

# Clasificación de la espectroscopia de absorción

# Clasificación de los Métodos ópticos de análisis



Existe **intercambio** de energía entre REM y la materia.

Las transiciones entre los distintos niveles energéticos pueden tener lugar a nivel molecular o atómico

Miden la intensidad de la radiación en función  $\lambda$ , **mostrando espectros** que se forman debido a las transiciones entre distintos niveles energéticos.

**Métodos de emisión.**  
Mide La REM emitida cuando el analito libera energía

**Métodos de adsorción** miden la disminución de la potencia de la REM debido a la absorción que se produce con la interacción con el analito

Miden la radiación **absorbida** por átomos, moléculas o iones (muestra).

método de un solo punto  
método de las adiciones múltiples

**Método de adiciones de estándar**

$$A = b + mC$$

$$A_M/A_E = C_M/C_E$$

Curva de calibración

Métodos de comparación con un estándar

**Método de Patrones externos**

Leyes de adsorción

$$A = \epsilon \times b \times c$$

$$T = P/P_0$$

$$T = 10^{-A}$$

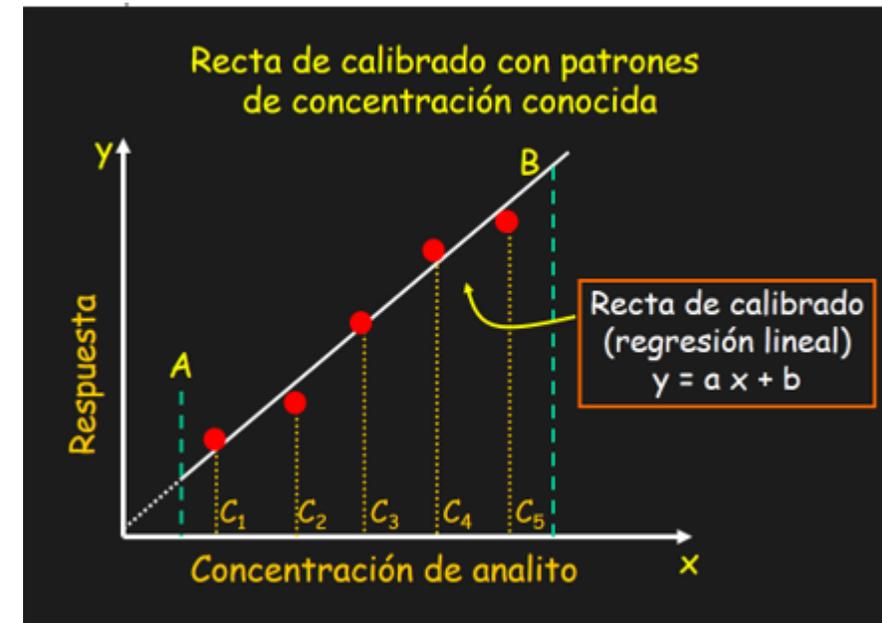
$$A = -\log T$$

$$T = 10^{-\epsilon bc}$$

# Calibración con patrones de concentración conocida

**1. Curva de calibración.-** Se miden las absorbancias de patrones para obtener la ecuación de la recta de calibrado generalmente aplicando el método de mínimos cuadrados:

$$A = mc + b$$



# Métodos de comparación con un estándar

- Se prepara un estándar con una concentración semejante y en las mismas condiciones que la muestra, la concentración del compuesto en estudio se puede determinar aplicando la ley de Beer:

$$\begin{aligned} A_M &= \varepsilon_M b_M c_M \\ A_E &= \varepsilon_E b_E c_E \end{aligned}$$

$$\frac{A_M}{A_E} = \frac{\varepsilon_M b_M c_M}{\varepsilon_E b_E c_E}$$

$$A_M/A_E = C_M/C_E$$

$$C_M = A_M * C_E / A_E$$

- Este método es rápido y sus resultados son confiables.

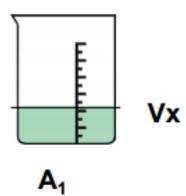
# Método de las adiciones estándar

El método de las adiciones estándar es útil para contrarrestar los efectos de matriz.

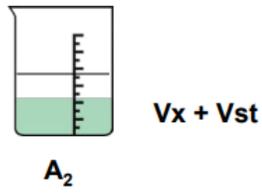
**Ventaja .** Permite tener resultados mas confiables

**Desventaja** resulta tedioso porque cada curva se realiza para cada tipo de muestra

El método de un solo punto



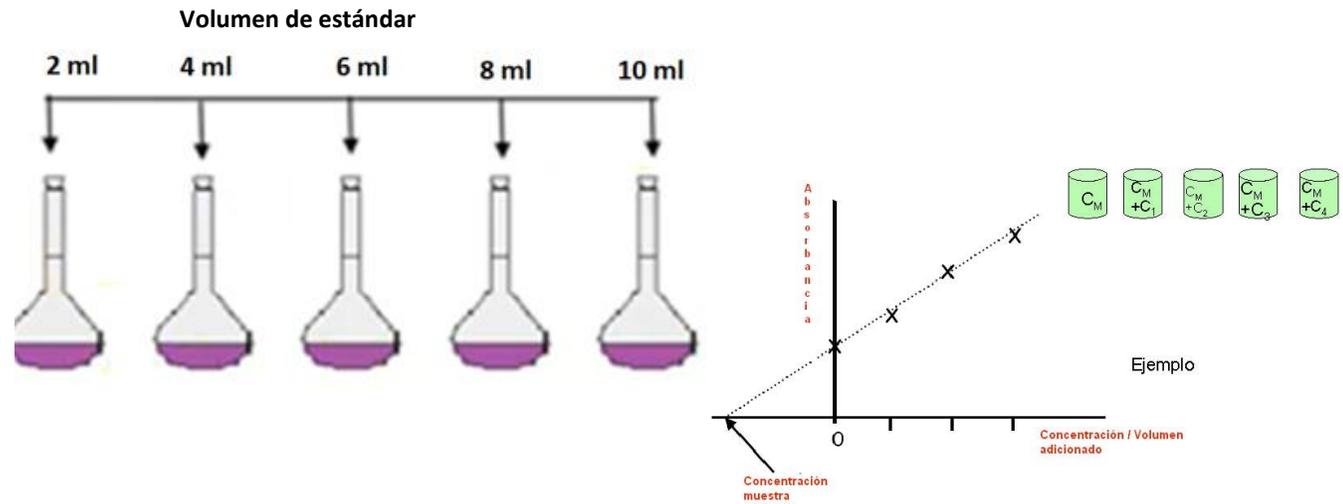
$$A_1 = abCx$$



$$A_2 = ab \left( \frac{Vx Cx + Vst Cst}{Vx + Vst} \right)$$

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{ab Cx (Vx + Vst)}{ab (Vx Cx + Vst Cst)}$$

El método de las adiciones múltiples



$$c_x = A_1 v_s c_s / A_2 v_t - A_1 v_x$$

$$Cx = (Cs / Vx) (b/m)$$

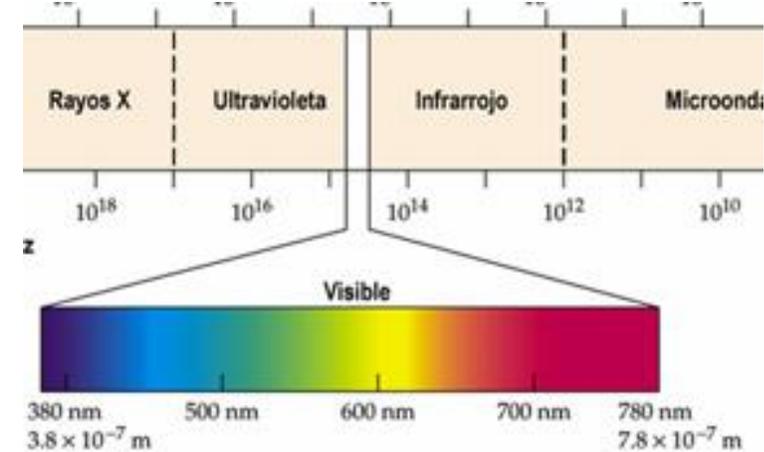
# Clasificación de la espectroscopia de absorción

La espectroscopia de absorción se puede clasificar según el tipo de radiación electromagnética utilizada:

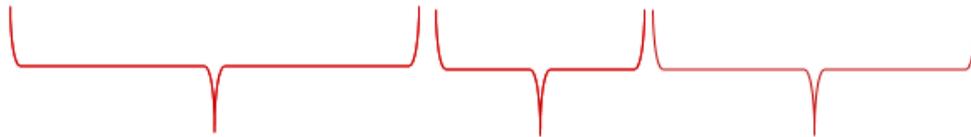
- **Espectroscopia de absorción UV-Vis:** Utiliza **luz ultravioleta y visible** para identificar y cuantificar diferentes sustancias en soluciones
- Espectroscopia de absorción infrarroja (IR): Utiliza **radiación infrarroja** para estudiar las vibraciones moleculares y las estructuras químicas. Permite identificar grupos funcionales y obtener información estructural de compuestos.
- Espectroscopia de absorción de rayos X: Utiliza rayos X para estudiar la estructura electrónica de los átomos.
- Espectroscopia de absorción de microondas: Utiliza microondas para estudiar las rotaciones moleculares.
- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN): Utiliza ondas de radio para estudiar el entorno de los núcleos atómicos

# Espectroscopia de absorción UV-Vis

En esta técnica instrumental se aprovecha la absorción de REM en la región del ultravioleta y visible del espectro por moléculas o átomos neutros. Por lo que se conoce como **espectrofotometría UV-visible**.



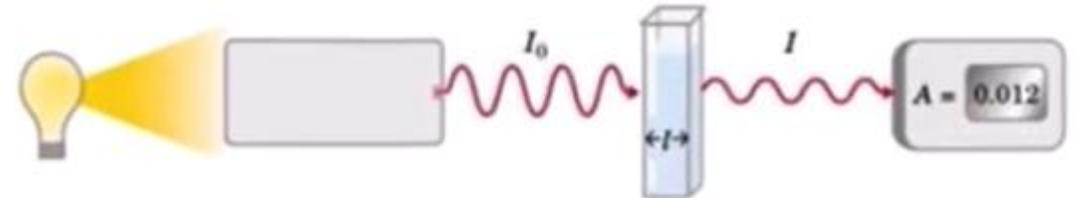
## ESPECTROFOTOMETRÍA



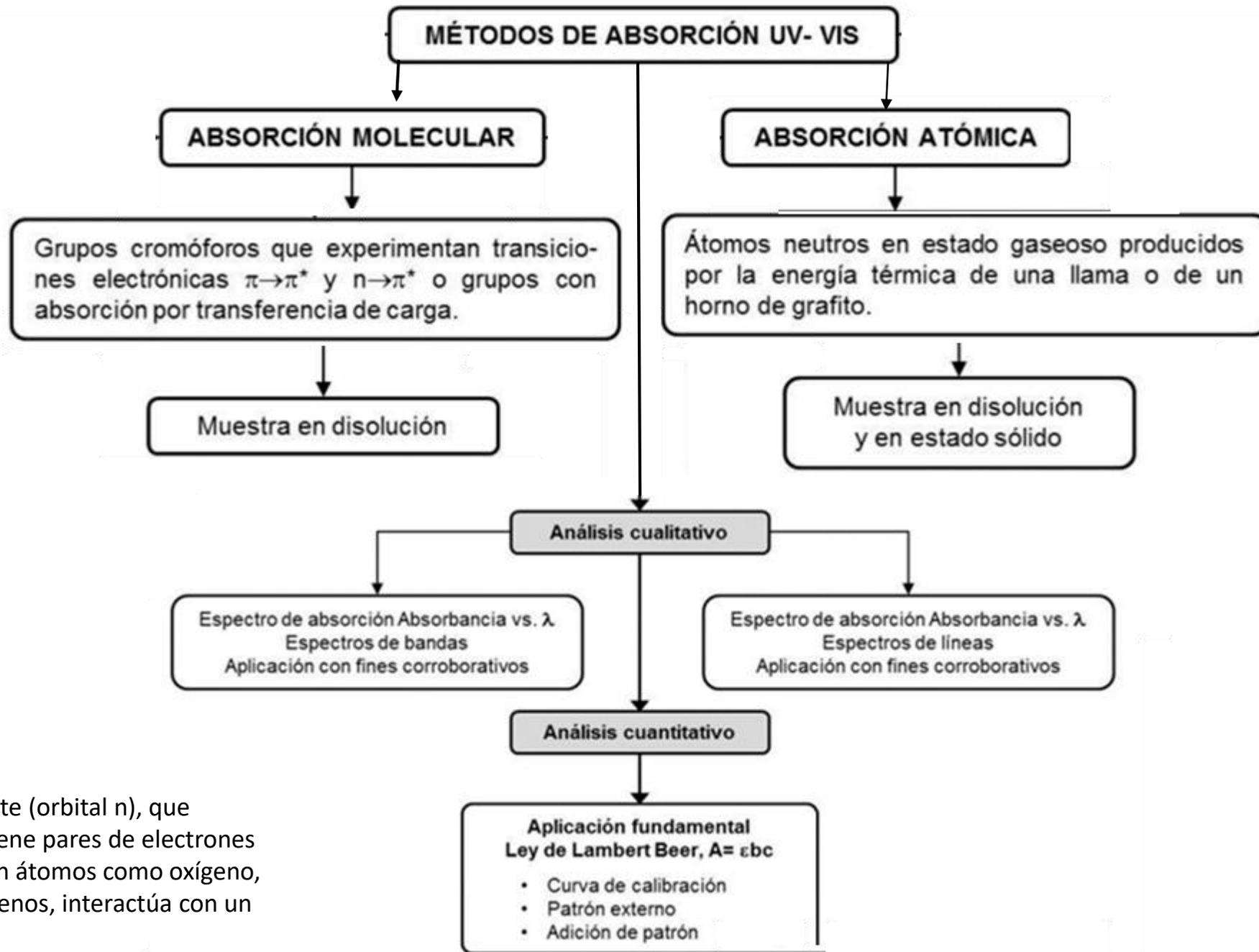
Espectro de radiación electromagnética

Luz visible

Medición



En esta técnica se mide la cantidad de fotones absorbidos que depende de longitud de onda, de la longitud del paso óptico, de la estructura de las moléculas y de su concentración en la muestra ([Ley de Lambert-Beer](#)).

