

FOTOCOLORIMETRIA

Q. Farmacéutica MARIA I. ARDAO

(Conclusión)

— FOTOCOLORIMETROS FOTOELECTRICOS —

Hemos visto que su característica principal es la de determinar la absorción de la luz por medio de la célula fotoeléctrica. Antes de tratar los distintos absorciómetros de este tipo que se han propuesto, veamos las nociones fundamentales del fenómeno fotoeléctrico, sus leyes y principales fotocélulas.

EFECTO FOTOELECTRICO

Considerado desde el punto de vista externo, consiste en la emisión de electrones por gran número de metales y algunos gases, cuando incide sobre ellos un haz de energía radiante capaz de excitarlos. Se origina así un flujo electrónico o fotocorriente que tiene las características siguientes:

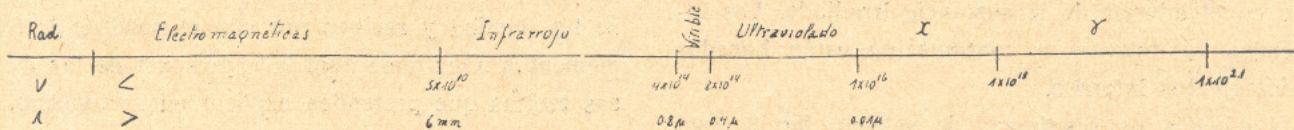
a) se produce en cuanto la luz actúa sobre la

sustancia emisora, y cesa cuando ella deja de incidir,

b) crece proporcionalmente a la iluminación.

La frecuencia de las radiaciones capaces de provocar el fenómeno fotoeléctrico depende de la naturaleza de la sustancia. Para cada sustancia existe un umbral de frecuencia excitatriz por debajo del cual no se produce el efecto fotoeléctrico. El rojo e infrarrojo son inactivos para la mayoría de los metales pesados, los cuales exigen frecuencias más altas que las del violeta, las del ultravioletado, rayos X, rayos γ . Para los gases el umbral está en los rayos X o radiaciones cósmicas, y son por consiguiente, inactivas todas las radiaciones de menor frecuencia. Los metales alcalinos tienen un umbral de excitación bajo, obteniéndose el efecto fotoeléctrico con casi todo el espectro visible y aún con el infrarrojo (cesio). Por tanto, en este caso, puede emplearse el espectro desde el infrarrojo a los rayos γ .

ESPECTRO



Se llama fenómeno fotoeléctrico normal al que se observa corrientemente y crece de una manera continua con la frecuencia. Se distingue con el nombre de fenómeno fotoeléctrico selectivo el que se intensifica alrededor de una longitud de onda dada. Tiene pues, carácter de resonancia y es un fenómeno que se superpone al normal.

ECUACIONES DE EINSTEIN

Y LEYES QUE RIGEN EL FOTOEFECTO

La energía cinética del electrón y el número de electrones desprendidos han sido determinados por Einstein con respecto a la longitud de onda de la energía excitatriz.

Ecuación que da la energía cinética del electrón:

$$mv^2/2 = hn - hn_0 \quad (18)$$

h es la llamada constante de Planck cuyo valor, determinado por diversos procedimientos, es alrededor de 6.55×10^{-27} erg. seg.; n es la frecuencia de la radiación excitatriz, y hn_0 es la suma de los trabajos necesarios para liberar un electrón de su órbita y de la superficie del cuerpo. El valor de hn_0 es de 1 a 2 voltios y puede ser despreciable o no en (18)

según el valor de n . n_0 viene a ser el umbral de frecuencia en el cual comienzan a desprenderse los electrones.

De la expresión (18) se deducen las leyes siguientes:

1.a ley — La velocidad inicial de los electrones es tanto mayor cuanto mayor es la frecuencia de la radiación, mientras que es independiente de la cantidad de energía excitatriz.

2.a ley — La fuerza fotoelectromotriz es tanto más intensa cuanto mayor es la frecuencia de la radiación.

