener a los iones dentro de la trampa permite obtener grandes conjuntos de iones hijos para MS/MS. En general, se transforman más de un 10% de los iones de partida, lo cual es 1 a 3 órdenes de magnitud mayores que lo obtenido en instrumentos de transmisión.

En la trampa, la presión es alta para una escala de espectrógrafo de masas: helio a unas 10^{-3} torr. El helio del **baño de gas** enfría a los iones y los mantiene más focalizados en el centro de la trampa, lo que produce colisiones que se utilizarán para la fragmentación MS/MS. La presión «alta» también hace a las trampas de iones más compatibles con los fuentes de ionización de alta presión, tales como las fuentes de descarga luminosa y las interfases LC/MS.

Tiempo de vuelo (TOF)

Los espectrómetro de masas de tiempo-de-vuelo también separan masas sin un campo magnético. La manera que un TOF discrimina la masa se muestra en la Figura 12.31. Funciona, en esencia, obteniendo ventajas de las diferentes velocidades de los iones acelerados mediante un mismo potencial V . Exactamente como un filtro de masas cuadrupolar, $E = zV = 1/2 mv^2$. Las velocidades de los iones depende de su masa y de su carga.

$$v = \left(\frac{2Ve_z}{m} \right)^{1/2} \quad (12-7)$$



Wolfgang Paul, inventor de la trampa de iones cuadrupolar.

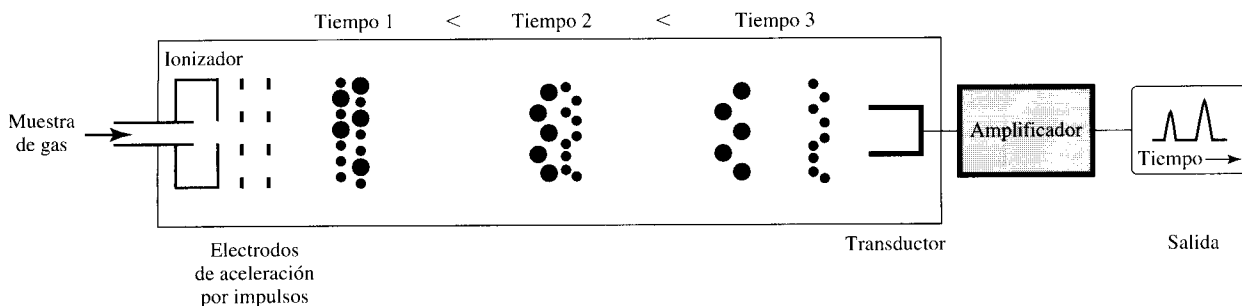


FIGURA 12.31 ▲
Diagrama de la utilización del espectrómetro de masas de tiempo-de-vuelo.

Se ionizan moléculas o átomos en la fuente de ionización a la izquierda y se extraen y se aceleran mediante pulsos de potencial sobre la zona de aceleración, por donde entran los iones en el tubo decelerador. Los iones (suponiendo que sean de carga sencilla y con diferentes cargas, como se indica mediante las diferentes dimensiones de los círculos pintados) se separan a medida que bajan al tubo de vacío. El detector y el amplificador deben operar a una elevada velocidad (y en períodos cortos pero constantes) para detectar las masas individuales que llegan por el extremo derecho del tubo.

La física de la separación es sencilla. Si los iones de masa diferentes se aceleran a través del potencial y entonces se les permite pasar a través de un tubo de alto vacío de longitud L , no todos llegarán al extremo contrario a la vez. Cuando $L = vt$,

$$t = L \cdot \left(\frac{2Ve_z}{m} \right)^{-1/2} \quad (12-8)$$

A los típicos valores de L (1-2 m) y V (10-20 kV), t cae en el intervalo de las décadas de microsegundos. Durante su aplicación, se aceleran los analitos ionizados mediante pequeños impulsos de menos de 10 nanosegundos de duración. El poder de resolución del instrumento aumenta directamente y depende de la longitud y de la magnitud de los impulsos. Esto es, un impulso largo produce una corriente larga de iones. Cuando se determinan la longitud de la trayectoria y la frecuencia del tránsito, una corriente larga de iones de masas diferentes solapan más en espacio y tiempo, y no se separan bien. La resolución disminuye. Utilizando los últimos avances TOF, el poder de resolución puede llegar a un valor de 10000 para una masa de 1000 u .

Actualmente se están reemplazando los espectrómetros TOF de trayectoria directa por espectrómetros TOF que provocan la reflexión de los iones empleando un **espejo de iones**. Este instrumental recibe el nombre de espectrómetro de **TOF reflexivo**. Véase la Figura 12.32. Después de atravesar aproximadamente un metro de la longitud de la trayectoria, los iones entran en el reflexivo electrostático. Simplificando términos, los iones más rápidos penetran más profundamente en esta región que los iones más lentos que les siguen. Como resultado, los iones rápidos y los lentos de igual masa pueden llegar al detector prácticamente juntos. Tan sólo para una trayectoria sin reflexión, el tiempo de tránsito desde el comienzo hasta la aceleración depende de la relación m/z de los iones. Hay algunas curvas en la trayectoria que permiten a los iones ópticos reducir su largo fondo en fuentes de ionización tales como el MALDI. El poder de resolución para estos instrumentos reflexivos suele oscilar entre los 5000 y 10000 para masas de 5000 u .

Normalmente, el aumento del poder de resolución con el TDF reflexivo comparado con instrumentos de trayectoria recta es a costa de tener una baja sensibilidad. Pocos iones que abandonan la fuente consiguen llegar al detector. Como resultado, los datos pueden necesitar recogerse durante períodos largos de tiempo para obtener una S/R satisfactoria.

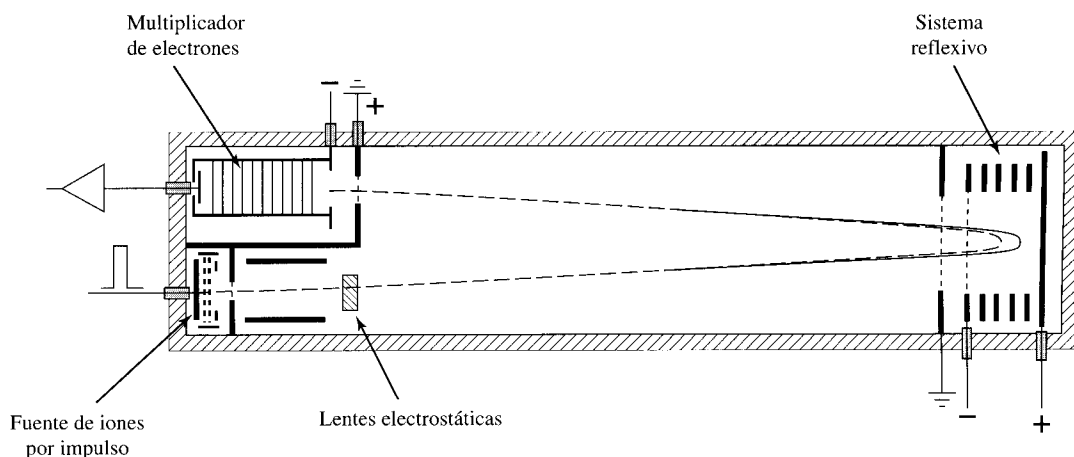


FIGURA 12.32 ▲

Diagrama de utilización de un espectrómetro de masas con TDF reflexivo.

Se impulsa un grupo de iones fuera de la fuente de ionización y se conduce hacia la región de reflexión. Los iones más rápidos de *cada masa* penetran más profundamente (línea continua) que los más lentos (línea discontinua) que viajan a lo largo de la trayectoria. Las dimensiones del sistema y los potenciales de reflexión óptica se eligen para que los iones más lentos y los más rápidos de la misma masa lleguen lo más próximos posible. La resolución se ve claramente incrementada. Las correcciones hechas mediante la reflexión no afectan a los tiempos de vuelo como los dados por la ecuación del texto. [Ref.: Modificado de Mamyryn, B. A., Karataev, V. I., Shmikk, D. V., Zagulin, V. A. 1973. *Sov. Phys. JETP*. 37(1), 45-48. Utilizado con permiso del American Institute of Physics.]