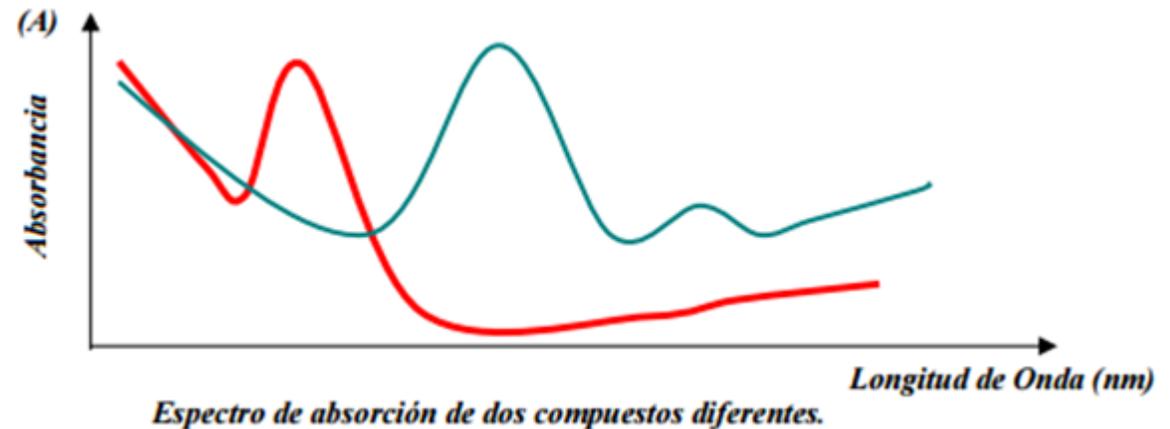


orbital no enlazante (orbital n), que típicamente contiene pares de electrones no compartidos en átomos como oxígeno, nitrógeno o halógenos, interactúa con un sistema pi.

## Fundamento de la Espectrofotometría de Absorción UV-visible

Método instrumental óptico se basa en la medida de la absorción de radiación electromagnética UV-Visible, por las moléculas del analito contenido en la muestra.

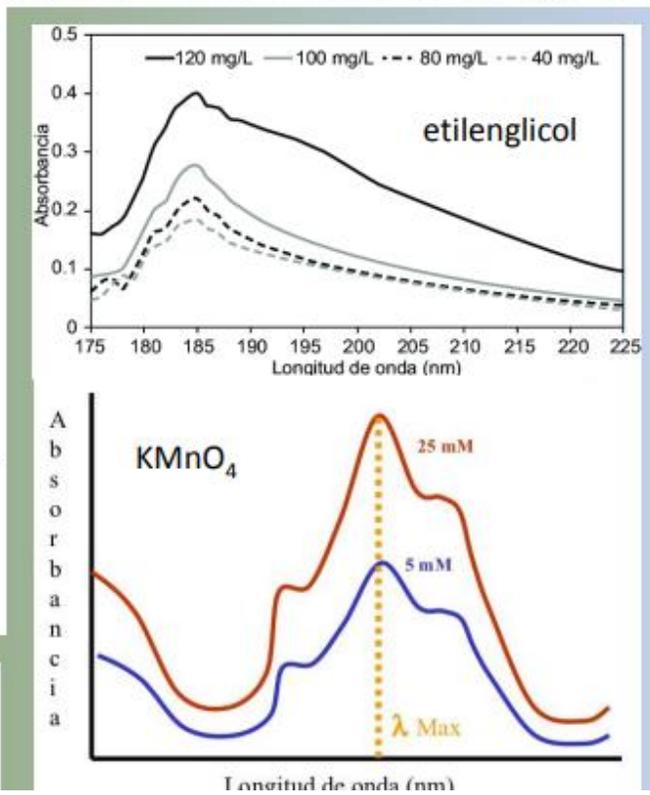
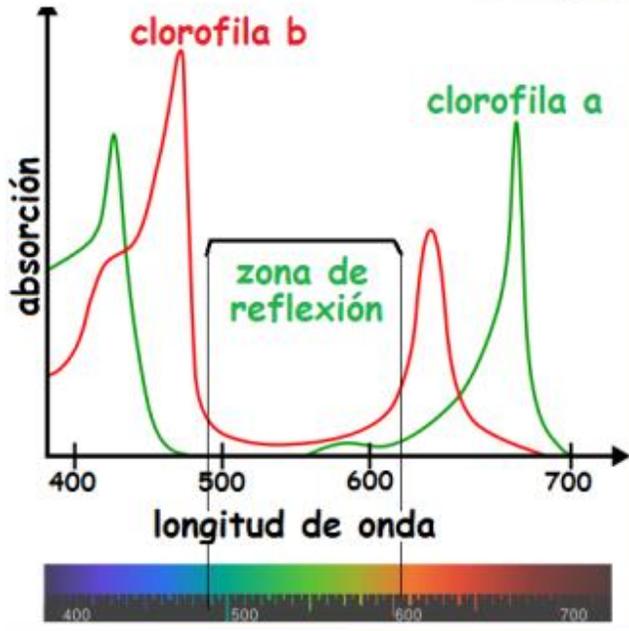
➤ En la aplicación cualitativa, los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de la especie absorbente



SON PROPIOS PARA CADA COMPUESTO

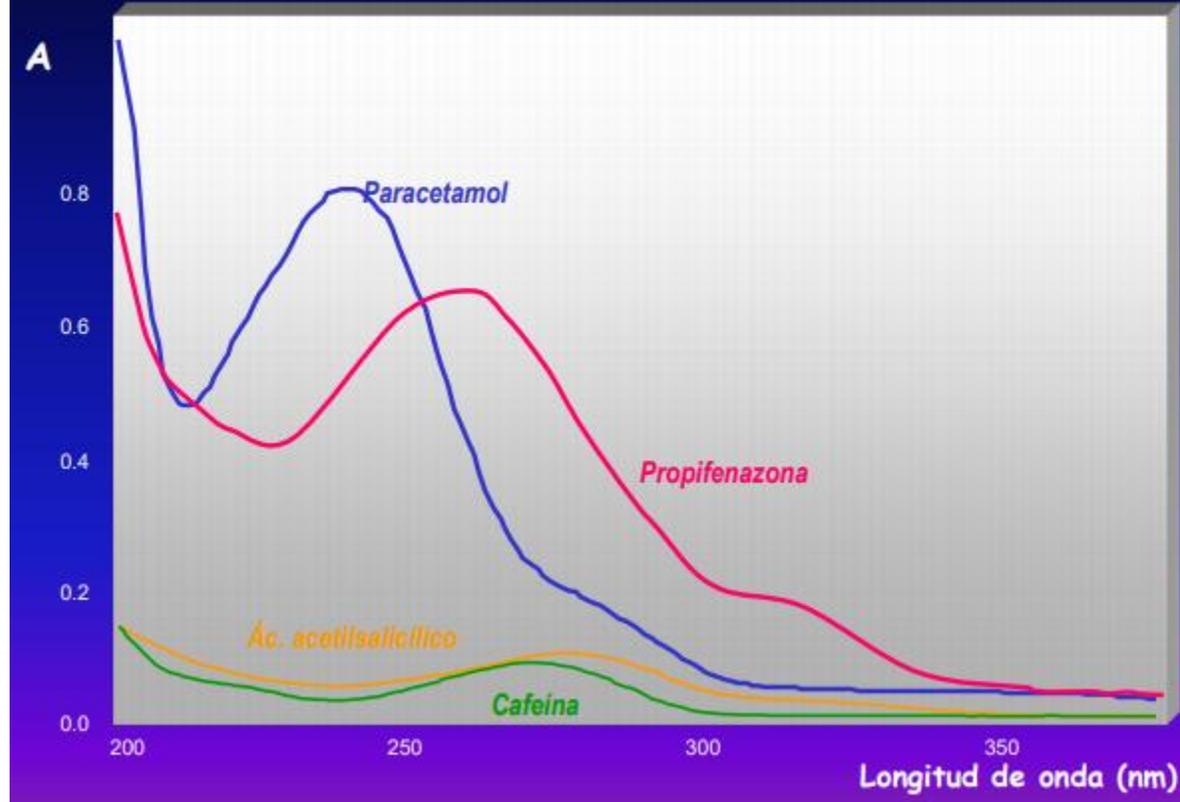
# Espectro de absorción (Espectrograma)

- #característico de cada molécula absorbente
- #moléculas que absorben en el visible tienen color
- #moléculas que absorben en el UV son incoloras



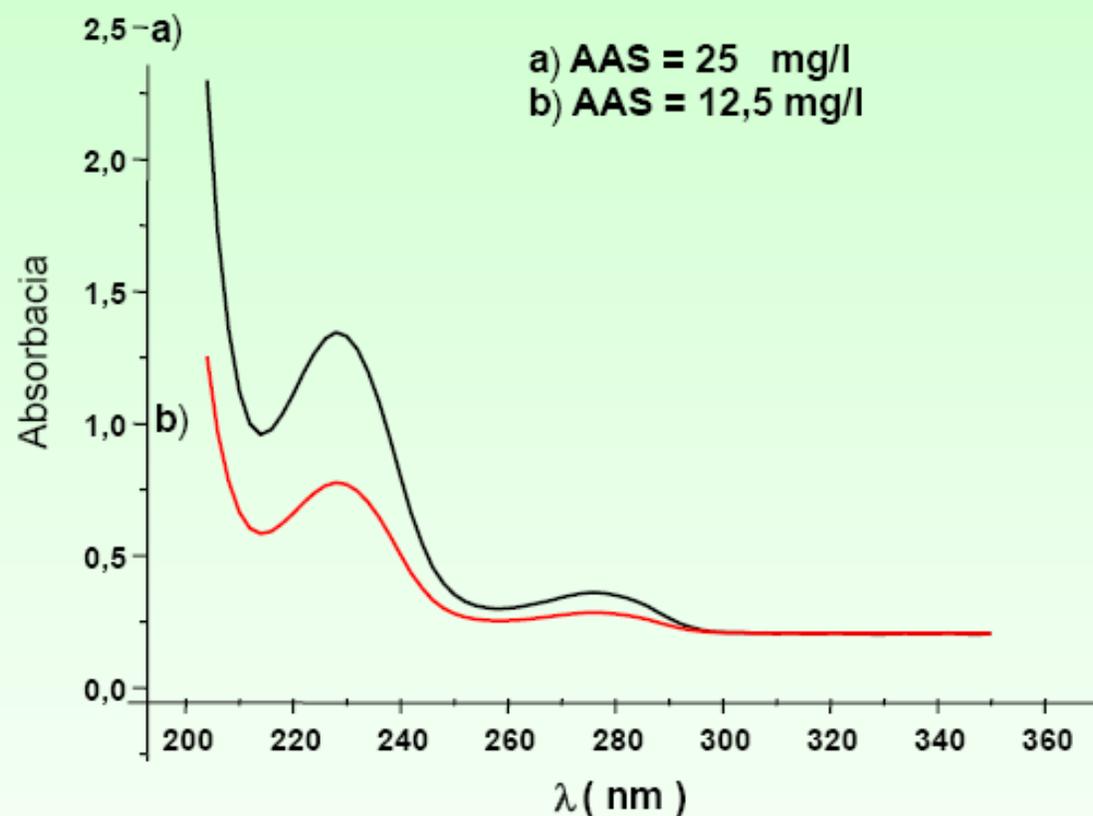
A mayor concentración mayor será la absorbancia a una determinada longitud de onda

## ESPECTRO DE ABSORCIÓN



# Espectros de absorción molecular

Espectro de absorción de ácido acetil salicílico en HCl 0,05 M



La concentración de la solución no modifica la forma del espectro

## ¿CÓMO SE DETERMINA LA CONCENTRACIÓN DE UN ANALITO UTILIZANDO LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN?

La técnica para la cuantificación consiste en la medida, a una  $\lambda$  fija, de la  $A$  de una disolución del analito contenida en una cubeta transparente de camino óptico  $b$  (cm)

La molécula del analito debe contener :

Un **cromóforo** son grupos funcionales dentro de una molécula que absorben luz visible o ultravioleta, causando transiciones electrónicas entre diferentes niveles de energía. Esta absorción de luz es lo que da lugar al color observado

Especies inorgánicas donde existe una Absorción por transferencia de carga por las absorptividades molares de los picos que son muy grandes ( $\epsilon_{\text{max}} > 10\ 000$ ).