Ecuación que da el número de electrones liberados:

$$N = Q/hn \quad (19)$$

N es el número de electrones y Q la cantidad de energía. De (19) se desprende la

3.a ley — El número de electrones liberados aumenta con la cantidad de energía excitatriz y es inversamente proporcional a la frecuencia.

Para una frecuencia determinada, el número de electrones y por tanto la fotocorriente, aumenta con la cantidad de energía. En esta ley está basada la aplicación de la célula fotoeléctrica a la fotometría

CELULAS FOTOELECTRICAS

a) Fotocatodo o álcali-célula.

Consta de un cátodo formado por una placa sensible a la luz (cubierta por un metal alcalino o un hidruro alcalino; amalgama de sodio, magnesio, litio, potasio, sales de algunos metales, etc.) y un ánodo colocados en una ampolla de vacío y unidos a un generador de corriente. En el circuito se intercala un galvanómetro (fig. 2). En la oscuridad no pasa corriente, pero si se irradia el cátodo, un flujo electrónico parte de él hacia el ánodo y el galvanómetro acusa paso de corriente que, en estas condiciones, es pequeña. Con el fin de obtener una corriente más intensa, generalmente se hace en la ampolla una atmósfera de unas décimas de milímetro de presión de un gas (helio, neon, argon) cuya ionización provoca una corriente que se suma a la fotocorriente. En este caso se pierde la proporcionalidad entre la corriente y el flujo luminoso incidente, lo que es un inconveniente para su empleo en fotometría y otros usos.

b) Célula de resistencia de selenio.

Junto al fenómeno fotoeléctrico externo, en el cual los electrones escapan a través de la superficie de la sustancia excitada, se distingue otro fenómeno fotoeléctrico llamado interno porque implica un proceso en el interior de la sustancia irradiada. Las fotocélulas enumeradas a continuación están basadas en fotoefectos internos.

La célula de resistencia de selenio, fig. 3, está formada por un cristal de selenio (igual resultado se tiene con uno de cuprita, etc.) colocado en un circuito eléctrico. En la oscuridad no hay paso de corriente debido a la pequeña conductancia del cristal. Si se ilumina transversalmente el cristal se vuelve conductor y el galvanómetro acusa paso de corriente que tiene las características de corriente electrónica: aparece sin retardo y crece proporcionalmente a la iluminación.

c) Fotoelemento basado en el fotoefecto del cristal.

Si los mismos cristales (cuprita, sulfuro de plomo, etc.) reciben iluminación longitudinal, en lugar de transversal, se observa igualmente un paso de corriente y, en determinadas condiciones, aún sin aplicar un potencial exterior. (fig. 4). Este desarrollo espontáneo de fuerza electromotriz bajo la influencia de la luz, se llama fotoefecto del cristal.

d) Fotoelemento a capa aisladora.

Si entre el cristal semiconductor y el electrodo, se coloca una lámina de una sustancia de gran resistencia, se tiene una nueva célula en la cual la lámina aisladora es de gran importancia en la producción de la fuerza fotoelectromotriz (fig. 5). A este

tipo pertenece la llamada pila de selenio.

e) Fotoelemento electrolítico.

Si en la célula anterior uno de los electrodos está constituido por la solución de un electrolito, se tiene la fotocélula electrolítica descubierta por Becquerel en 1839.

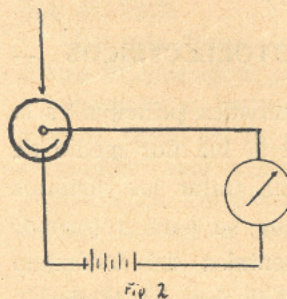


Fig. 2

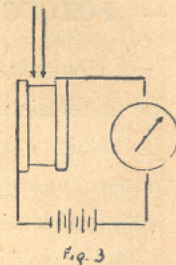


Fig. 3

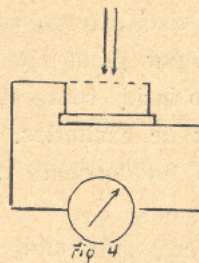


Fig. 4

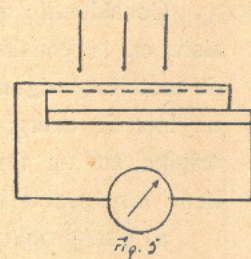


Fig. 5

Las tres últimas células tienen de común el originar una fuerza electromotriz espontánea cuando se les ilumina y reciben por ello el nombre de fotoelementos. Omitimos aquí la exposición de las diversas teorías que pretenden explicar su mecanismo.