Espectrometría de masas por transformada de Fourier (resonancia iónica de ciclotrón por transformada de Fourier)

La base de la separación por espectrometría de masas con transformación de Fourier (FTMS, FT-MS) es la frecuencia con que un ion se mueve describiendo órbitas circulares en un campo magnético. Ésta es la **frecuencia del ciclotrón** $f_c = \omega_c/2\pi$ y se describe como:

$$f_c = \frac{e B z}{2\pi m} \quad (12-9)$$

donde:

f_c está en Hz,

B (el campo magnético) está en tesla,

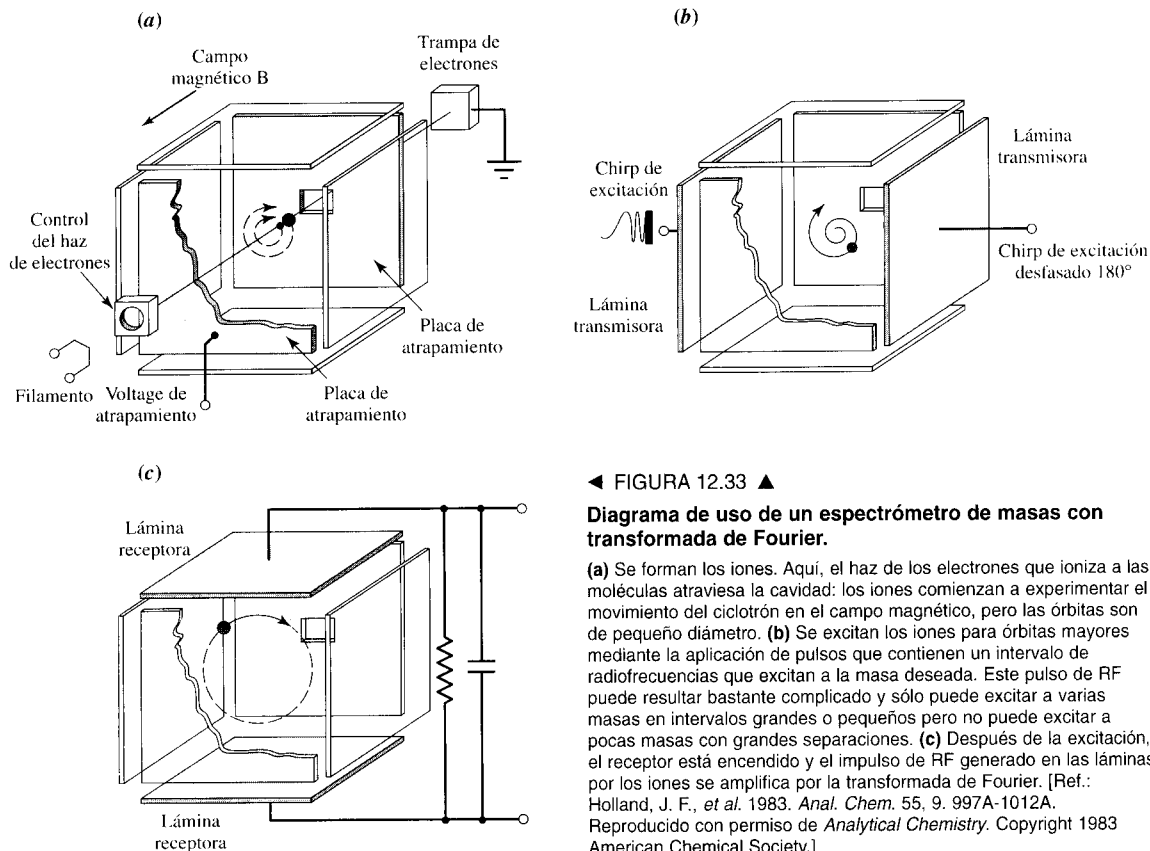
e es la carga del electrón en culombios,

m es la masa en kg, y

z es un número adimensional que equivale a la carga del ion.

La relación m/z depende de la frecuencia del ciclotrón, y aparece explícitamente en la ecuación. La frecuencia de la órbita está fijada, pero el radio aumenta como la energía cinética para cada ion.

Como se aprecia en la Figura 12.33, el analizador de masas está diseñado para dar cabida a un volumen limitado por seis láminas conductoras de geometría cúbica. La celda, de unos 10 cm de lado, se encuentra a vacío de unos 10^{-8} torr o a una presión menor. La dirección del campo magnético se indica en la figura. Las láminas magnéticas tiene un campo de 3-10 tesla que son los más utilizados, pero el típico es el de 4,7 T.



◀ FIGURA 12.33 ▶

Diagrama de uso de un espectrómetro de masas con transformada de Fourier.

(a) Se forman los iones. Aquí, el haz de los electrones que ioniza a las moléculas atraviesa la cavidad: los iones comienzan a experimentar el movimiento del ciclotrón en el campo magnético, pero las órbitas son de pequeño diámetro. (b) Se excitan los iones para órbitas mayores mediante la aplicación de pulsos que contienen un intervalo de radiofrecuencias que excitan a la masa deseada. Este pulso de RF puede resultar bastante complicado y sólo puede excitar a varias masas en intervalos grandes o pequeños pero no puede excitar a pocas masas con grandes separaciones. (c) Después de la excitación, el receptor está encendido y el impulso de RF generado en las láminas por los iones se amplifica por la transformada de Fourier. [Ref.: Holland, J. F., *et al.* 1983. *Anal. Chem.* 55, 9. 997A-1012A. Reproducido con permiso de *Analytical Chemistry*. Copyright 1983 American Chemical Society.]

EJEMPLO 12.7

Se utiliza un instrumento FT-MS de 4,7 T, y el intervalo de barrido es de 100-3000 daltons para $z = 1$ iones. ¿Cuál es el intervalo de frecuencias de la resonancia del ciclotrón?

Solución:

Lo único que hay que hacer es sustituir los valores de $u = 100$ y $u = 3000$ en la Ecuación 12-9. Las unidades de los factores e , m , B y f son culombios, kilogramos, tesla y hertzios, respectivamente. La sustitución da:

$$f_c = 2,54994 \times 10^{-20} \frac{zB}{m}$$

Para la concordancia, las unidades de kHz y dalton son mejores:

$$1 \text{ kHz} = 10^3 \text{ Hz, y } 1,66056 \times 10^{-27} \text{ kg} = 1 \text{ dalton}$$

En las unidades deseadas,

$$f_c (\text{kHz}) = 15355,9 \frac{zB}{M}$$

y, para un campo de 4,70 tesla y $z = 1$,

$$f_c (\text{kHz}) = \frac{72172,7}{M}$$

El intervalo de masas de 100 a 3000 daltons corresponde a un intervalo de frecuencias de 721,72 kHz hasta 24,06 kHz.