Como consecuencia, el estado excitado es el producto de un proceso interno de oxidación-reducción.

# INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

Los instrumentos empleados en espectrometría de absorción molecular UVvisible miden las señales analíticas de absorbancia y transmitancia y se pueden clasificar en dos tipos principales:

Espectrofotómetro:



Colorímetro o fotocolorímetro.

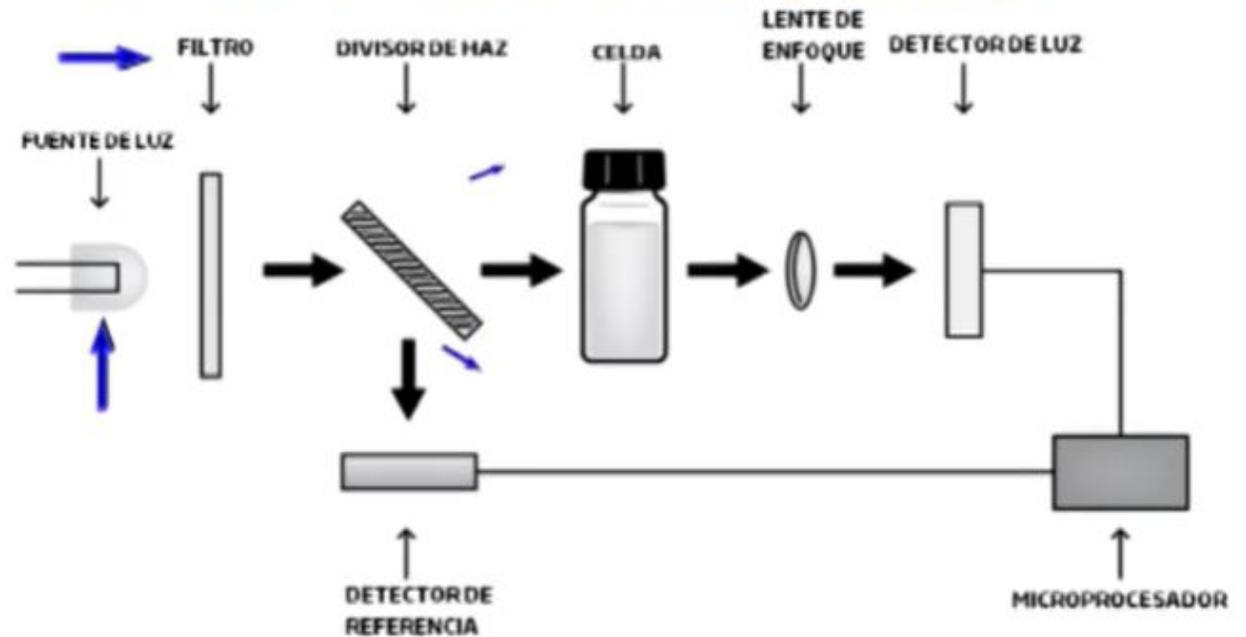


<https://www.youtube.com/watch?v=6zQpGtojNoA>



# FOTÓMETRO

- **Fotómetro**, fotocolorímetro o colorímetro, trabaja **únicamente** en el espectro de **luz visible** (400-800 nm) y selecciona una **longitud de onda determinada mediante filtros fijos**, que solo permiten el paso de una determinada longitud de onda.
- Se utilizan en el análisis de sustancias coloreadas.



"Zero" the Checker®HC with your unreacted water sample



Add reagent to your water sample



Place the cuvette into your Checker®HC



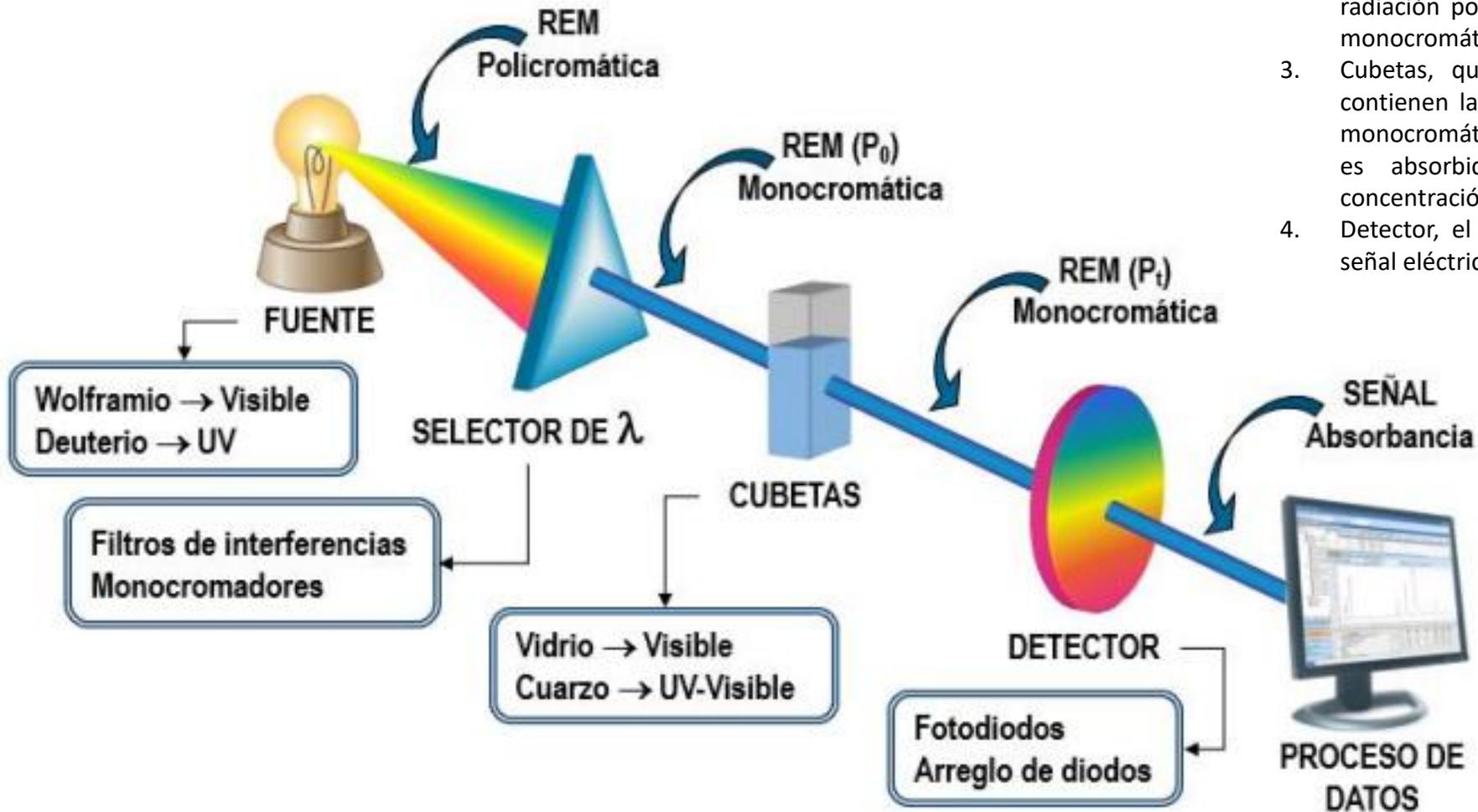
Press the button and read the results. It's that easy!

- **ESPECTROFOTÓMETRO.** es capaz de trabajar, no solo con la luz visible sino que en otras regiones del espectro electromagnético (ultravioleta e infrarroja).
- La gran **ventaja** es que permiten obtener los **espectros de absorción**, sometiendo a la sustancia en estudio a un barrido selectivo de diferentes longitudes de onda. En la actualidad es usual encontrar espectrofotómetros UV-visible capaces de realizar mediciones de absorbancia y transmitancia en rangos de 190 a 1000 nm.



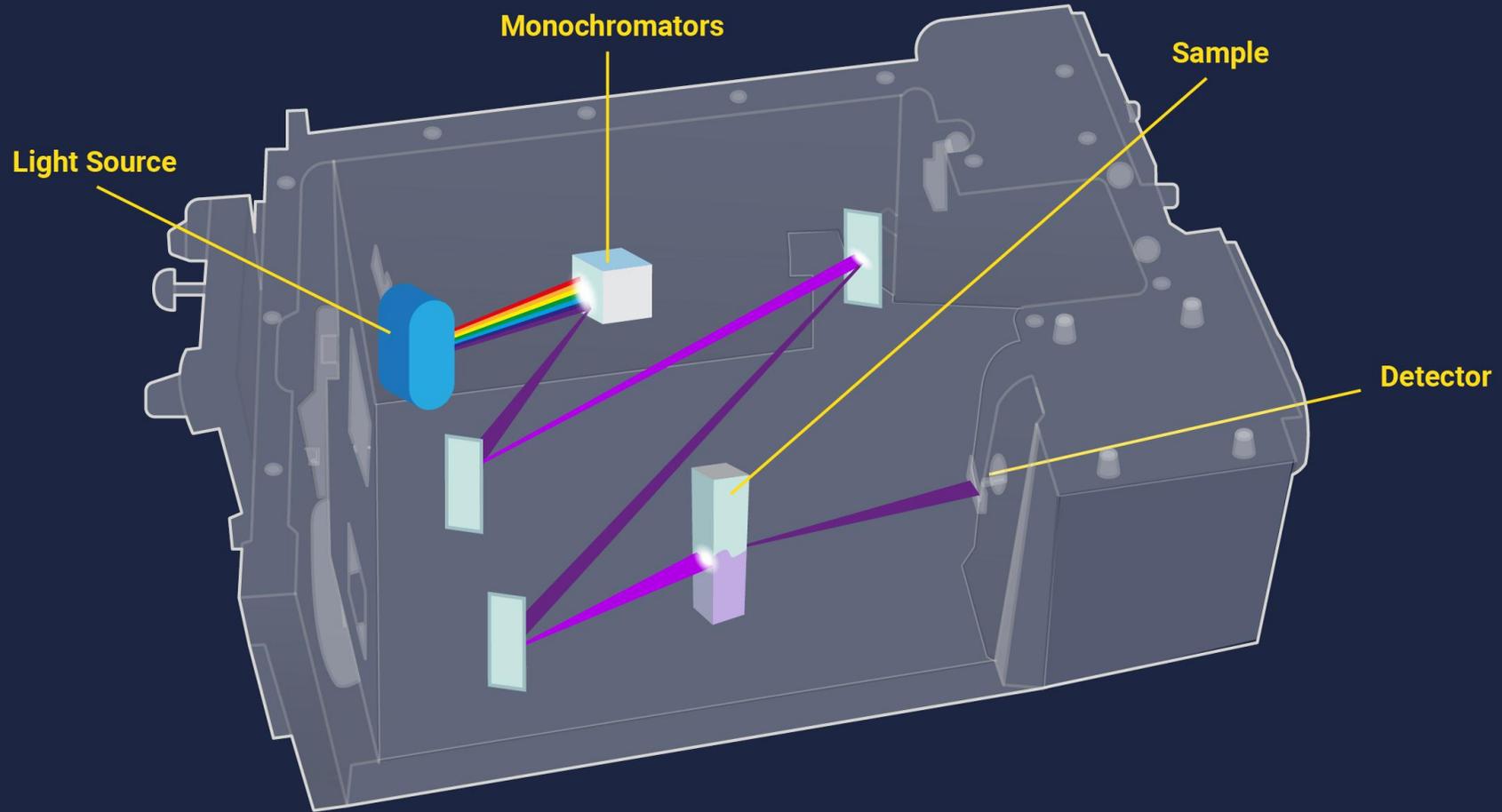
Región Ultravioleta cercano: = 200-380 nm  
Región Visible: = 380-780 nm  
Región Infrarroja: = 780-3.000 nm

# Componentes básicos de los espectrofotómetros de absorción molecular



1. Fuente de radiación, encargada de proporcionar la radiación incidente policromática de potencia  $P_0$ .
2. Selector de longitud de onda, cuya función es convertir la radiación policromática emitida por la fuente en radiación monocromática de una sola longitud de onda.
3. Cubetas, que constituyen recipientes transparentes que contienen la muestra en disolución, la cual llega radiación monocromática de potencia  $P_0$ , una parte de esta radiación es absorbida por la muestra (en función de su concentración) y otra es transmitida ( $P_t$ ).
4. Detector, el convierte la radiación transmitida  $P_t$ , en una señal eléctrica medible.