CONDICIONES QUE DEBEN REUNIR LAS CELULAS EMPLEADAS EN FOTOMETRIA

Una cualidad básica es la de presentar un continuo y constante funcionamiento, lo que depende, en general, de los valores de la intensidad luminosa a que se sometan las células. Desde que se emplean en fotometría se ha prestado atención a dos defectos que presentan: la fatiga y la inestabilidad. Ambos se atenúan en iluminaciones moderadas.

La fatiga reversible consiste en lo siguiente. Una célula de selenio, por ejemplo, se ilumina con 100.000 bujías originando una fotocorriente. Al cabo de unos minutos ésta disminuye en un 30 % del valor primitivo. Se suprime la iluminación por un momento y al someterla nuevamente a la intensidad de 100.000 bujías se produce la misma fotocorriente del principio. En la oscuridad la célula se recobra rápidamente, es decir, el proceso tiene lugar en sentido inverso. Se ha probado que el fenómeno es debido a influencias exteriores sobre la célula iluminada; el ozono del aire afectaría la superficie del metal provocando el descenso de la fotocorriente. En el vacío no se pro-

duce la fatiga.

La estabilidad de una célula es su constancia en un largo período de tiempo. Si se le mantiene en intensidades luminosas mayores de 1000 bujías se observa una disminución apreciable de la fotocorriente, con carácter irreversible. Por el contrario, si se le mantiene en la oscuridad cuando no se usa o en bajas intensidades luminosas, la célula es estable. Las variaciones mayores se producen en las primeras 50 horas de iluminación y, por lo general, después de 150 horas se alcanza la estabilidad. Este cambio de la sensibilidad de las células se debe a modificaciones químicas en sus materiales constitutivos. Las del tipo d), por ejemplo, sufren los efectos atmosféricos en la capa aisladora, lo cual puede evitarse en el vacío. Los fotocátodos son bastante estables.

Una condición fundamental es que haya dependencia lineal de la fotocorriente producida, con respecto a la intensidad de luz que recibe la célula. Para que esto se cumpla, la resistencia exterior debe ser pequeña en relación a la de la célula. Por consiguiente, los fotoelementos no siguen la función lineal con iluminaciones fuertes.

Es de gran importancia la sensibilidad espectral de los dispositivos de medida, desde que, sólo hay acuerdo con las determinaciones visuales si los aparatos tienen una sensibilidad espectral semejante a la del ojo humano. Las células de selenio llenan esta exigencia.

FOTOCOLORIMETROS FOTOELECTRICOS

En los últimos diez años han aparecido numerosos modelos de colorímetros fotoeléctricos, cuyas variantes tienden a sensibilizar las determinaciones y a corregir algunos defectos debidos a la inconstancia de la fuente de iluminación o a causas mecánicas del dispositivo.

Las células empleadas en general, son del tipo a) y d).

Una condición indispensable de estos aparatos es la de suministrar una iluminación rigurosamente constante, condición que no llenaban los primitivos modelos con una célula. Se ha tratado de salvar el inconveniente empleando dispositivos reguladores de la intensidad del foco o dos células fotoeléctricas. De aquí la clasificación que se hace generalmente, en instrumentos de una y de dos células.