CASO PRÁCTICO DE ESTUDIO 12-2

La verdad... toda la verdad: Proteomas

Los biólogos están interesados en la manera en la que los organismos responden ante cambios como las variaciones en el entorno o, para los seres humanos, las diferencias entre estar enfermo y estar sano. Una ventaja de esta variación se mencionó en el caso práctico de estudio de la Sección 8.2, donde las concentraciones de ácido nucleico monitorizaban el estado del organismo. Los ácidos nucleicos son representativos de cómo las proteínas controlan el estado metabólico de la célula. Sin embargo, mientras la cadena principal se encuentra codificada por el DNA, la mayoría de las proteínas experimentan modificaciones post-traslacionales, como el ataque enzimático a grupos azúcares unidos mediante enlaces covalentes, fosforilación, o enlaces esencialmente de metales. La fosforilación,

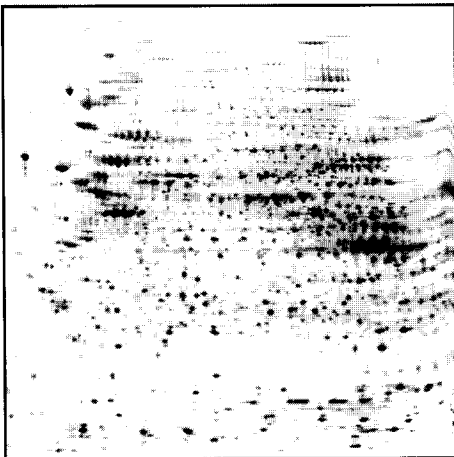
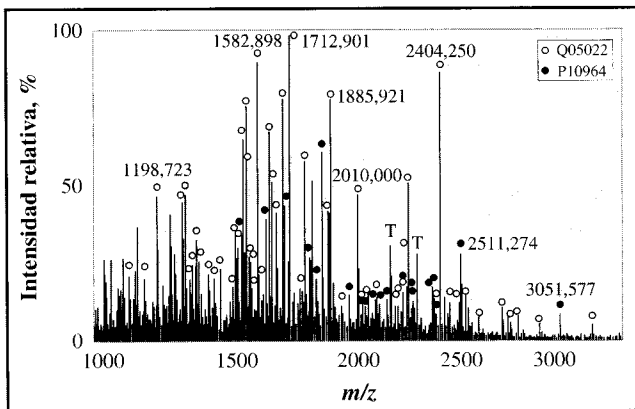
por ejemplo, se utiliza a menudo para regular la acción enzimática. Para aclarar el esquema completo, se han desarrollado varios métodos de reconocimiento de muestras, utilizando los datos de las separaciones, mediante las técnicas expuestas en el texto, de las más importantes y variadas proteínas. Por ejemplo, se pueden utilizar las variaciones de las concentraciones de los puntos de las proteínas mediante separación por electroforesis. El gel resultante desarrollado aparece de forma semejante al de la foto.

La secuenciación de proteínas se denomina **proteomas**, paralelamente al término **genoma** en el campo de los genes. Una vez vistas las variaciones, es necesario descubrir la identidad del material en los puntos, especialmente aquellos que varían. La espectrometría de masas se ha unido en la búsqueda.

En esencia, cuando un punto individual se extrae y se digiere por una proteasa tal como la tripsina, cada proteína produce un determinado conjunto de péptidos resultantes, cuyas masas se miden mediante espectrometría de masas por MALDI-TOF. Estos conjuntos de fragmentos pueden compararse con los conjuntos de fragmentos de las bases de datos de Internet, e identificar a la proteína. Algunas proteínas individuales de mezclas incluyen unas pocas proteínas que puedan ser identificadas.

Las entradas a las bases de datos se establecen mediante mapas, tales como la identificación de fragmentos de secuencias de aminoácidos (y algunos grupos covalentes que se encuentran unidos a ellos) mediante métodos MS-MS de proteínas conocidas.

El espectro de masas que se muestra aquí es el resultado de una digestión con tripsina de una proteína de levadura de 180 kDa. La proteína se identificó siendo parte de una mezcla; los picos señalados con círculos huecos pertenecen a una proteína y los círculos rellenos a otra. La letra T señala los productos de autólisis de la tripsina.



[Ref.: (1) JAMES, P. 1997. «Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics». *Quart. Rev. Biophys.* 30, 279-331. Copyright Bentham Science Publishers, Inc. (2) © Swiss Institute of Bioinformatics. HOOGLAND, C., SÁNCHEZ, J. C., TONELLA, L., BAIROCH, A., HOCHSTRASSER, D. F., APPEL, R. D. 1999. «The SWISS-2DPAGE database: what has changed during last year.»

Si se quisiese medir una m/z cada vez, se podría hacer de la siguiente manera. Una vez que los iones están en la celda, se les aporta energía mediante la aplicación de una radiofrecuencia a ω_c , por un tiempo corto para transmitirlo a las láminas, como se muestra en la Figura 12.33b. El impulso de RF no modifica la frecuencia, pero el ion circula en una órbita mayor. La presencia de iones en movimiento se detecta mediante una corriente que induce y pasa por las láminas receptoras —los sombreados en la Figura 12.33c— después de que se haya apagado el impulso de RF. Cuanto mayor es la órbita, mayor es la corriente inducida. (Se necesita estar a vacío para que el ciclotrón continúe lo suficiente para recoger los datos.) Los datos en un caso hipotético aparecen como una corriente inducida sinusoidal con frecuencia f_c . Podemos medir la frecuencia de la señal de salida del RF y encontrar los iones que poseen la m/z esperada. La amplitud de la corriente indica el número de iones que describen una órbita a una determinada frecuencia. Para determinar todos los valores de m/z , podemos barrer la frecuencia de RF y representar las magnitudes de la señal de salida. Esta representación es nuestro espectro de masas, e indica la presencia y la cantidad de cada ion y su valor correspondiente de m/z .

Escanear la frecuencia tal como se ha sugerido es bastante ineficaz. No obstante, lo que se suele hacer es utilizar una radiofrecuencia de **chirp**. ¿Qué es un *chirp*? Aparte del sonido de un pájaro, es cuando se empieza a unas bajas frecuencias y se va aumentando hasta altas frecuencias mientras el sonido continúa. La diferencia es que aquí el chirp viene dado a radiofrecuencias, y el impulso de chirp dura del orden de milisegundos. Este chirp contiene un intervalo de frecuencias adecuado para excitar el intervalo deseado de resonancias de m/z , aunque la distribución eficaz del poder de cada frecuencia *no* es tan simple como un secuencial aumento de frecuencias. Cuando el chirp se apaga, los iones continúan en las órbitas de ciclotrón e inducen las corrientes en las láminas receptoras al pasar por ellas. Las corrientes en las láminas receptoras representan la suma de las corrientes de *todos* los iones presentes. Sin entrar en detalles, que se verán más adelante en el Capítulo 17, la operación matemática conocida como transformada de Fourier se aplica a la señal de salida. Dicha conversión permite separar de esta corriente suma cada unas frecuencias de cada componente. Cuando cada frecuencia representa un valor específico de m/z , la señal de salida como función de frecuencia produce un espectro de masas con transformada de Fourier.

Cuando la celda del ion ciclotrón es una trampa de iones, el MS/MS puede llevarse a cabo de manera similar a la de una trampa de iones cuadrupolar. La fragmentación tiene lugar por colisión con el gas residual, aunque la presión sea mucho menor que en una trampa de iones cuadrupolar. Entonces es cuando los iones producidos se pueden medir.

La FT-MS tiene una desventaja en común con la trampa de iones cuadrupolar: ambas tienen un bajo intervalo dinámico debido al límite de espacio de carga. La FT-MS es mucho más compleja y cara que otros instrumentos, pero tiene la ventaja de que puede alcanzar un poder de resolución del orden de millones, y el poder de resolución aumenta con la disminución de m/z . Debido a que la frecuencia se puede medir de forma precisa y exacta, la FT-MS muestra exactitudes mayores que 1 ppb para masas de menos de 500 daltons. Además, el límite de detección puede llegar a ser menor que el atomol.

12.12. Análisis de alta precisión por espectrometría de masas: dilución isotópica

La **dilución isotópica** requiere cambiar las relaciones isotópicas de una muestra con respecto a su original, por adición de una pequeña porción de muestra pero con composiciones diferentes de isótopos. Cuando la espectrometría de masas puede medir la canti-

dad de cada isótopos individualmente, la cantidad de analito original puede calcularse a partir de las medidas de las nuevas relaciones isotópicas. El cálculo más sencillo es la adición de un isótopo puro como estándar. No se debe olvidar que el elemento añadido es un estándar interno.

En algunos casos se puede utilizar la espectrometría de masas de dilución isotópica (IDMS) para todo un intervalo, pero normalmente se utiliza para análisis de trazas (ppb, ppt, ...). De todos los métodos de análisis de trazas, éste es el más preciso y exacto, ya que la recuperación no necesita ser cuantitativa. Su precisión depende de las medidas exactas de la adición y el contenido de isótopo. La Figura 12.34 muestra un espectro de masas con y sin estándar interno.