5. Registrador y procesador de datos, cuya función es registrar la señal en forma de absorbancia o transmitancia. En la actualidad el registrador es un sistema de cómputo capaz de procesar estas señales para obtener espectros y realizar análisis cuantitativo

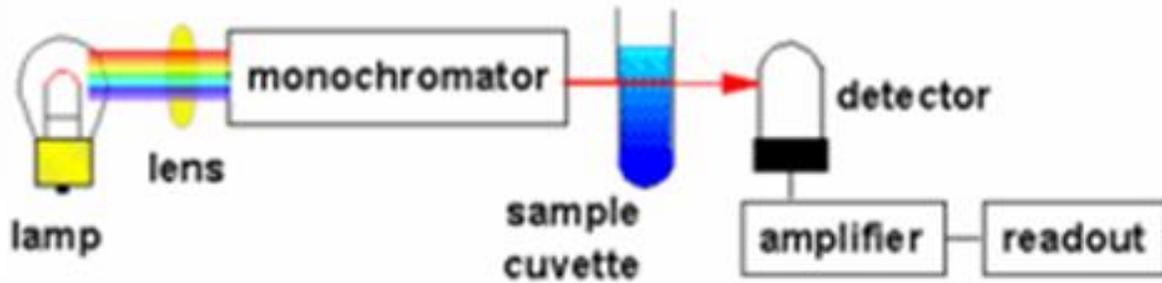


# Tipos de espectrofotómetro

Tipos de espectrofotómetros según el número de haces de luz:

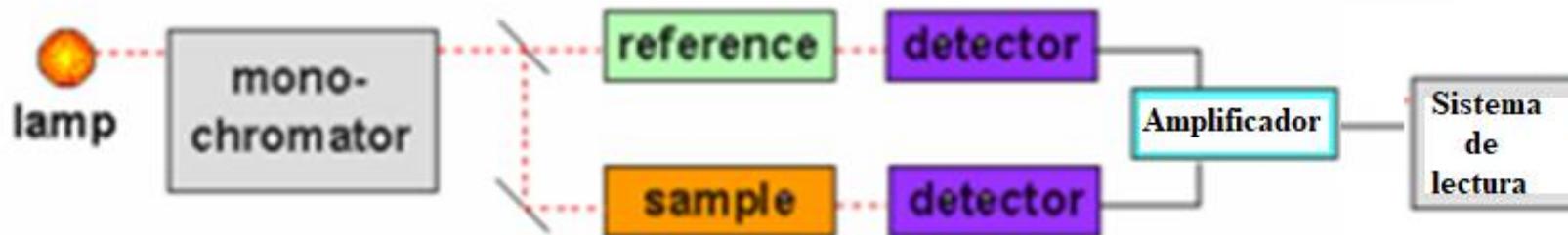
## Espectrofotómetros de haz simple

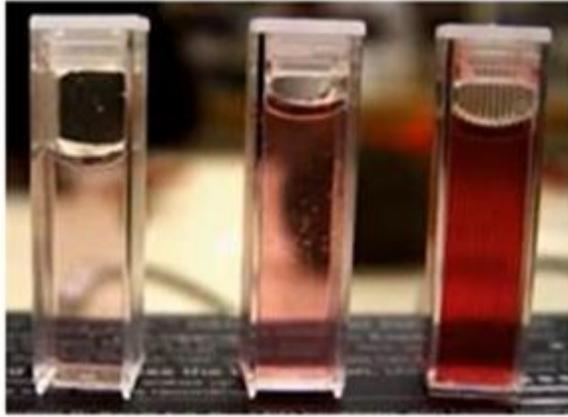
Miden la intensidad de la luz después de pasar a través de la muestra.



## Espectrofotómetros de doble haz

Miden la intensidad de la luz después de pasar a través de la muestra y la compara con la intensidad de la luz de una muestra de referencia.





## Cubetas

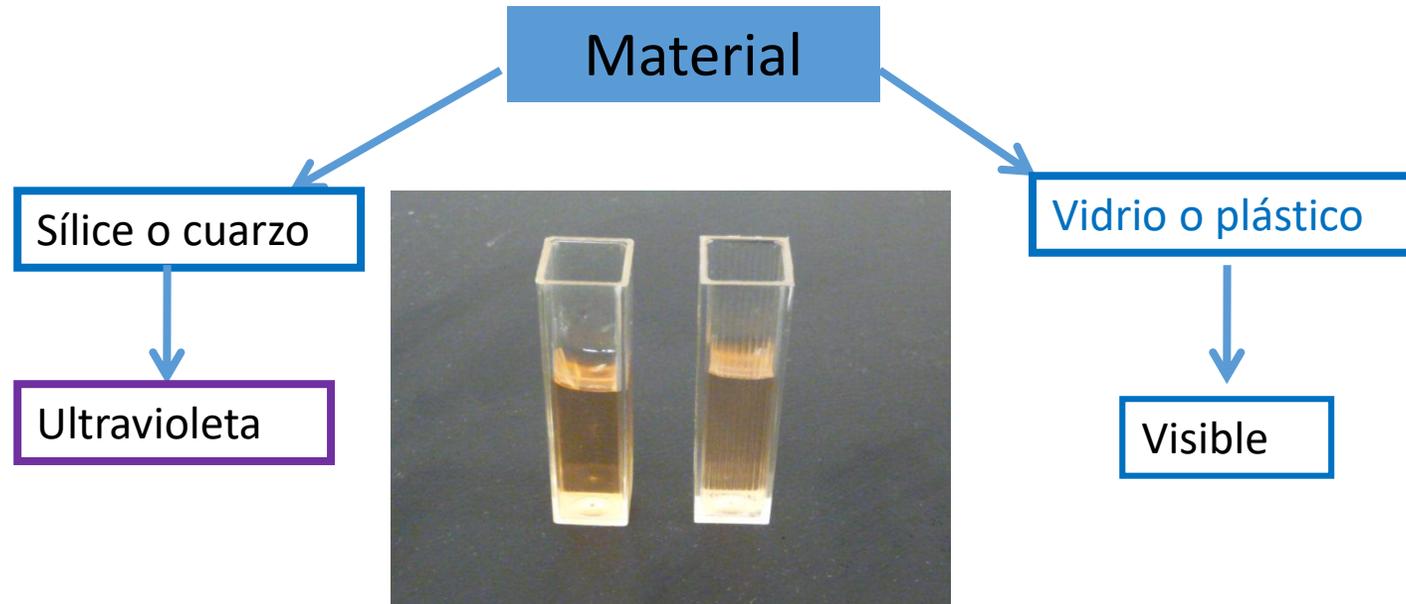
Características



Las caras ópticas de las celdas están altamente pulidas y se construyen con mucha precisión esto, para evitará pérdidas por flexión o difusión de la luz en su superficie.

- ✓ Absorción mínima a la longitud de onda de trabajo
- ✓ Colocar con caras transparentes perpendiculares a la dirección del haz incidente

Tamaño de las celdas:  
Las celdas de 1,2 y 5 mm 20 y 40 mm



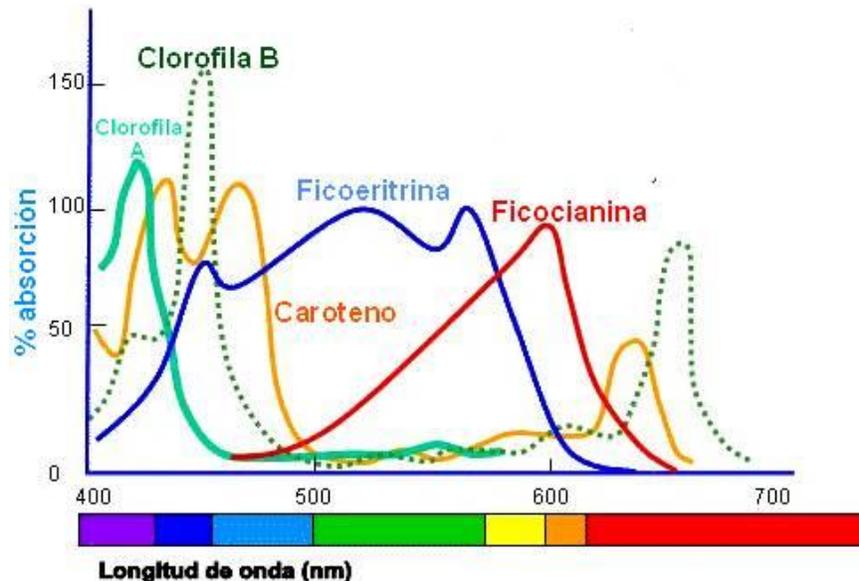
TOMAR LA CELDAS POR la parte oscura o por el CUELLO

# ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLÉCULA UV-VISIBLE

## APLICACIONES CUALITATIVAS

La identificación de un compuesto puro por espectrometría de absorción molecular UV-visible se realiza teniendo en cuenta las características del espectro de absorción (máximos, mínimos y puntos de inflexión).

La manera más fiel de realizar este procedimiento es mediante la comparación del espectro de absorción de la muestra desconocida con el espectro obtenido para un patrón de referencia conocido.



## APLICACIONES CUANTITATIVAS

Una gran variedad de especies orgánicas e inorgánicas absorben en las longitudes de onda de las regiones ultravioleta y visible, y por ello son susceptibles a su cuantificación.

Por otra parte, muchas especies no absorbentes pueden ser analizadas después de ser sometidas a transformaciones químicas para convertirlas en especies absorbentes.

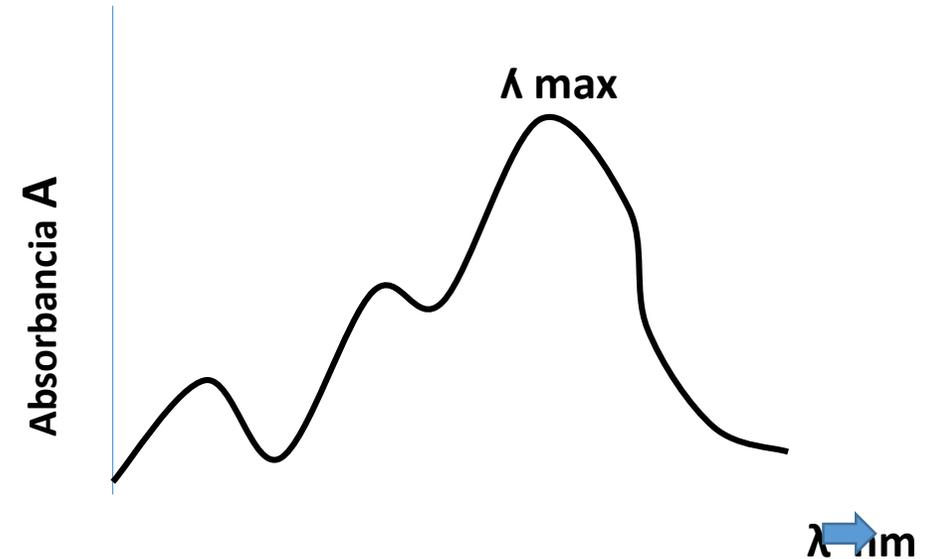


## ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLÉCULA UV-VISIBLE

- *Alta sensibilidad.* Las absortividades molares ( $\epsilon$ ) de 10 000 a 40 000 son comunes, particularmente para los complejos de transferencia de carga de las especies inorgánicas. En consecuencia, es posible el análisis de concentraciones en el intervalo de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  mol/L.
- *Adecuada selectividad.* Es posible encontrar regiones de longitud de onda en las que el único componente absorbente de una muestra sea la sustancia que se determina.
- *Alta precisión.* Los espectrofotómetros actuales poseen una elevada precisión y reproducibilidad. El error relativo de las mediciones de concentración se encuentra entre 1 y 2 %.
- *Facilidad y comodidad.* Las mediciones espectrofotométricas se realizan con rapidez empleando equipamientos instrumentales de fácil empleo y manipulación.