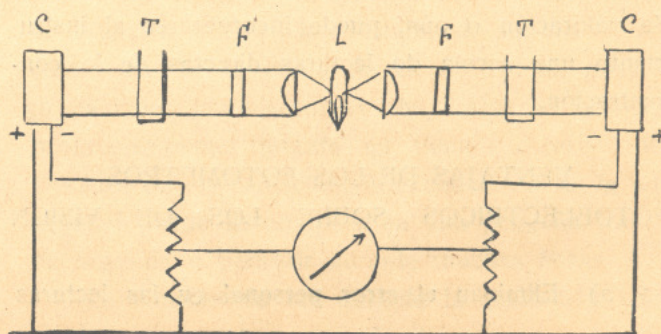
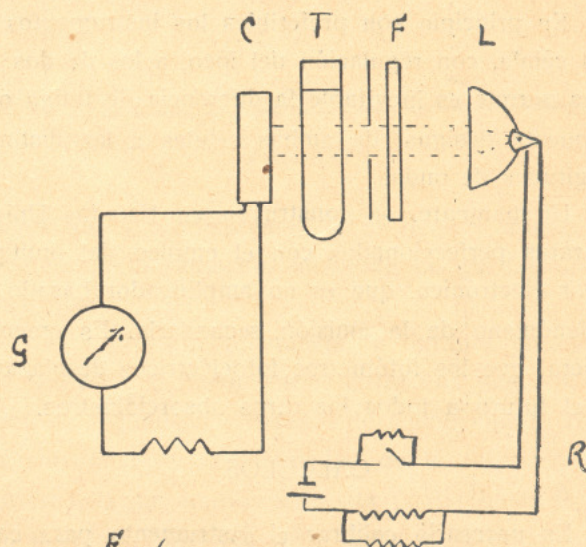
ABSORCIOMETROS DE UNA CELULA

Uno de los mejores aparatos que se han propuesto es el de Evelyn (4), de una célula, muy usado en análisis biológico. Su esquema puede verse en

fig. 6. Un haz de luz de la lámpara L, provista de reflector y dispositivo regulador del foco, pasa por el filtro coloreado F y luego de atravesar la solución coloreada en el tubo T, incide en la fotocélula C (pila de selenio) originando una fotocorriente que es registrada por el galvanómetro G. Su manejo es sencillo: elegir el filtro conveniente; interponer el blanco (disolvente y reactivos); ajustar los reostatos hasta que el aparato de medida indique una desviación de 100 divisiones; cambiar el blanco por el problema y leer la nueva desviación; deducir la concentración de una curva previamente trazada con cantidades conocidas.

Este aparato ha sido adaptado a las microtécnicas (5), ya sea a pequeños volúmenes de soluciones débilmente coloreadas o a pequeños espesores de sustancias fuertemente coloreadas. La única modificación en el dispositivo descrito, consiste en la disposición perpendicular a la anterior de los tubos o cubetas conteniendo la solución absorbente, los cuales resultan atravesados longitudinalmente por los haces luminosos.

Otros aparatos de esta categoría son los propuestos por Sheard y Sanford (6), Fisher Scientific



Co. (7), Müller (8), Yoe y Crumpler (9), Morgan y Weinhouse (10), Laborde y Morató (11).

ABSORCIOMETROS DE DOS CELULAS

Se considera que el sistema de dos células elimina el error por inconstancia de la iluminación teniendo en cuenta que las dos son afectadas igualmente. Ambas pueden unirse en oposición o por los polos similares.

La figura 7 ilustra el esquema del fotómetro de la American Instrument Co. (12). La misma fuente de luz envía dos haces opuestos, cada uno de los cuales atraviesa el filtro, las cubas de absorción y la fotocélula (de capa aisladora). La respuesta de las células se registra en un galvanómetro que sirve de instrumento a cero. Si en una de las cubas se pone la solución coloreada el galvanómetro experimenta una desviación proporcional a la concentración de la sustancia absorbente.

Son también aparatos a dos células el colorímetro de Lange (13), el absorciómetro Spekker (Hilger) (14) el colorímetro de Keane y Brice (15), el fotómetro de Summerson (16) y el de Rosenfeld (17).

Se han construido absorciómetros con mayor número de células (18).

En principio son preferibles los instrumentos de una célula, con regulación del foco, a los de dos células porque es inevitable la diferencia de fatiga o la respuesta desigual de ambas células a las distintas longitudes de onda.

Ultimamente, se construyen en Estados Unidos aparatos perfeccionados con el empleo del multiplicador electrónico, que es un amplificador basado en el fenómeno de la emisión secundaria. Es creencia general que los fotómetros fotoeléctricos desplazarán en el futuro a todos los otros absorciómetros.