La figura muestra un histograma del espectro de masas que se utiliza para determinar el uranio. Se añade un estándar interno y se estabiliza la muestra; ambos isótopos deben encontrarse en la misma forma química y mezclados homogéneamente. Aquí, el estándar para el uranio es el isótopo fabricado ^{233}U , como se indica. Los otros cuatro picos son los isótopos naturales del uranio. Después de las medidas mediante espectrometría de masas, la concentración de uranio se determina a partir de la relación entre los picos de m/z de 233 y de 238 y la concentración conocida del estándar.

Para más información sobre los estándares internos véase el Capítulo 4.

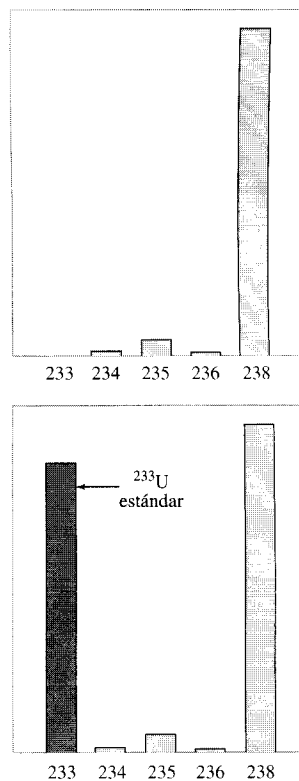


FIGURA 12.34 ▲ Dilución isotópica para el uranio.

Una cantidad conocida de un estándar contiene el isótopo fabricado ^{233}U en la misma forma química como el estándar interno de la muestra.

La ecuación del análisis por dilución isotópica de masa espectral

La ecuación desarrollada abajo se aplica cuando la medida depende de dos isótopos diferentes por dilución isotópica. Se pueden hacer deducciones similares para análisis más complicados, es decir, de tres o más isótopos de un analito.

Nótese que todas las cantidades de un material se dan en peso, no en volumen. Se debe a que se requiere una elevada precisión en las medidas de un estándar para isótopos, y el peso normalmente es más exacto (hasta las cuatro últimas cifras significativas) que el volumen (hasta las tres últimas cifras significativas). Cuando se trabaje, no se debe perder de vista que el problema consiste simplemente en mezclar dos materiales de diferente composición —la muestra y el estándar—. Vamos a definir algunos términos concernientes a la muestra.

W = peso de la muestra en gramos

C_{unk} = concentración del analito en la muestra en $\mu\text{mol}/(\text{gramos de disolución})$

F_A = fracción atómica del isótopo A en la muestra. Esto es $F_A = [A]/([A]+[B])$

F_B = fracción atómica del isótopo B en la muestra. Esto es $F_B = [B]/([A]+[B])$.

C_{unk} se calcula utilizando la masa en $\mu\text{mol}/(\text{gramos de disolución})$. Cuando la medida precede a la introducción del estándar, la muestra contiene la distribución natural de isótopos (Tabla 12A.1); el peso atómico utilizado para calcular C_{unk} es aquel proporcionado por la abundancia isotópica natural.

Con las anteriores definiciones, la estequiometría conduce las siguientes características para la muestra *completa*.

$$\mu\text{mol del analito como elemento en la muestra} = W \cdot C_{\text{unk}}$$

La masa total del analito se compone de dos isótopos, sus fracciones vienen dadas por F_A y F_B . Por tanto:

$$\mu\text{mol del isótopo A en la muestra} = (W \cdot C_{\text{unk}}) \cdot F_A$$

$$\mu\text{mol del isótopo B en la muestra} = (W \cdot C_{\text{unk}}) \cdot F_B$$

Ahora, expresaremos la características del estándar solo. Se enriquece en el isótopo menos abundante de los dos que se van a medir. Las variables que se utilizan son las mismas que para la muestra original pero con diferentes subíndices que indiquen que se trata del estándar.

$$\begin{aligned} W_{sp} &= \text{peso del estándar en gramos} \\ C_{sp} &= \text{concentración del analito en el estándar en } \mu\text{mol}/(\text{gramos de disolución}) \\ F_{A, sp} &= \text{fracción atómica del isótopo A en el estándar} \\ F_{B, sp} &= \text{fracción atómica del isótopo B en el estándar.} \end{aligned}$$

Entonces, para el estándar,

$$\begin{aligned} \mu\text{mol del isótopo A en el estándar} &= (W_{sp} \cdot C_{est}) \cdot F_{A, sp} \\ \mu\text{mol del isótopo B en el estándar} &= (W_{sp} \cdot C_{sp}) \cdot F_{B, sp} \end{aligned}$$

Ahora se mezclan la muestra y el estándar. De forma análoga a las ecuaciones de arriba, para las combinaciones, tenemos que:

$$\mu\text{mol del isótopo A en (estándar + muestra)} = (W \cdot C_{unk}) \cdot F_A + (W_{sp} \cdot C_{sp}) \cdot F_{A, sp} \quad (12-10)$$

$$\mu\text{mol del isótopo B en (estándar + muestra)} = (W \cdot C_{unk}) \cdot F_B + (W_{sp} \cdot C_{sp}) \cdot F_{B, sp} \quad (12-11)$$

Ahora, definimos R , la relación entre los isótopos.

$$R = \frac{\text{respuesta del instrumento para A}}{\text{respuesta del instrumento para B}} \quad (12-12)$$

En general, los instrumentos actuales dan las cuentas totales o las cuentas s^{-1} de las masas de A y B. Un calibrado mostraría cualquier corrección necesaria para las diferentes respuestas de los dos isótopos. Suponemos que toda corrección ya se ha hecho y que R es la relación experimental entre los isótopos.

A continuación sustituiremos en la Ecuaciones 12-10 y 12-11, la Ecuación 12-12, debido a que R es la relación entre dos ecuaciones. El radio reajustado es:

$$W \cdot C_{unk} (RF_B - F_A) = W_{sp} \cdot C_{sp} (F_{A, sp} - RF_{B, sp})$$

El valor que buscamos es C_{unk} que se encuentra despejando de esta ecuación.

$$C_{unk} = \frac{W_{sp} C_{sp} (F_{A, sp} - RF_{B, sp})}{W (RF_B - F_A)} \quad (12-12)$$

Se ha realizado algunas conversiones numéricas para ajustar las unidades de concentración de la adición, —es decir $\mu\text{mol}/(\text{gramos de disolución})$ — difiere de las unidades de concentración de la muestra — $\mu\text{g}/\text{g}$ —. En este caso, la masa molecular del analito aparece en la ecuación para C_{unk} . Esta conversión es desafortunada y confusa, pero la ecuación tiene las mismas relaciones que la Ecuación 12-12.

Aunque sus nombres son similares, la Ecuación 12-13 difiere profundamente de la ecuación utilizada para *el análisis por dilución isotópica*, tal como se utiliza en radioquímica. En dicho método, un isótopo radiactivo del analito se adhiere a una muestra no radiactiva. El analito se separa y se mide la radiactividad de una alícuota.

Tabla 12A.1. (continuación)

Elemento masas atómicas (abundancias relativas)

Sb	121 (100)	123 (74)					
Te	122 (7)	123 (3)	124 (14)	125 (20)	126 (55)	128 (93)	130 (100)
I	127 (100)						
Cs	133 (100)						
Ba	135 (9)	136 (11)	137 (16)	138 (100)			
W	182 (86)	183 (47)	184 (100)	186 (93)			
Re	185 (59)	187 (100)					
Os	186 (4)	187 (4)	188 (32)	189 (39)	190 (64)	192 (100)	
Ir	191 (63)	193 (100)					
Pt	192 (82)	194 (97)	195 (100)	196 (75)	198 (21)		
Au	197 (100)						
Hg	198 (34)	199 (57)	200 (77)	201 (44)	202 (100)	204 (23)	
Tl	203 (41)	205 (100)					
Pb	204 (3)	206 (51)	207 (40)	208 (100)			
Bi	209 (100)						
Th	232 (100)						
U	235 (1)	238 (99)					

Bibliografía recomendada

LAMBERT, J. B., SHURVELL, H. F., LIGHTNER, D. A., COOKS, R. G. 1998. *Organic Structural Spectroscopy*. Upper Saddle River, N.J. Prentice Hall.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C. MORRILL, T. C. 1991. *Spectroscopy Identification of Organic Compounds*. 5th ed. New York: John Wiley & Sons.