# Elección de la longitud de onda de trabajo

En el análisis cuantitativo la medición de la absorbancia se realiza generalmente a la longitud de onda de máxima absorción ( $\lambda_{\text{max}}$ ) o a un valor muy cercano a esta, por cuanto a este valor hay una mayor sensibilidad debido a que el cambio de la absorbancia por unidad de concentración es también mayor.



## Aplicaciones al análisis de alimentos

- La espectroscopia en la región ultravioleta-visible (UV-Vis) es una de las técnicas de laboratorio más comúnmente encontradas en el análisis de los alimentos.
- **Ejemplos:**
  - **Cuantificación de macrocomponentes** (el contenido total de hidratos de carbono, por medio del método del fenol-ácido sulfúrico)
  - **Las estimaciones de enranciamiento** (el estado de la oxidación de los lípidos, por medio del ensayo del ácido tiobarbitúrico)
  - **Determinación de pigmentos** basada en su absorción de radiación en la zona del visible

Especies que no absorben en el Visible:  
Se determinan mediante su reacción previa con reactivos adecuados para dar un compuesto coloreado

- Análisis del contenido de proteínas solubles.
- Determinación de nitritos productos carnicos
- Determinación de hierro en vinos
- Determinación de fosfato en bebidas

*Algunas aplicaciones de la espectrometría UV-vis en el análisis de alimentos.*

<b>Analito</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Condiciones experimentales</b>	<b><math>\lambda</math> trabajo</b>
Nitratos	Aguas	Absorción de la radiación ultravioleta por el ión nitrato.	275 nm
Amonio	Aguas	Formación de un complejo amarillo-pardo rojizo $I(NH_2)Hg$ que se obtiene cuando se mezcla el reactivo de Nessler ( $I_2Hg \cdot 2IK$ ) con una solución acuosa conteniendo ión amonio. La intensidad del color es función del ión amonio presente, y se determina por colorimetría.	410 nm
Boro	Aguas	Determinación de la cantidad de boro, mediante espectrofotometría, previa reacción con azometino.	410 nm
Esteres	Rones	Reacción cuantitativa de los ésteres con hidroxilamina en solución alcalina, formación de ácido hidroxámico, acidificación, formación de un complejo coloreado con iones férricos y medida del color desarrollado	525 nm

<b>Analito</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Condiciones experimentales</b>	<b><math>\lambda</math> trabajo</b>
Metanol	Bebidas alcohólicas	Oxidación del alcohol metílico a formaldehído por potasio permanganato en presencia de ácido fosfórico y medida espectrofotométrica de la reacción coloreada del formaldehído con ácido cromotrópico. Coloración violeta específica del formaldehído.	575 nm
Almidón	Cereales	Extracción de azúcares simples con etanol caliente 80%, permaneciendo el almidón. El residuo de almidón se solubiliza con ácido perclórico diluido, y medida espectrofotométrica del color desarrollado al calentarlo con el reactivo antrona-ácido sulfúrico.	630 nm
Anhídrido sulfuroso	Cerveza	El SO <sub>2</sub> se destila en medio ácido y se lleva a una solución tamponada de DTNB (Ditiobis-Acido Nitrobenzoico) por medio de una corriente de nitrógeno. El producto formado en la reacción se mide por espectrofotometría.	415 nm
Azúcares reductores	Compotas, mermeladas y jaleas	Formación de óxido cuproso por reacción de los azúcares con cobre (II) en medio alcalino. Reacción del óxido cuproso con ácido arsenomolibdico y medición espectrofotométrica del ácido arsenomolibdoso resultante de la reacción.	550 nm

<b>Analito</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Condiciones experimentales</b>	<b><math>\lambda</math> trabajo</b>
Prolina	Jugo de uvas	Determinación cuantitativa de la prolina por reacción con ninhidrina en medio ácido.	517 nm
Actividad fosfatasa	Leche	La actividad de la fosfatasa de la leche en polvo se determina por el poder de la fosfatasa de liberar el fenol de fenilfosfato disódico. Se mide la cantidad de fenol liberado en las condiciones prescritas, por la medida espectrofotométrica de la coloración, desarrollada con el reactivo de Gibbs.	610 nm
Hidroxi prolina	Productos Cárnicos	Previa hidrólisis en medio ácido de las proteínas y oxidación de la hidroxiprolina. El derivado formado con el p-dimetilamino-benzaldehído se valora colorimétricamente.	560 nm
Nitritos	Productos Cárnicos	Reacción de los nitritos con ácido sulfanílico y $\alpha$ -naftilamina, y lectura de la intensidad de la coloración obtenida mediante espectrofotometría.	520 nm
Fósforo	Productos Cárnicos, Cereales, Lácteos	Transformación del fósforo en ácido pirofosfórico, posterior hidrólisis del mismo y medida del color producido al añadirle el reactivo molibdato-vanadato.	436 nm

<b>Analito</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Condiciones experimentales</b>	<b><math>\lambda</math> trabajo</b>
Furfuraldehído	Rones	Destilación y posterior medida espectrofotométrica.	277 nm
Etanal	Sidra	El etanal se determina en la sidra, previamente decolorada con carbón, midiendo la coloración verde o violeta que da con el sodio nitroprusiato y la piperidina.	570 nm
Cobre	Varios	El sodio dietilditiocarbamato reacciona con el cobre (reacción de Delepine), dando la sal correspondiente a este metal y coloración amarilla oro, cuya intensidad se mide por colorimetría o espectrofotometría.	420 nm
Hierro	Varios	El hierro oxidado por el agua oxigenada se combina con el ion sulfocianico en medio clorhídrico. El color rojo se mide por espectrofotometría.	508 nm
2,3 butanodiol	Vinos	El 2,3-butanodiol separado del vino, previa defecación, por extracción con acetona, se oxida con ácido peryódico a acetaldehído. La reacción coloreada del acetaldehído con el sodio nitroprusiato y la piperidina permite la determinación espectrofotométrica.	270 nm

Analito	Alimentos	Condiciones experimentales	$\lambda$ trabajo
Ácido benzoico	Vinos	Extracción por el éter del ácido benzoico presente en el vino. Tratamiento del extracto por la mezcla nitro-sulfúrica y formación del ácido 3,5- dinitrobenzoico, que es extraído con éter y después recogido por la mezcla acetona-alcohol. La adición de hidróxido de sodio da origen a una coloración violeta.	570 nm
Ácido sórbico	Vinos	En la destilación del vino para la determinación de la acidez volátil el ácido sórbico pasa casi en su totalidad al destilado junto con el ácido acético, falseando el resultado del análisis. Para valorar este ácido sórbico se parte de una muestra de 0,5 ml de destilado (lo que no supone un error sensible) y se valora por espectrofotometría en el ultravioleta.	256 nm

# Aplicaciones

- Determinación de iones metálicos y complejos de elementos de transición (  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$  )
- Complejos de transferencia de carga  
ej:  $\text{Fe(II)}-1,10$  Fenantrolina ,  $\text{Fe(III)}$ - tiocianato
- Compuestos orgánicos con enlaces conjugados, heterociclos
- Campos: industrial, clínico, forense, medio ambiente

# Ejemplos de métodos espectrofotométricos en alimentos

Método
Determinación de Proteína método Biuret a 540 nm (Gornall, et al, 1949)
Determinación de nitritos y nitratos NORMA Oficial Mexicana NOM-122-SSA1-1994, Bienes y servicios. Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias.
Determinación de Proteína método Lowry a 750 nm (Lowry et al, 1951)
Determinación de Índice de Peróxidos "método colorimétrico" (Kirk et al, 1996)
Determinación del Índice de Kreis a 540 nm (Holm y Greenbank, 1923)



Determinación de Carbohidratos Reductores Método ácido dinitrosalicílico (DNS) a 540 nm (Nielsen, 2003)

Determinación de Malatión a 420 nm (Desphande, 2002)

Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas a 570 nm (Amerine, 1980)

Determinación de Polifenoles a 525 nm (Desphande, 2002)

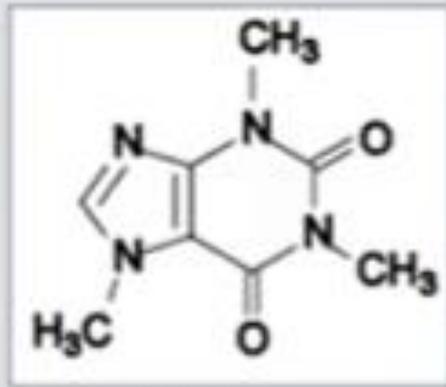
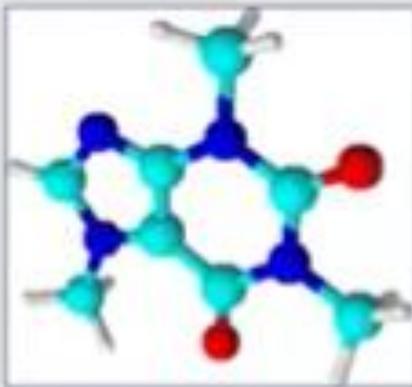
Determinación de Hierro en cenizas a 530 nm (SECOFI. NMX-F-503-1987)

# Ejercicios

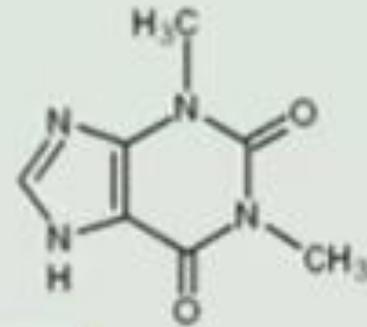
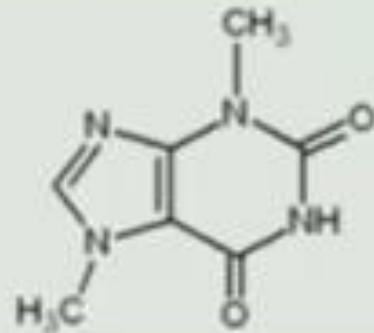
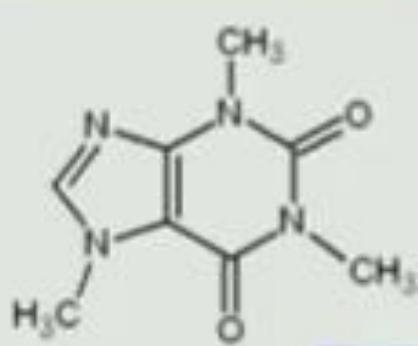
- Pg 398

- En la determinación del contenido de nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) en una muestra de carne prensada aplicando la Espectrofotometría UV-VIS, se procedió de la siguiente forma:
- Preparación de la muestra. Se pesaron exactamente 9.5200 g de carne prensada previamente triturada y homogenizada, a los que se adicionaron 40 mL de agua destilada; se mezcló y trasvasó a un volumétrico de 500 mL adicionando agua destilada hasta 300 mL aproximadamente. La suspensión se mantuvo en baño de vapor durante 2 horas y se adicionaron 5 mL de  $\text{HgCl}_2$ , se enrasó y se filtró.
- Determinación. Se tomó una alícuota de 10 mL de la muestra y se llevó a un volumétrico de 50 mL, se enrasó y se adicionaron 2 mL de reactivo de Griess, manteniéndose en reposo durante 1 hora para garantizar el desarrollo de color. Paralelamente se realizó un ensayo en blanco para calibrar el equipo y eliminar interferencias.
- Preparación de la curva de Calibración. Se pesaron exactamente 0.25 g de un patrón de  $\text{NaNO}_2$ , los cuales fueron disueltos con agua destilada hasta completar 1 litro de disolución, de esta solución se tomaron exactamente 20 mL y se diluyeron nuevamente hasta 1L para de esta forma obtener la solución madre. Posteriormente se tomaron alícuotas de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 mL, las cuales se llevaron a 6 volumétricos de 50 mL y se enrasaron con agua destilada. Finalmente se adicionaron 2 mL de reactivo de Griess y se mantuvieron las soluciones en reposo durante 1 hora con el objetivo de garantizar el desarrollo del color. A todas las soluciones tanto patrones como muestras se les leyó la Absorbancia en un Espectrofotómetro a 520 nm,
- obteniéndose los siguientes resultados:
 

No de Tubos	B	1	2	3	4	5	6	Muestra	g de $\text{NaNO}_2$
0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	¿?		
									Absorbancia -
									0.12 0.23 0.35 0.42 0.50 0.61 0.45
- Ecuación de Regresión:  $y = 0.1903 X + 0.0387$  Coeficiente de Determinación:  $R^2 = 0.9932$



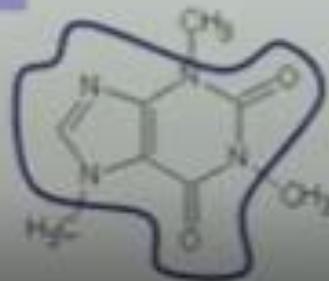
La cafeína es un alcaloide con propiedades estimulantes cardíacas y del sistema nervioso central.