CALCULOS

Es necesario calibrar el instrumento para cada método analítico determinando las desviaciones del aparato de medida para el margen de concentraciones deseadas. Con estos datos se construye una curva de valoración o aún, puede incorporarse al instrumento una escala de lecturas directas de la concentración.

VENTAJAS DE LOS FOTOMETROS FOTOELECTRICOS SOBRE LOS DE VISION

a) Eliminan el error personal en las lecturas

b) Tienen mayor apreciación en ciertas zonas donde el ojo es menos sensible que las fotocélulas, (19). Disponiendo de filtros muy selectivos pueden hacerse determinaciones muy precisas en líquidos débilmente coloreados y, en general, en las microtécnicas la apreciación es muy superior a la visual.

c) La rapidez con que puede efectuarse una serie de lecturas, hace posible el estudio de la velocidad de reacciones coloreadas. Por la misma razón, estos instrumentos permiten emplear reacciones de coloración inestable en análisis cuantitativo, ya que es posible determinar el punto correspondiente a la máxima intensidad de color.

ACLARACION — Dificultades de imprenta, obligaron a reemplazar la letra griega épsilon por la letra sigma del mismo alfabeto, y la letra griega nu por la letra n.

BIBLIOGRAFIA CITADA EN EL TEXTO

- (1) Bunsen y Roscoe, *Ann. Physik*, 101, 235 (1857)
 - (2) Beer, *Ann. Physik*, 86, 78 (1852)
 - (3) Bernard, *Ann. chim. phys.* 3, 385 (1852)
 - (4) Evelyn, *J. Biol. Chem.*, 115, 63 (1936)
 - (5) Evelyn y Cipriani, *J. Biol. Chem.* 117, 365 (1937)
 - (6) Sheard y Sanford, *Am. J. Clin. Path.*, 3, 405 (1933)
 - (7) Fisher Scientific Co., *Bulletin*, (1937)
 - (8) Muller, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 7, 223 (1935)
 - (9) Joe y Crumpler, *Ind. Eng. Chem. An. Ed.* 7, 281 (1935)
 - (10) Morgan y Weinhouse, *J. Lab. and Clin. Med.* 26, 416 (1940)
 - (11) Laborde y Morató, *Arch. Inst. End.*, 2, 266 (1940-1942)
 - (12) Am. Instrument Co., *Bull.*, 842 (1937)
 - (13) Lange, *Die Chemische Fabrik*; 5, 457 (1932) y 8, 31 (1935)
 - (14) Spekker (Hilger), *J. Sci. Instr.*, 13, 268, (1936)
 - (15) Keane y Brice, *Ind. Eng. Ch. An. Ed.*, 9, 258 (1937)
 - (16) Summerson, *J. Biol. Chem.*, 130, 149 (1939)
 - (17) Rosenfeld, *J. Biol. Chem.*, 129, 179 (1939)
 - (18) Britton Chance, *Rev. Sci. Instr.*, 13, 4 (1942)
 - (19) Lebowich, Lebowich y Dinburg, *J. Lab. Clin. Med.*, 23, 284 (1937)
- Además puede consultarse sobre el tema:
- Ashley, *Ind. Eng. Chem. Anal.*, Ed. 11, 72 (1939)
- Brodhun *Photometry Handbuch der Physik*, 19, 469.
- Joe, *Photometric Chem. Analysis*. New York (1928)
- Kloeffler, *Principles of Electronics*. John Wiley and Sons (1942)
- Lange, *Photo-elements and Their Application*, Reinhold Publishing Corp. (1938)
- Marenzi, *Fotometría y su aplicación al análisis biológico*; El Ateneo (1941)
- Mellon, *Ind. Eng. Chem. An. Ed.*, 9, 51 (1937); 11, 80 (1939)
- Pulfrich, *Z. Instrumentenk.*, 35, 35, 61, 109, 521 (1925)
- Snell y Snell, *Colorimetric Methods of Analysis*. New York (1939)
- Zeiss, Folletos sobre el fotómetro de Pulfrich
- Zworyikn y Wilson, *Photocells and Their Application*; John Wiley and Sons (1940)