Dos libros prácticos como introducción pero con un nivel riguroso, incluyendo la espectrometría de masas. No son libros de instrumentación, pero son buenos para leer sobre las aplicaciones a la química orgánica.

JOHNSTONE, R. A. W., ROSE, M. E. 1996. *Mass Spectroscopy for Chemist and Biochemist*. Cambridge: Cambridge University Press.

Un libro de texto básico que explica qué información se puede encontrar sobre la química de la fase gaseosa y sobre las partes generales de los instrumentos a un nivel similar al de este capítulo.

MCLAFFERTY, F. W. 1980. *Interpretation of Mass Spectra*. 3rd ed. Mill Valley, CA: University Science Books.

La introducción clásica a la identificación de pequeñas moléculas orgánicas mediante espectrometría de masas.

HARRISON, A. G. 1983. *Chemical Ionization Mass Spectrometry*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Monografía que describe la química de la fase gaseosa y el equipamiento de la espectrometría de masas con ionización química. Numerosos ejemplos de espectros de masas.

COLE, R. B. 1997. *Electrospray Ionization Mass Spectroscopy: Fundamentals, Instrumentations and Applications*. New York: John Wiley & Sons.

La primera mitad de esta monografía contiene capítulos que desarrollan en profundidad la ionización química y el electrospray. El resto, como indica su título, contiene instrumentación y aplicaciones. Un trabajo ilustrativo que merece la pena leer.

VANDECASTEELE, C., BLOCK, C. B. 1993. *Modern Methods for Trace Element Determination*. Chichester: John Wiley & Sons.

Este texto contiene un capítulo sobre espectrometría de masas con una cobertura excelente de ICP/MS.

MONTASER, A., GOLIGHTLY, D. W. 1992. *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry*. 2nd ed. New York: VCH.

Todo lo que se desee saber sobre de las antorchas ICP y plasmas para espectrometría de masas y óptica. Una gran cantidad de información, tanto teórica como práctica.

JARVIS, K. E., GRAY, A. L., HOUK, R. S. 1992. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Glasgow: Blackie.

Un excelente libro acerca de la práctica de ICP-MS para análisis elemental. Un buen capítulo sobre preparación de muestras.

NIESSEN, W. M. A., VAN DER GREEF, J. 1992. *Liquid Chromatography- Mass Spectrometry*. New York: Marcel Dekker.

Una fina referencia sobre los detalles de la práctica y el instrumental para la construcción de la interfase de LC/MS y SFC/MS.

BRIGGS, D., BROWN, A., VICKERMAN, J. C. 1989. *Handbook of Static Secondary Ion Mass Spectrometry*. Chichester: John Wiley & Sons.

Una introducción útil y breve con numerosos ejemplos y casos prácticos de estudio de distribución superficial y de moléculas orgánicas por SIMS.

SIGMUND, P. 1981. *Sputtering by Ion Bombardment: Theoretical Concepts in Sputtering by Particle Bombardment*. I. R. Behrisch, ed. Berlin: Springer-Verlag.

Gran parte de lo que se quiera conocer sobre la química y la física de la proyección. Más gráfico que matemático.

MAGEE, C. W., HONIG, R. E., EVANS, C. A., Jr. 1982. *Depth Profiling by SIMS: Depth resolution, Dynamic range, and Sensitivity, in Secondary Ion Mass Spectrometry: SIMS III*. A. BENNINGHOVEN, J. GIBER, J. LASZLO, M. RIEDEL, and H.W. WERNER, eds. Berlin: Springer-Verlag.

Una introducción breve y clara profundizando en los factores de la proyección.

PLATZNER, I. T. 1997. *Modern Isotope Ratio Mass Spectrometry*. Chichester: John Wiley & Sons.

Una introducción excelente al tema acompañado de literatura con comentarios sobre los elementos individualmente.

ASAMOTO, B. 1991. *TF-ICR/MS: Analytical Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*. New York: VCH Publishers.

Una referencia muy acertada sobre las características y los usos de la espectrometría de masas con transformada de Fourier. Única en la materia, con rico contenido en ilustraciones, y un balance en esta área de análisis mientras se amplía su estudio.

HARRISON, W. W., HESS, K. R., MARCUS, R. K., KING, F. L. 1986. «Glow Discharge Mass Spectrometry». *Anal. Chem.* 58:341A-356A.

Una descripción concisa y clara de la práctica de la espectrometría de masas con descarga luminiscente.

MARCUS, R. K., HARVILLE, T. R., MEI, Y., SHICK, J. C. R. 1994. «rf-Powered Glow Discharges». *Anal. Chem.* 66:902A-911A.

Algunos resultados representativos obtenidos en aislantes mediante RF de descarga luminiscente.

MCLUCKEY, S. A., VAN BERKEL, G. J., GOERINGER, D. E., GLISH, G. L. 1994. «Ion Trap Mass Spectrometry of Externally Generated Ions.» *Anal. Chem.* 66:689A-696A.

Una perspectiva útil y un nivel de descripción medio de los principios de MS de trampas de iones.

Ejercicios

12.1. Explíquese la manera de calcular las intensidades relativas de los picos de $-\text{Cl}_3$ y $-\text{Cl}_2$, como se muestra en la Figura 12.5.

12.2. Un espectrómetro de masas tiene un poder de resolución de 5000. ¿Para qué valor de ΔM es equivalente si M vale (a) 300? (b) 900? (c) 3000?

12.3. Los detectores multicanales con ICP-MS se utilizan para determinar relaciones isotópicas para una amplia variedad de elementos que previsiblemente no son accesibles para su medida. Sin embargo, algunos efectos de discriminación de masas están presentes. Cuantitativamente, la cantidad de Pb es de $1\% \mu^{-1}$. El plomo, utilizado para datar geológicamente, requiere que se haga una corrección para obtener una relación correcta entre los cuatro isótopos, tres de los cuales son radiactivos. La fórmula siguiente mostrada se aplica para la corrección de la tendencia de las masas.

$$R_{\text{verdadero}} = R_{\text{medido}}(1 + C)^{\Delta m}$$

donde:

R es la relación entre los isótopos

C es el factor de tendencia de la masa

Δm es la diferencia entre las masas.

- (a) Utilizando talio como un calibrante, se emplean los datos de la Tabla 12.3.1 para determinar el valor de C .
 (b) Utilizando los datos de la Tabla 12.3.2 y el valor de C calculado en el apartado (a), genere los valores correctos para obtener la relación entre los isótopos.
 (c) Calcúlese la media y la desviación estándar para cada relación Pb/Pb.

[Refs.: (1) Walder, A. J., Freeman, P. A. 1982. *J. Anal. Atomic Spect.* 7, 571-575. (2) Hirata, T. 1996. *Analyst.* 121, 1407-1411].

12.4. Los espectros de masas de la Figura 12.4.1 —I, II, III y IV—son de importantes reactivos químicos aplicados en la industria. Identifíquese la fórmula molecular de cada uno y su estructura, en el caso en que fuera posible. [Ref.: NIST standard library of EI spectra.]