**Teobromina:**  
Cacao, té, pequeñas cantidades

**Cafeína:**  
Café, té, cacao, nuez de cola

**Teofilina:**  
Café, té (en cantidades muy pequeñas)



**Estructura común: xantina**



La cafeína se encuentra principalmente en el café, el té y la cola.



Hojas de té



Nuez de cola



Planta de cafeto y granos de café tostados

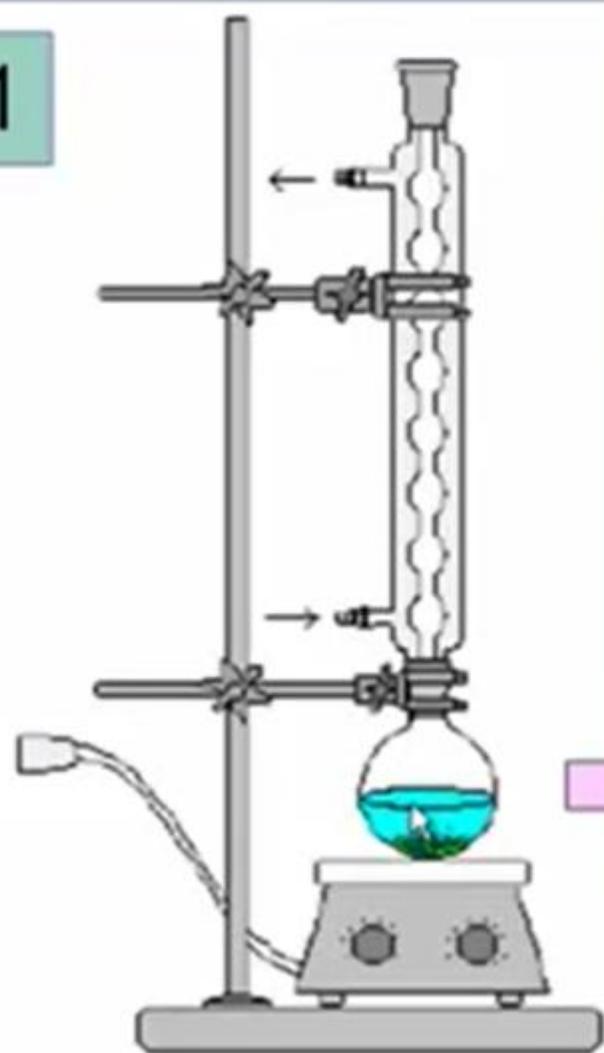


Unos 100 mg de cafeína



# Proceso de obtención a partir de las hojas de té

1

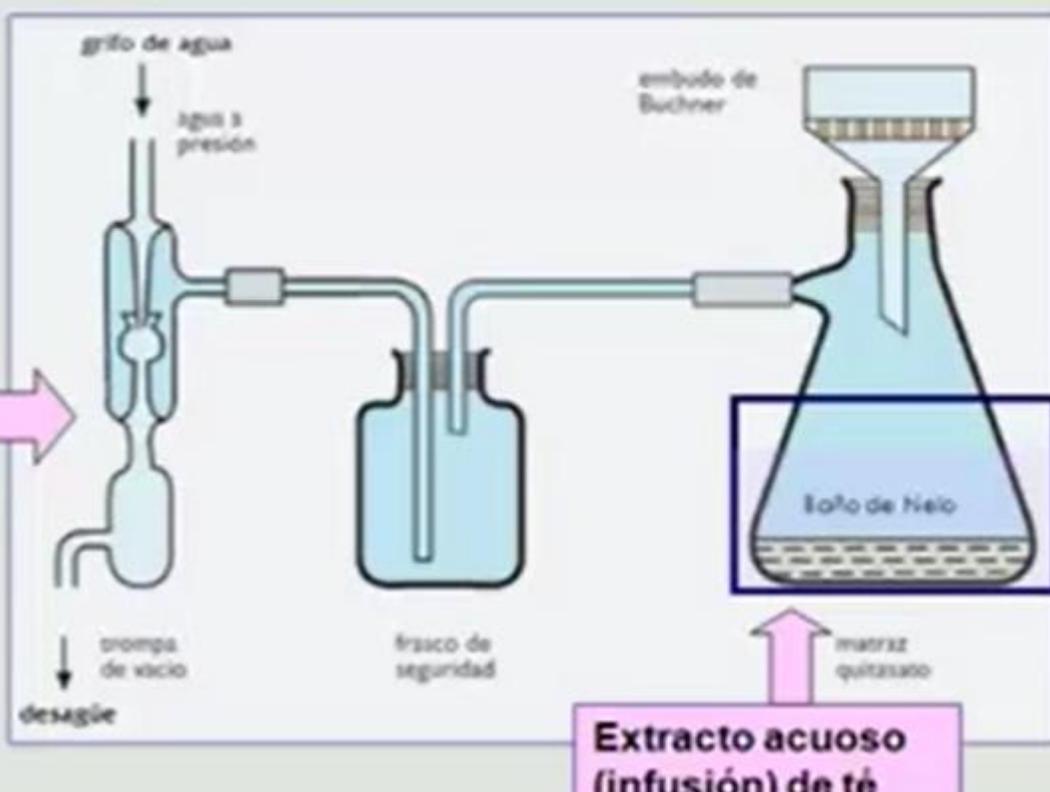


Ebullición a reflujo (extracción sólido-líquido)

La cafeína es soluble en agua caliente

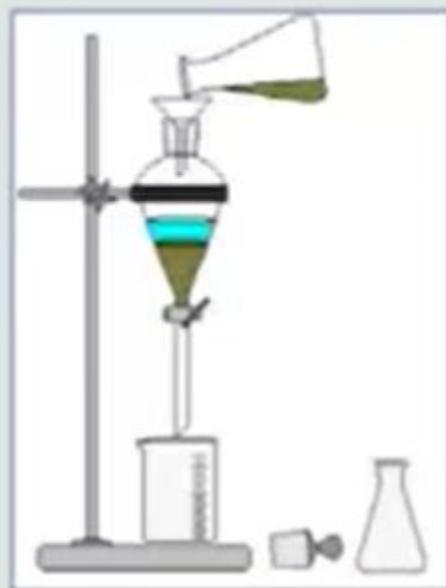
2

Filtración a vacío



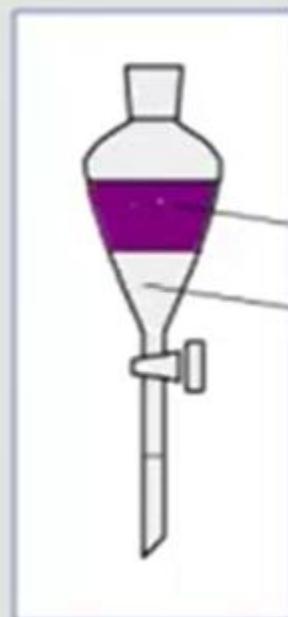
3

## Extracción líquido-líquido con diclorometano, separación del extracto por decantación, limpieza y deshidratación del mismo



Manejo del embudo de decantación:

- Eliminación de la sobrepresión en el interior
- Agitación más o menos prolongada (extracción)
- Poner de nuevo en contacto con la atmósfera



Fase acuosa (infusión de té)

Fase orgánica (extracto de cafeína en diclorometano)

Dos extracciones sucesivas con DCM para la separación de la fase orgánica (incluyendo la emulsión) y el posterior aislamiento de la cafeína



Lavado de la fase orgánica con disolución de hidróxido sodio y nueva separación de la fase orgánica

Deshidratación con sulfato de sodio anhidro

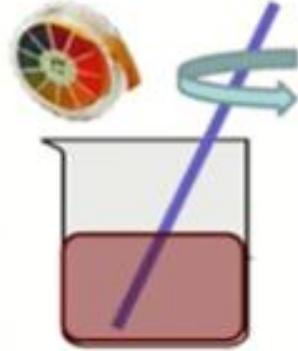


# 1 Medimos el volumen de refresco con la probeta

Medir 250 mL de refresco de cola con una probeta e introducir en un vaso de precipitados



# 2 Neutralizamos y eliminamos el CO<sub>2</sub>



Se añade media cucharada de carbonato sódico y se agita con la varilla hasta que cese el burbujeo. Comprobar con papel indicador que el pH es básico. En caso contrario, añadir un poco más de carbonato sódico.

# 3 Realizamos la extracción líquido-líquido con diclorometano (DCM)

Adición de DCM



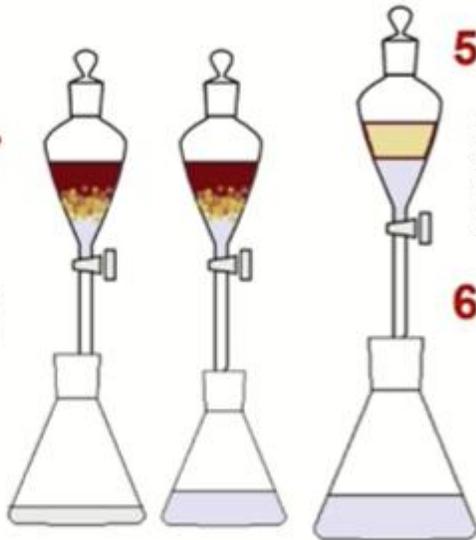
Manejo del embudo de decantación:

- a) Eliminación de la sobrepresión en el interior
- b) Agitación más o menos prolongada (extracción)
- c) Poner de nuevo en contacto con la atmósfera

# 4

## Extracciones líquido-líquido consecutivas

Se realizan dos extracciones consecutivas con DCM para la separación de la fase orgánica (incluyendo la emulsión)



# 5 Lavado con NaOH

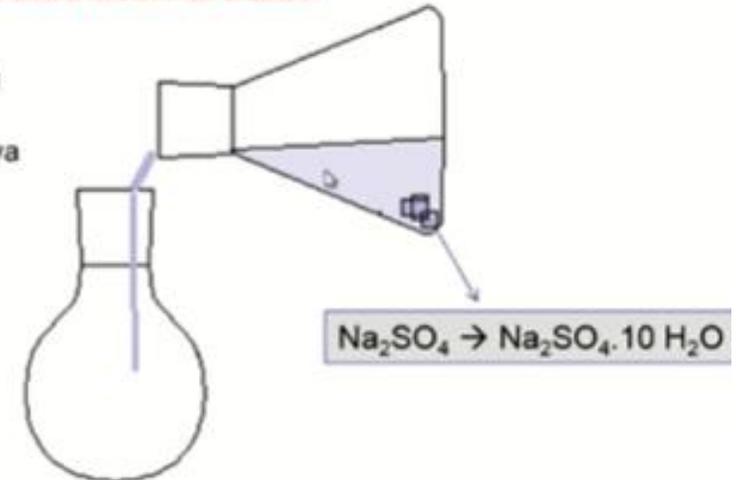
La fase orgánica se lava con NaOH (ac), separándola ya definitivamente