Tabla 12.3.1 Muestra de calibrado de talio

Muestra estándar	$^{205}\text{Tl} / ^{203}\text{Tl}$ (Verdadero)	$^{205}\text{Tl} / ^{203}\text{Tl}$ (Medido)
1	2,432950	2,428894 2,428315
2	2,365517	2,361285 2,361357
3	2,404896	2,400927 2,400032
4	1,002851	1,001271 1,000927
5	2,434939	2,431089 2,430200
6	2,378802	2,375074 2,374391

Tabla 12.3.2. Relaciones medidas entre los isótopos más importantes

Medida número	$^{208}\text{Pb}/$ ^{204}Pb	$^{206}\text{Pb}/$ ^{204}Pb	$^{208}\text{Pb}/$ ^{206}Pb	$^{207}\text{Pb}/$ ^{206}Pb
1	36,3664	16,86713	2,15604	0,912711
2	36,50643	16,86514	2,15694	0,912691
3	36,53333	16,8771	2,15714	0,912731
4	36,5154	16,86912	2,15694	0,9127
5	36,50942	16,86514	2,15724	0,91269
6	36,51041	16,86713	2,15724	0,9127
7	36,5144	16,86514	2,15724	0,9127
8	36,50842	16,86215	2,15744	0,91272

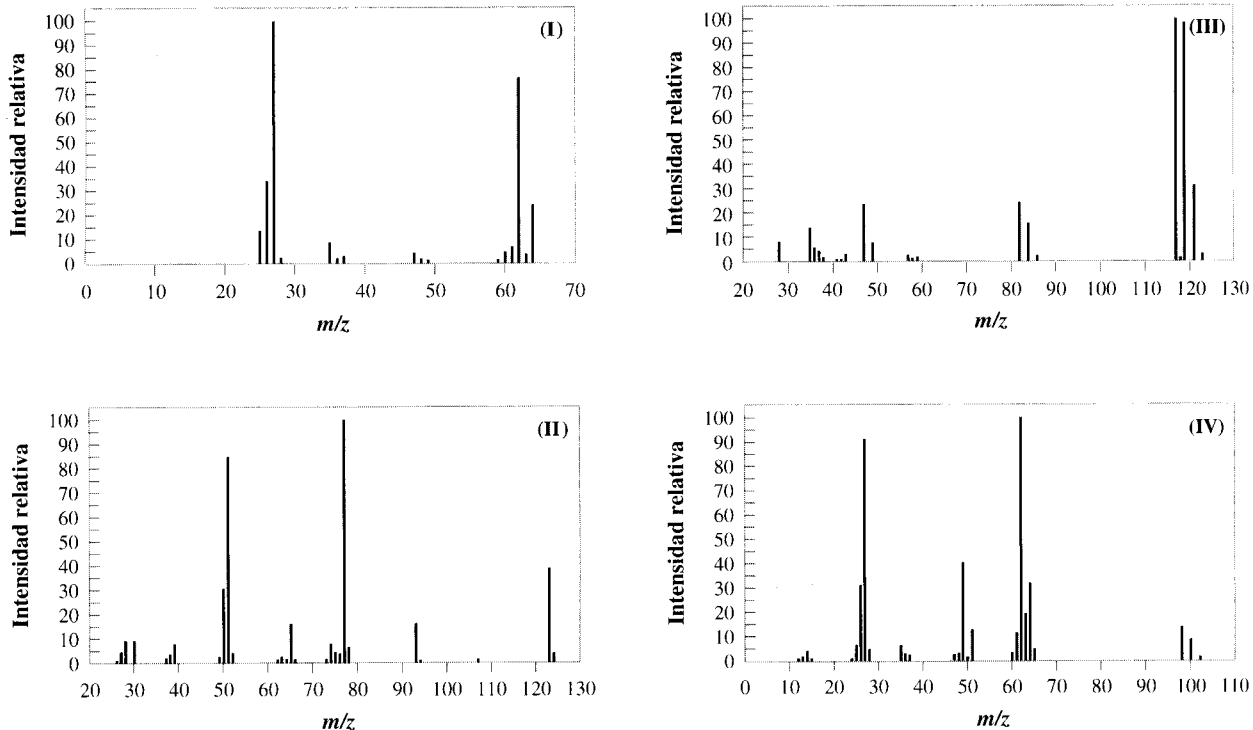


FIGURA 12.4.1 ▲

Tabla 12.4.1. Datos de los espectros

I				III			
Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia
25	13,7	48	1,7	28	8,2	58	1,4
26	34,0	49	1,4	35	14,0	59	1,7
27	100,0	59	1,4	36	5,7	82	24,2
28	2,3	60	4,6	37	4,4	84	15,5
35	8,7	61	6,8	38	1,7	86	2,6
36	1,9	62	76,6	41	1,1	117	100,0
37	2,8	63	3,8	42	1,0	118	1,4
47	4,2	64	24,2	43	3,0	119	98,1
				47	23,4	121	31,1
				49	7,9	123	3,0
				57	2,7		

II						IV					
Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia	Masa	Abundancia
26	1,0	51	84,7	75	4,3	12	1,0	35	6,2	61	11,5
27	4,5	52	4,0	76	3,6	13	1,8	36	2,8	62	100,0
28	9,2	62	1,3	77	100,0	14	4,1	37	2,3	63	19,3
30	9,2	63	2,5	78	6,4	15	1,0	47	2,5	64	31,9
37	2,0	64	1,6	93	16,1	24	1,0	48	3,1	65	4,9
38	3,4	65	15,9	94	1,0	25	6,5	49	40,3	98	13,7
39	7,8	66	1,3	107	1,4	26	31,0	50	1,5	100	8,6
49	2,5	73	1,5	123	38,8	27	91,2	51	12,8	102	1,4
50	30,5	74	7,7	124	3,7	28	4,8	60	3,3		

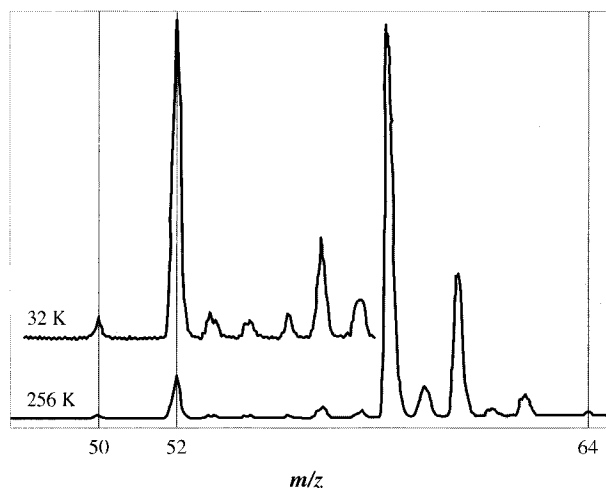


FIGURA 12.5.1 ▲
Copyright CRC Press.

12.5. La Figura 12.5.1 refleja parte del espectro de masas de una muestra de carbón analizado para determinar su contenido en metales. El espectro aparece con dos escalas diferentes. Todos los picos se deben a los iones positivos del metal, que se obtienen por MS con desorción de campo y con vaporización asistida por láser. Para separar los componentes aniónicos y orgánicos, los metales se depositan sobre un elemento

emisor por electrodeposición. Identifíquese los elementos presentes y los isótopos correspondientes a los picos, tomando las cantidades de las distribuciones de isótopos de los elementos presentes. [Datos originales de H. R. Schulten.]

12.6. La Figura 12.6.1 muestra el espectro de masas de cuatro compuestos relativamente cercanos. El espectro de masas se obtuvo mediante ionización química utilizando H_2 como donador de protones. Mediante la Tabla de fragmentación, identifíquese los componentes. [Reproducido con el permiso de Harrison, A. G. 1983. *Chemical Ionization Mass Spectrometry*. Boca Raton, FL: CRC Press. Copyright CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.]

12.7. La Figura 12.7.1 muestra la estructura de cuatro componentes de masas nominales de 194. Las listas que acompañan incluyen los datos de los espectros de masas I, II y III obtenidos mediante ionización electrónica. Identificar el compuesto obtenido por cada uno de los tres espectros.

12.8. Para los cuatro compuestos del ejercicio anterior:

(a) ¿Cuál es su masa exacta?

(b) ¿Qué poder de resolución se necesita para separarlos en un espectro de masas?

12.9 La Figura 12.9.1 muestra un espectro de masas, un espectro de RMN y un espectro IR de cada componente. Identifíquese el compuesto.

[Figura cedida por Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. 1979. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry*. Philadelphia: W. B. Saunders. Copyright © 1979 by W. B. Saunders Co.]