# 6 Deshidratación con sulfato de sodio anhidro

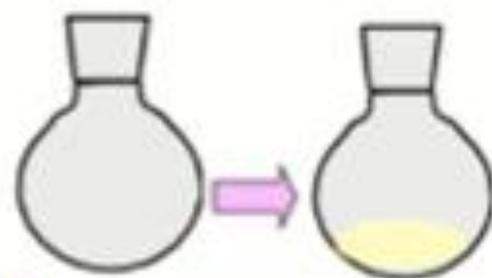
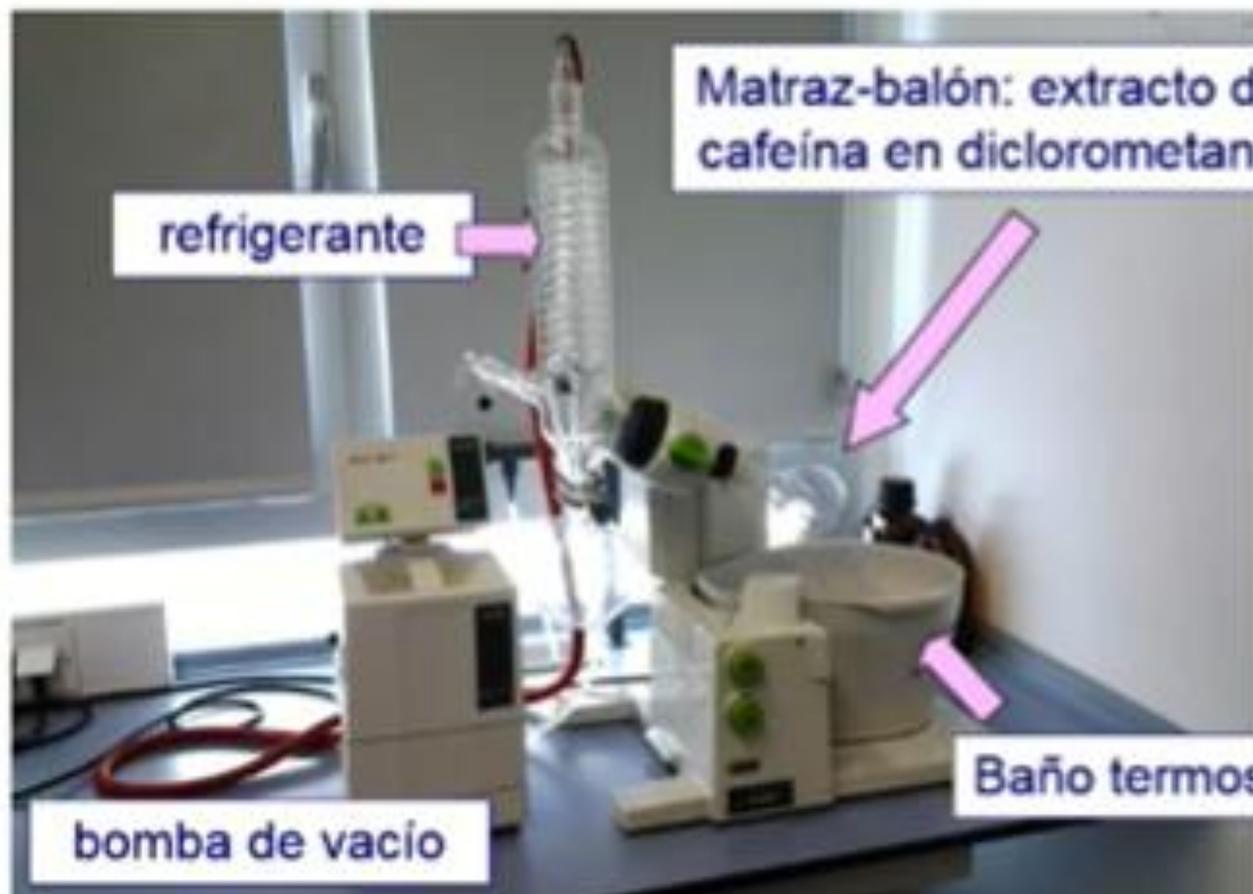


# 7 Decantación del extracto deshidratado

Se decanta cuidadosamente el contenido del erlenmeyer (extracto de cafeína en DCM, ya deshidratado)



## 8 Separación de la cafeína con el rotavapor

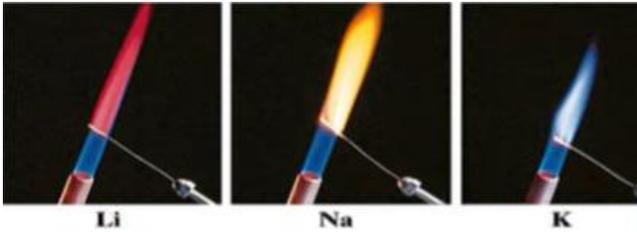


9

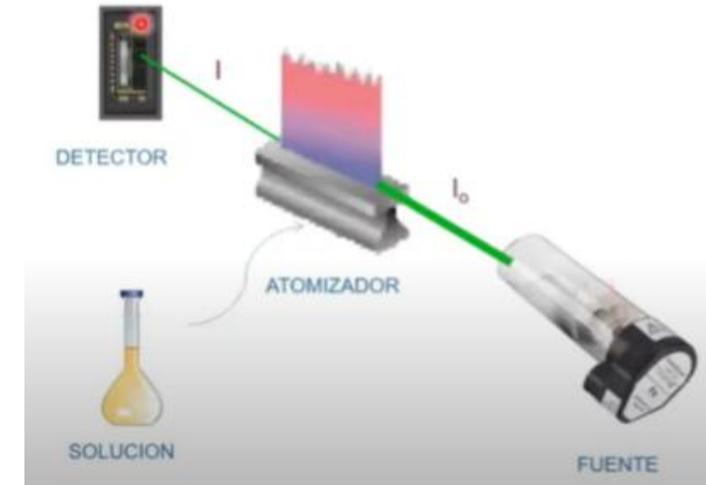
Determinación de la masa de cafeína obtenida (tarando previamente el matraz del rotavapor)

# Espectrometría de Absorción Atómica (AA)

o AAS, por *atomic absorption spectroscopy*)



Se basa en el uso de la energía que proporciona una llama para producir vapor atómico a partir de la muestra, a la **muestra atomizada**, es decir con sus átomos en estado gaseoso se le hace pasar una luz (en la **región del UV**), dicha luz va ser absorbida por los átomos presentes en el estado gaseoso provocando una **disminución de la intensidad** para las longitudes de onda características de dicho átomo.



- PARA OBTENER LOS ESPECTROS ATÓMICOS ES NECESARIO Atomizar las muestras: las moléculas constituyentes se descomponen y se convierten en partículas gaseosas elementales; Los espectros obtenidos están constituidos por una cantidad limitada de líneas discretas de  $\lambda$  características de cada elemento
- ¿CUÁLES SON LAS VENTAJAS DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS BASADOS EN LA ESPECTROSCOPIA ATÓMICA?
- Son específicos
- Amplio rango de aplicación
- Excelente sensibilidad (ppb)
- Rapidez y conveniencia

Tipo de atomizador	T° de atomización (°C)
Llama	1700 3150
Vaporización electrotérmica	1200 3000
Plasma de argón (ICP)	4000 6000
Plasma de corriente continua (DCP)	4000 6000
Plasma por microondas (MIP)	2000 3000
Plasma de descarga luminiscente (CD)	No térmico
Arco eléctrico	4000 5000
Chispa eléctrica	40000

# Espectrometría de Absorción Atómica (AA)

o **AAS**, por *atomic absorption spectroscopy*)

Esta técnica se utiliza principalmente para el estudio de metales pesados de forma cualitativa y cuantitativa. Es posible relacionar la concentración del metal con la absorción a través de la **ley de Lambert-Beer**, cuanto mayor sea la concentración del metal en estado gas mayor será la absorción en el espectro.



<https://www.youtube.com/watch?v=EKjpoqQ1HEc>

<https://www.youtube.com/watch?v=W6Ov-XUwpTY>

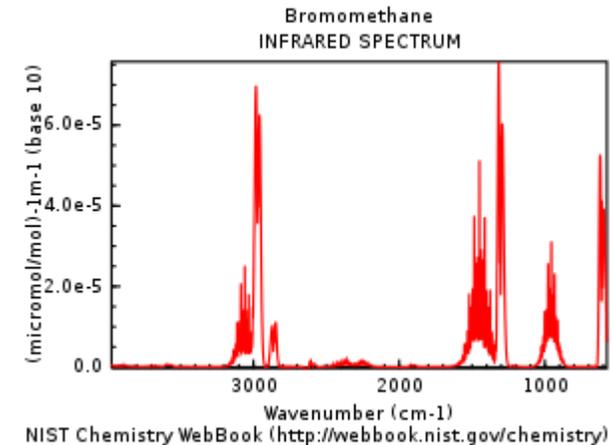
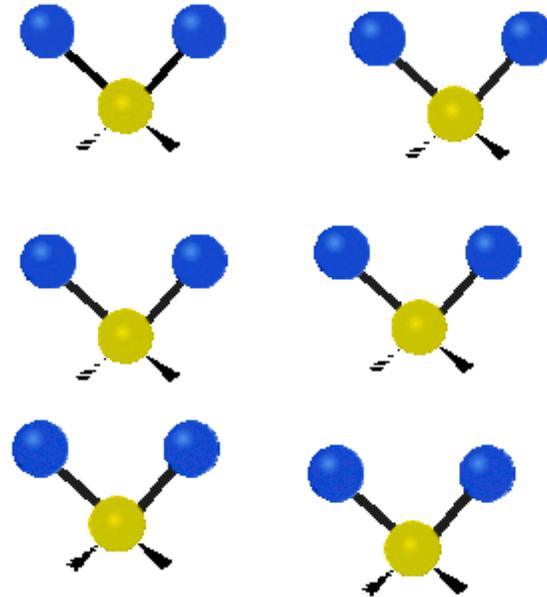
- Los métodos analíticos basados en la absorción atómica son muy específicos debido a que las líneas de absorción atómica son considerablemente muy estrechas (0'002 a 0'005nm) y las energías de transición son únicas para cada elemento.
- El principal inconveniente de ésta técnica es la necesidad de una fuente de lámpara distinta para cada elemento.

**TABLE 9-3** Detection Limits (ng/mL)\* for Selected Elements†

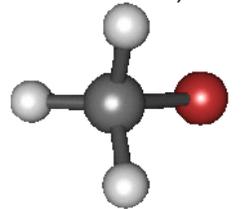
Element	AAS‡ Flame	AAS§ Electrothermal	AES‡ Flame	AES‡ ICP	AFS‡ Flame
Al	30	0.005	5	2	5
As	100	0.02	0.0005	40	100
Ca	1	0.02	0.1	0.02	0.001
Cd	1	0.0001	800	2	0.01
Cr	3	0.01	4	0.3	4
Cu	2	0.002	10	0.1	1
Fe	5	0.005	30	0.3	8
Hg	500	0.1	0.0004	1	20
Mg	0.1	0.00002	5	0.05	1
Mn	2	0.0002	5	0.06	2
Mo	30	0.005	100	0.2	60
Na	2	0.0002	0.1	0.2	—
Ni	5	0.02	20	0.4	3
Pb	10	0.002	100	2	10
Sn	20	0.1	300	30	50
V	20	0.1	10	0.2	70
Zn	2	0.00005	0.0005	2	0.02

# Espectrometría Infrarrojo (IR)

La Espectroscopía infrarroja aprovecha el hecho de que las moléculas absorben frecuencias características de su estructura, mide las frecuencias vibracionales de los enlaces o grupos de enlaces en una molécula con el objeto de caracterizar grupos funcionales



Muestra de lectura de bromometano (CH<sub>3</sub> Br), que muestra picos alrededor de 3000, 1300, y 1000 cm<sup>-1</sup> (en el eje horizontal).



Este tipo de espectroscopía utiliza radiación IR, longitudes de onda superiores a 780 nm.

La radiación infrarroja es muy amplia y generalmente se divide en tres regiones:

1. Infrarrojo cercano (NIR) va desde los 780 nm (12.800 cm<sup>-1</sup>) hasta los 2.500 nm (4.000 cm<sup>-1</sup>),
2. infrarrojo medio (MIR) desde los 2.500 hasta los 50.000 nm (200 cm<sup>-1</sup>) y
3. el infrarrojo lejano (FIR) de 50 μm a 1000 μm (10 cm<sup>-1</sup>).