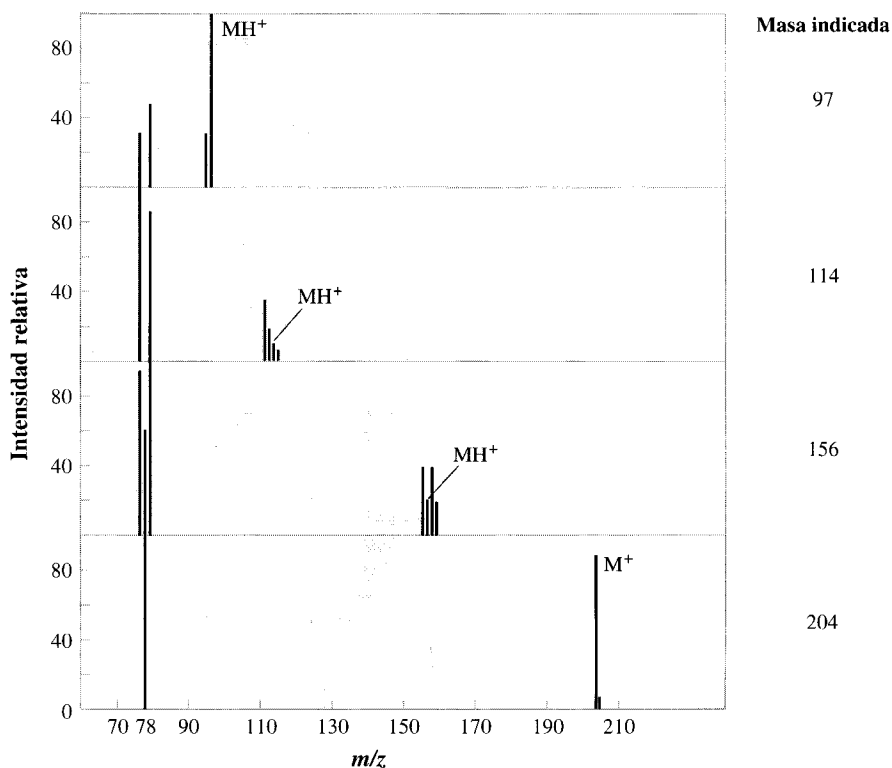


FIGURA 12.6.1 ►
Copyright CRC Press.

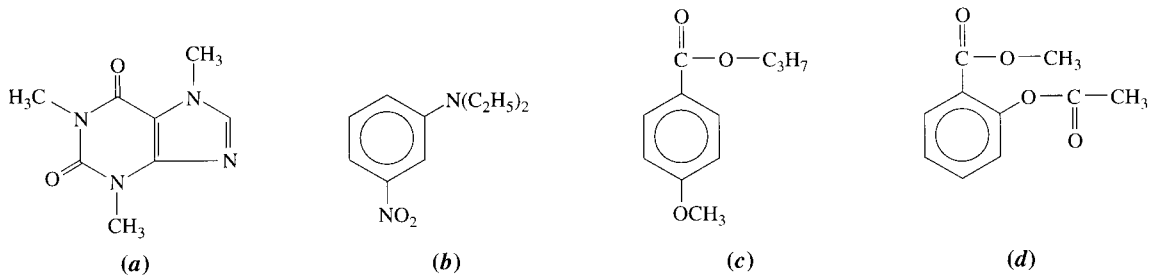


FIGURA 12.7.1 ▲

Tabla 12.7.1

I		II		III	
Masa	Intensidad relativa	Masa	Intensidad relativa	Masa	Intensidad relativa
15	14	41	1	40	1
16	2	42	2	41	7
18	11	43	42	42	1
27	3	44	1	43	4
28	5	50	2	45	1
39	1	51	2	50	6
40	4	52	1	51	4
41	5	53	3	52	1
42	10	59	1	53	3
44	2	62	2	62	2
52	2	63	12	63	11
53	3	64	9	64	16
54	3	65	11	65	4
55	37	66	1	66	1
56	3	74	1	73	1
66	3	75	1	74	2
67	23	76	1	75	3
68	3	77	3	76	5
69	1	80	1	77	25
70	2	91	1	78	3
81	4	92	39	79	3
82	18	93	7	81	2
83	2	94	1	92	24
94	2	95	2	93	2
97	2	119	1	104	1
108	2	120	100	105	1
109	59	121	41	106	1
110	6	122	4	107	9
136	4	123	1	108	2
137	6	135	1	109	1
138	2	151	3	120	1
165	4	152	81	135	100
193	9	153	7	136	10
194	100	154	1	137	1
195	9	163	6	152	56
		194	1	153	5
				165	1
				194	9
				195	1

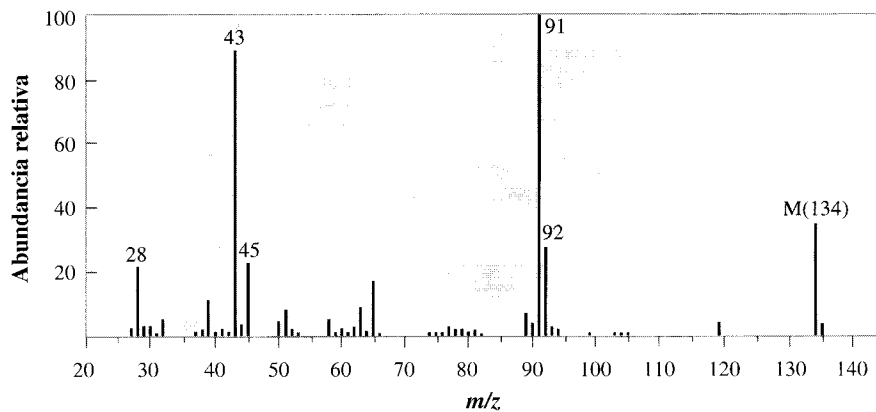
- 12.10. Se requiere una disolución estándar para ajustar las lentes electrostáticas de un instrumento de ICP-MS. Se ha incluido cadmio en la disolución en concentración de 10 ppb. El operador quiere un máximo de 10,00 ppb de altura en el intervalo de masas. Los otros dos elementos del estándar son cobre y molibdeno. ¿Qué concentración de los otros dos estándares debe haber para satisfacer los criterios del operador?
- 12.11. ¿Cuáles de los siguientes metales no pueden analizarse mediante el método de dilución isotópica? Na, P, V, Co, Ru, Au.
- 12.12. Demuéstrese que la Ecuación 12.3 se deduce a partir de la Ecuación 12.2.
- 12.13. La Figura 12.18 muestra un espectro de masas por electrospray de un polímero que contiene dos conjuntos de líneas, uno de ellos con un ion de sodio y el otro con dos. ¿A qué iones pertenecen, en el conjunto de un ion sodio, los picos 1006 y 1050 del conjunto de dos sodios?
- 12.14. La Figura 12.14.1 muestra un RMN y un espectro de masas de un compuesto. ¿Cuál es ese compuesto? [Figura por cortesía de Varian Associates.]
- 12.15. Supongamos que durante un análisis hay dos masas diferentes de interés. Una de las masas se focaliza sobre el detector exactamente en medio del campo magnético y la otra masa en un sector del instrumento. Un día, durante su barrido el circuito de las láminas magnéticas se colapsa. El operador fija el campo magnético a un valor tal que la más baja de las masas se detecte. Si el potencial de aceleración es de 2000 V, ¿a qué potencial debería cambiar para ser capaz de detectar la más elevada de las dos masas sin variar el campo magnético?
- * 12.16. El análisis por dilución isotópica se ha realizado sobre una muestra de roca para un ensayo de Rb. La muestra de roca con un peso de 0,350 g se digirió y se le adicionó 29,45 μg de rubidio. La composición isotópica (en tanto por ciento) de la adición es:

$$^{87}\text{Rb} = 95,4\%, \quad ^{85}\text{Rb} = 4,6\%$$

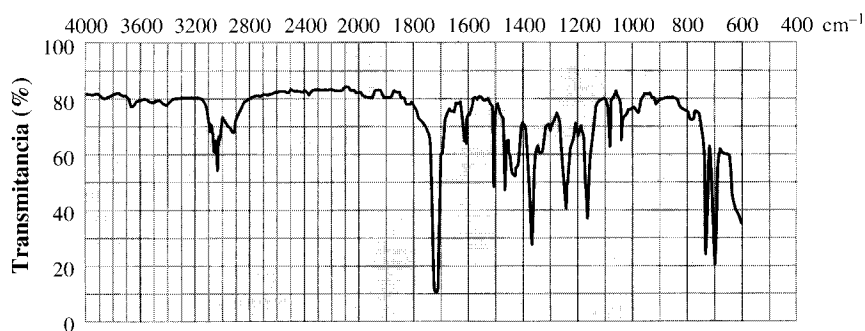
El espectro de masas resultante muestra un pico para ^{87}Rb de 1,12 veces el pico de ^{85}Rb . Suponiendo que ambos isótopos tienen el mismo comportamiento químico, ¿qué contenido de Rb hay en la roca en ppm (suponiendo que

* Nótese que en este problema hay más problemas relacionados.

(a) Espectro de masas



(b) Espectro de IR



(c) Espectro de RMN

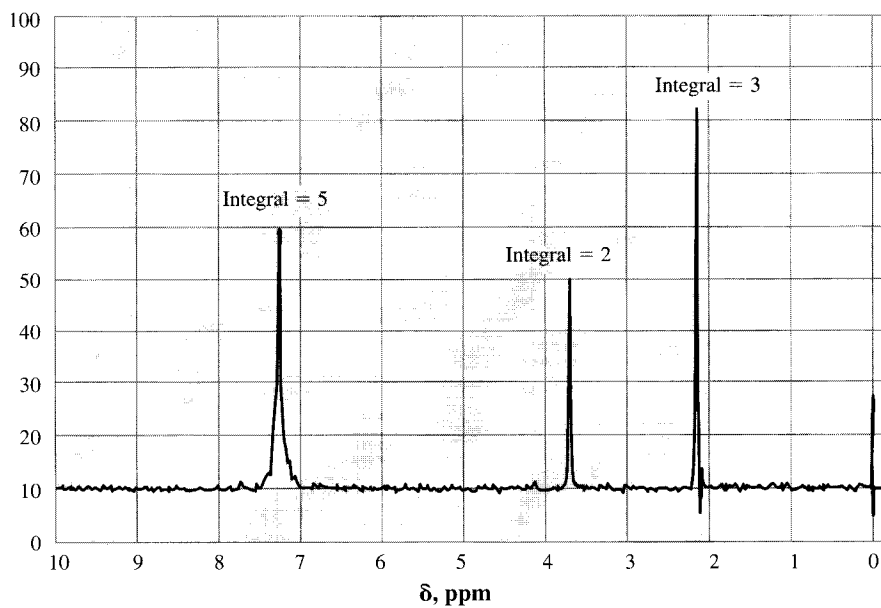


FIGURA 12.9.1 ▲

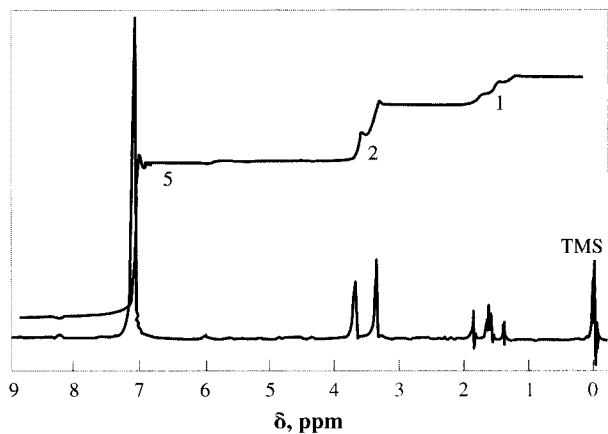
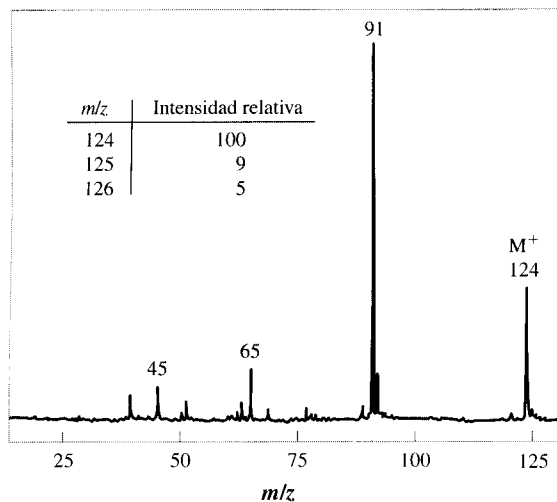
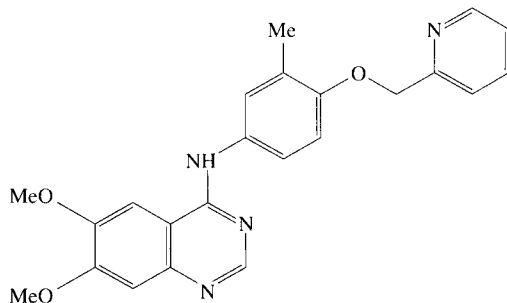


FIGURA 12.14.1 ▲
Cortesía de Varian Associates.

los isótopos están presentes en las relaciones isotópicas naturales)? La abundancia natural de los isótopos y las masas atómicas se muestran en la siguiente tabla.

Isótopo	% Abundancia natural	Masa atómica (u)
^{87}Rb	27,83	86,909
^{85}Rb	72,17	84,912

12.17. Durante la síntesis de una droga, mostrada a continuación, los productos de la reacción se caracterizan utilizando un detector de espectrometría de masas con una fuente de ionización a presión atmosférica acoplado con LC.



- (a) Se encontró una impureza que tenía un espectro de masas mostrado en la Figura 12.17.1. Basado en el isótopo de partida de MH^+ con un pico a 225 y 227 u , ¿qué átomo (no presente en la molécula de partida) está presente en la impureza?
- (b) ¿Qué fragmento del compuesto de partida, cuando se combina con el átomo añadido, proporciona una masa de 224? ¿Corrobora el espectro de masas la respuesta? [Ref.: Taylor, S., Preece, S. 1997. «The Use of LC-API/MS with Photodiode Array Detection for Determination of Impurities in Drug Synthesis». Application Note 227. Micromass UK Ltd.].

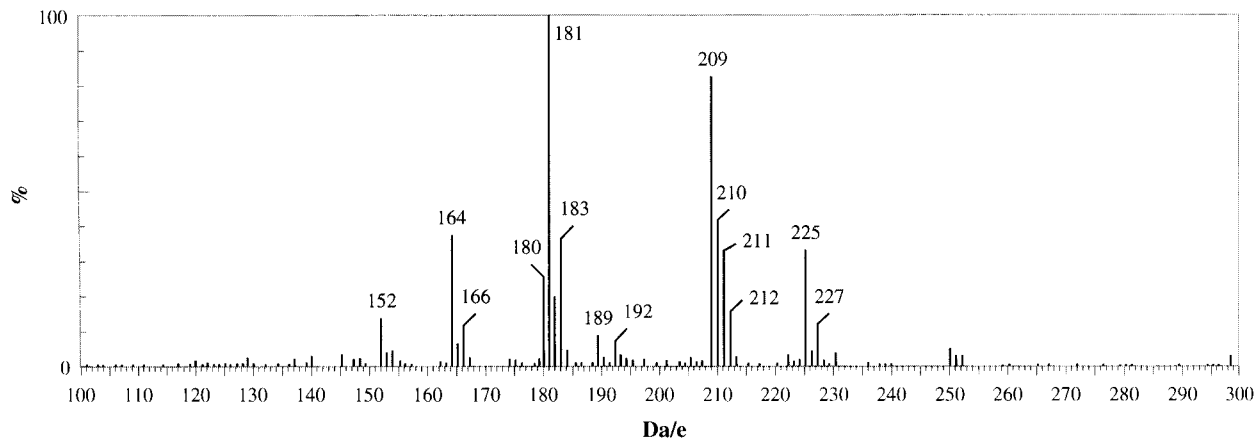


FIGURA 12.17.1 ▲