[https://www.youtube.com/watch?v=jA\\_ooHKs2BY](https://www.youtube.com/watch?v=jA_ooHKs2BY)

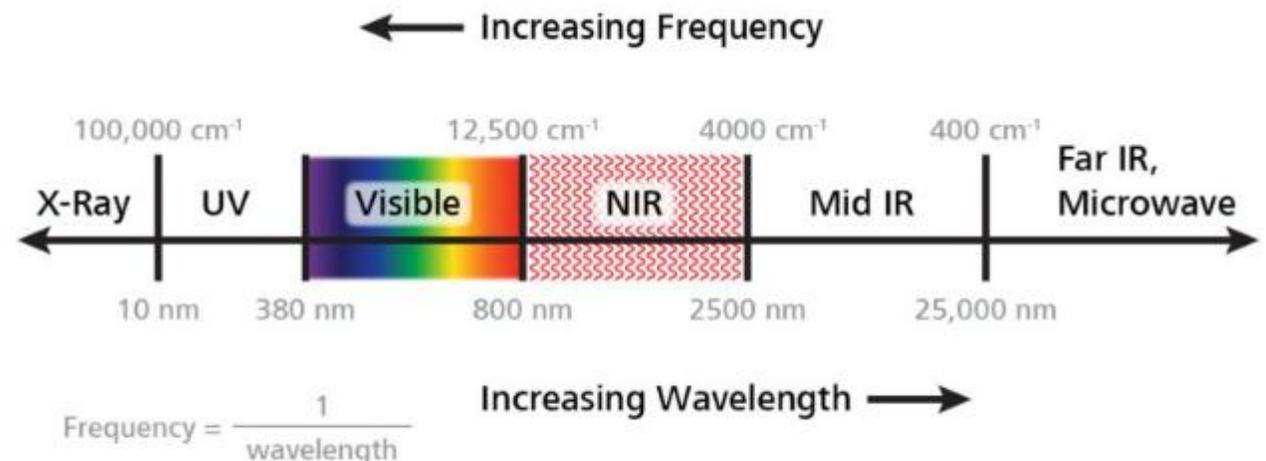
**La espectroscopia de infrarrojo cercano, también conocida como espectroscopia NIR o NIRS, ha sido una técnica analítica establecida durante más de 30 años. Es un método rápido y confiable para medir propiedades químicas y físicas en sólidos y líquidos.**

La espectroscopia NIR analiza la interacción entre la luz y la materia para generar un espectro. En los métodos espectroscópicos, la luz normalmente no se describe por la energía aplicada, sino por la longitud de onda.

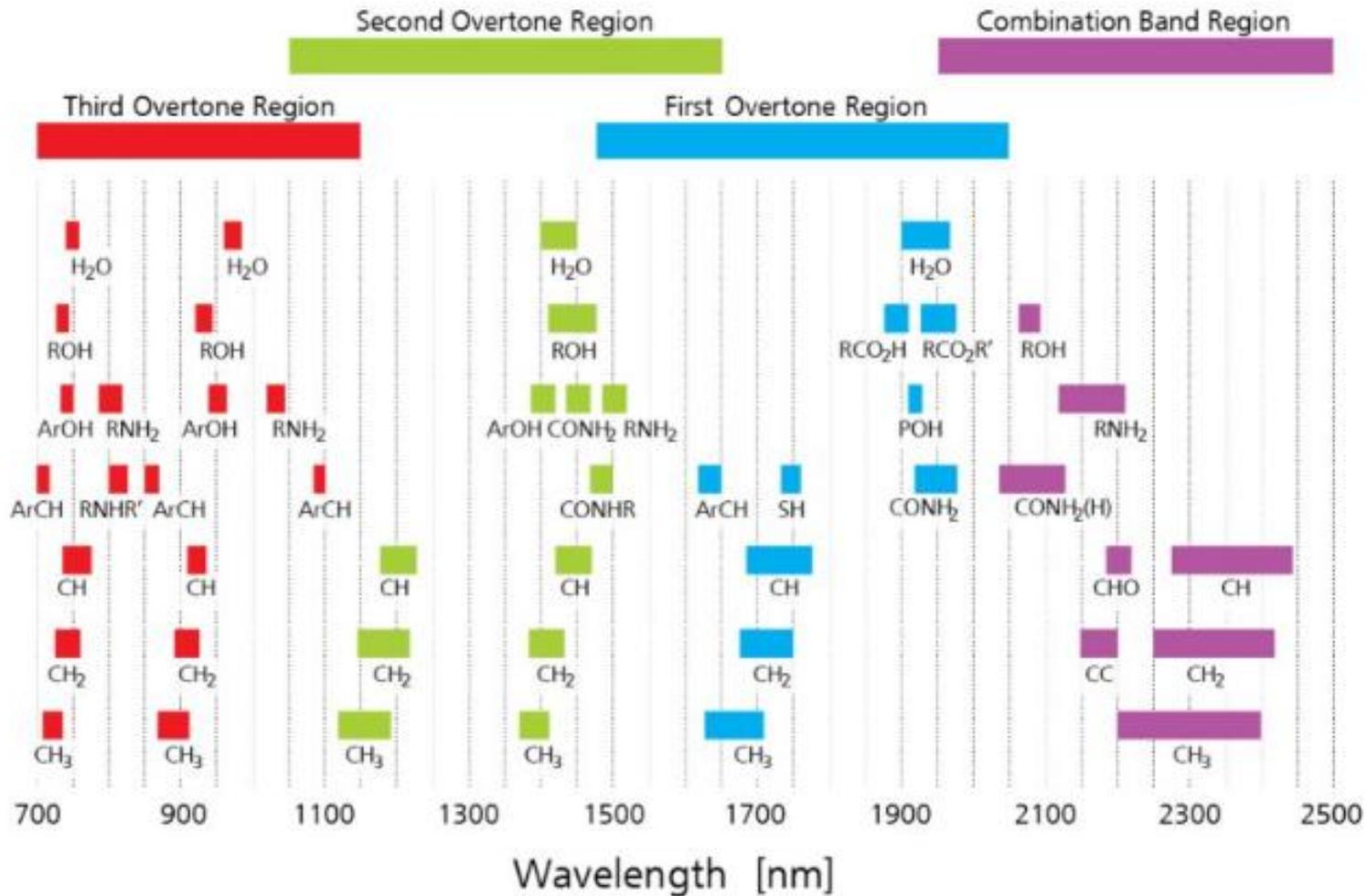
La espectroscopia NIR opera en la región del infrarrojo cercano del espectro electromagnético, es decir, en el rango de longitud de onda de 780 a 2500 nm.

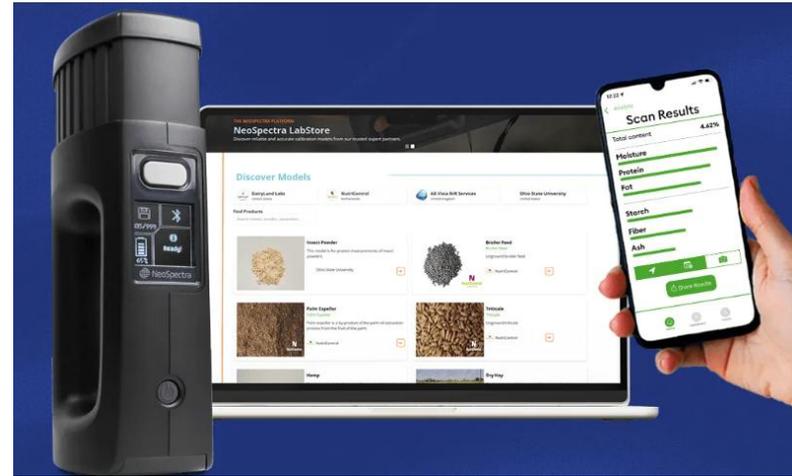
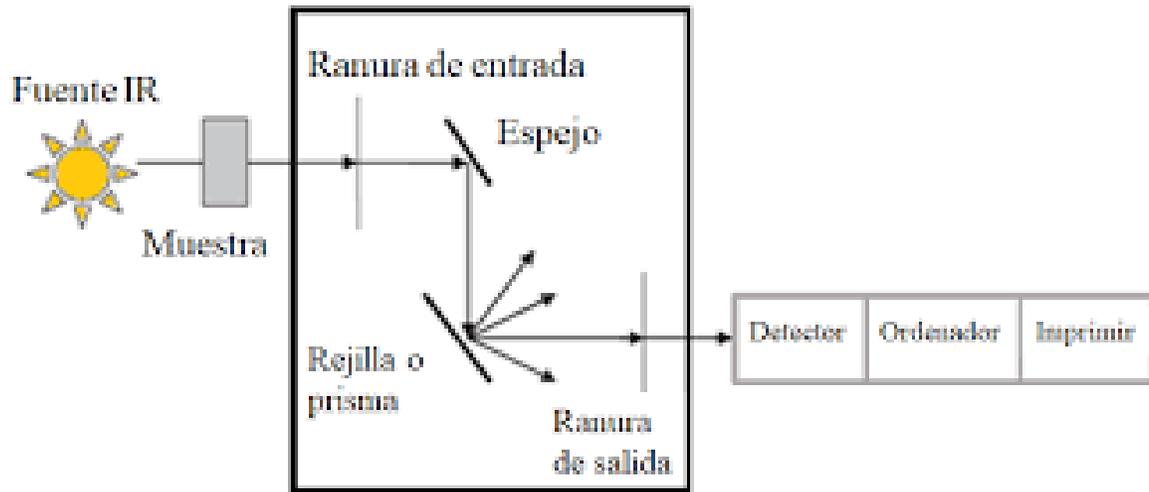
En otras palabras, un espectrómetro NIR mide la absorción de luz de la muestra en diferentes longitudes de onda en la región NIR.

Cabe señalar que el infrarrojo cercano es un rango de longitud de onda diferente al infrarrojo medio.



La luz de las regiones IR y NIR del espectro electromagnético induce vibraciones en ciertas partes de las moléculas (conocidas como grupos funcionales). Así, la espectroscopia IR y NIR pertenecen al grupo de **espectroscopia vibratoria**. La **Figura** muestra varios grupos funcionales y moléculas que están activos en la región NIR.





Existen numerosos equipos que pueden determinar proteína, grasa, humedad, fibra, almidón, nicotina, alcohol, azúcar, aminoácidos, o cualquier otro análisis que se requiera en un producto, desde materias primas alimenticias a fertilizantes y alimento para animales, en menos de un minuto, y de tan fácil manejo que aún un operario inexperto puede manipularlo?



Un analizador de humedad por infrarrojo es un instrumento que determina el contenido de humedad en una muestra usando radiación infrarroja para calentarla y eliminar el agua. **La radiación es absorbida por la muestra**, lo que permite una medición precisa de la humedad.

Cómo funciona:

- 1. Pesaje inicial:** La muestra se coloca en un plato de una balanza y se pesa.
- 2. Calentamiento infrarrojo:** La muestra se expone a radiación infrarroja, lo que calienta y evapora el agua.
- 3. Pesaje final:** Después de un tiempo determinado, la muestra se vuelve a pesar.
- 4. Calculo de la humedad:** La diferencia entre el peso inicial y final indica la cantidad de agua eliminada, lo que permite calcular el contenido de humedad.

Ventajas:

• **Mediciones rápidas y precisas:**

- Los analizadores de humedad por infrarrojo son conocidos por su capacidad para realizar mediciones rápidas y precisas de la humedad



Los analizadores de leche se basan en diferentes principios para determinar la composición y calidad de la leche. Los más comunes son los basados en la tecnología ultrasónica, que miden la velocidad del sonido en la leche, y los basados en la espectroscopia infrarroja, que analizan la interacción de la luz infrarroja con las moléculas de la leche.

Principios de funcionamiento:

•**Tecnología ultrasónica:**

•El principio de funcionamiento de los analizadores ultrasónicos se basa en la medición de la velocidad del sonido a través de la leche. El aparato emite ondas ultrasónicas y mide el tiempo que tardan en atravesar la muestra. Este tiempo varía según la composición de la leche (grasa, proteínas, etc.), lo que permite determinar la concentración de estos componentes.

•**Espectroscopia infrarroja:**

•La espectroscopia infrarroja (NIR) mide la absorción de luz infrarroja por las moléculas de la leche. Al analizar la forma en que las moléculas absorben la luz, se pueden identificar y cuantificar los diferentes componentes de la leche, como grasas, proteínas, lactosa y humedad.



Los analizadores de leche que se basan en la absorción infrarroja, específicamente la espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR), son herramientas comunes en la industria láctea para el análisis rápido y preciso de la composición de la leche.

Estos analizadores, como el FTS de [Bentley Instruments](#) y el MilkoScan 7 de [scancotec.com](#), utilizan la capacidad de las moléculas de la leche para absorber radiación infrarroja a longitudes de onda específicas. El principio de funcionamiento:

La espectroscopia FTIR se basa en el principio de que las moléculas de la leche absorben radiación infrarroja en diferentes longitudes de onda, generando patrones únicos que permiten identificar la composición química de la leche. Estos patrones, llamados espectros, se almacenan en una base de datos y se utilizan para identificar y cuantificar diversos parámetros de la leche, como grasa, proteína, sólidos no grasos, lactosa, caseína, y otro

$$g(\xi) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) e^{-i\xi x} dx$$



La transformada de Fourier es una transformación matemática empleada para transformar señales entre el dominio del tiempo (o espacial) y el dominio de la frecuencia, que tiene muchas aplicaciones en la física y la ingeniería.



fin