



Análisis instrumental: Espectrometría de Absorción Atómica (EAA)

Apellidos, nombre	Martínez Guijarro M ^a Remedios (mmarting@hma.upv.es)
Departamento	Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente
Centro	Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Caminos Canales y Puertos Universitat Politècnica de València



1 Resumen de las ideas clave

En este objeto de aprendizaje se establecen los principios generales en que se basa la técnica instrumental de Espectrometría de Absorción Atómica, sus aplicaciones en análisis químico y el equipamiento necesario para desarrollar esta técnica analítica.

La espectrofotometría de absorción atómica es un método instrumental de análisis, que determina gran variedad de elementos, principalmente metálicos. El principio general de esta técnica es la medición de energía absorbida por el elemento químico a determinar tras hacer incidir sobre una muestra, conteniendo dicho elemento, una radiación de luz monocromática específica. La radiación absorbida se determina por diferencia entre la radiación incidente (inicial) y la radiación después de la interacción con la muestra [1].

2 Objetivos

Una vez que el alumno se lea con detenimiento este documento, será capaz de:

- Nombrar de forma general los principios de la *Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)*.
- Distinguir técnicas instrumentales de absorción atómica para la determinación cuantitativa de determinados elementos.
- Identificar y nombrar aquellos elementos químicos susceptibles de ser analizados con esta técnica

3 Introducción

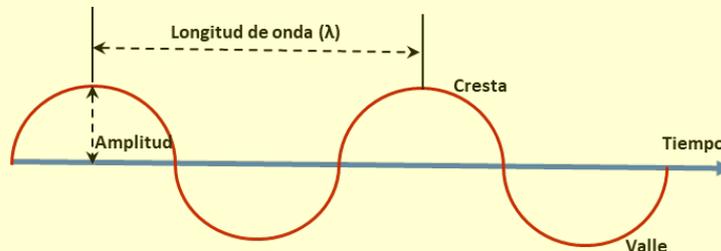
La espectrofotometría se basa en la interacción entre la materia y la energía. El tipo de espectrometría depende de la cantidad física medida tras dicha interacción, normalmente la cantidad que se mide es una intensidad de energía absorbida o producida. Así pues, tenemos los siguientes tipos de espectrofotometría o espectrometría:

- ✓ de absorción atómica
- ✓ de fluorescencia
- ✓ de ultravioleta visible
- ✓ infrarroja
- ✓ de emisión
- ✓ de rayos X
- ✓ Raman
- ✓ Resonancia magnético nuclear

Estos tipos de espectrometría utilizan energía en distintas regiones del espectro electromagnético. El espectro electromagnético ordena y clasifica las ondas electromagnéticas de acuerdo a sus longitudes de onda (λ) y frecuencias (ν).

¿Cómo explicarías el término “longitud de onda” y “frecuencia” aplicada al espectro electromagnético?

El calor, la luz del sol, los rayos X, la energía que utiliza un microondas para cocinar comida, son diferentes formas de la radiación electromagnética. Las ondas electromagnéticas se caracterizan por su amplitud, frecuencia y longitud de onda, tal y como muestra la figura siguiente:



La distancia horizontal entre dos crestas o valles consecutivos de la onda se define como **longitud de onda**. La **frecuencia** (ν) describe el número de longitudes de onda completas que pasan por un punto dado del espacio en un segundo. La longitud de onda y la frecuencia son inversamente proporcionales. La unidad en el sistema internacional para la frecuencia es el Hertz (s^{-1}) y para la longitud de onda la unidad es el metro (o nm). Dentro del espectro electromagnético, aquellas radiaciones con menores longitud de onda y altas frecuencias son las de mayor energía [3]

4 Desarrollo

En este apartado se describen conceptos generales en los que se basa la *Espectrofotometría de Absorción Atómica* (EAA), se explica el proceso analítico cuantitativo, qué equipos instrumentales se utilizan y por último se nombran qué analitos son susceptibles de ser determinados con esta técnica.

4.1 Conceptos teóricos generales de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)

El átomo está formado por un núcleo rodeado de electrones. Cada elemento tiene un número específico de electrones asociados al núcleo atómico en una estructura orbital que es única para cada elemento. Los electrones ocupan posiciones orbitales de manera ordenada y previsible. La configuración electrónica más estable de un átomo, que además es la de menor energía, se define como “estado fundamental” (Fig 1). Si se aplica energía con una determinada longitud de onda (λ) a un átomo en estado fundamental, esta energía será absorbida por el átomo y un electrón será promovido a un orbital de mayor energía, alcanzando el átomo una configuración menos estable (estado excitado). Este proceso es llamado como absorción atómica. Basándose en la capacidad de un átomo para absorber luz a longitudes de onda específicas, se desarrolla la técnica analítica instrumental llamada *Espectrofotometría de Absorción Atómica* (EAA) [2].



Figura 1. Proceso de absorción atómica

Para realizar las medidas con esta técnica el analito debe ser transformado en átomos gaseosos aplicando calor. Estos átomos en forma gaseosa absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible [2].

En resumen, esta técnica se fundamenta en tres conceptos:

- 1** Todos los átomos pueden absorber energía
- 2** La longitud de onda (λ) a la cual energía se absorbe es específica para cada elemento
- 3** La cantidad de energía absorbida en esta λ específica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra sobre un intervalo limitado de la concentración, de acuerdo a la ley de Lambert- Beer

En este documento consideraremos el uso de dos equipos de Espectrofotometría de Absorción atómica: Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama (EAA Llama) y Espectrofotometría de Absorción Atómica en Horno de Grafito (EAA Horno de Grafito).

Sabías que...

La espectroscopia de absorción atómica la inicio Kirchhoff al formular su ley general *“cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”*. El significado práctico de esta ley fue desarrollado por el australiano Alan Walsh, apareciendo los primeros instrumentos comerciales a principios de 1960 [4]



Gustav Robert Kirchhoff

4.2 Instrumentación de Absorción Atómica: componentes básicos y proceso de medida.

Los instrumentos para trabajar en Absorción Atómica requieren tres componentes: Fuente de energía (radiación), celda para la muestra y equipo de medida de la energía.

Los componentes básicos de un espectrómetro de Absorción Atómica de Llama y de Horno de Grafito son: **fuentes de energía radiante** que emita en la longitud de onda del elemento de interés, **sistema de atomización** que suministre la energía calorífica necesaria para la disociación del analito y la formación de átomos libres, **monocromador** para aislar las radiaciones a la longitud de onda medida, y **detector** acoplado con un sistema de registro de los datos obtenidos. ¿Cuál es la principal diferencia entre los dos equipos de Absorción Atómica (Llama y Horno de Grafito) aquí estudiados?, ... la diferencia principal se encuentra en la fase de atomización de la muestra. En el caso de Absorción Atómica de Llama (Fig. 2a) este proceso se realiza en una llama, que utiliza como combustible la mezcla de los gases óxido de nitrógeno/acetileno o de aire/acetileno en función de la temperatura necesaria. En la técnica de Absorción Atómica en Horno de Grafito la atomización se produce en un horno que consiste en un tubo de grafito y el calentamiento se produce por una corriente eléctrica (Fig. 2b)

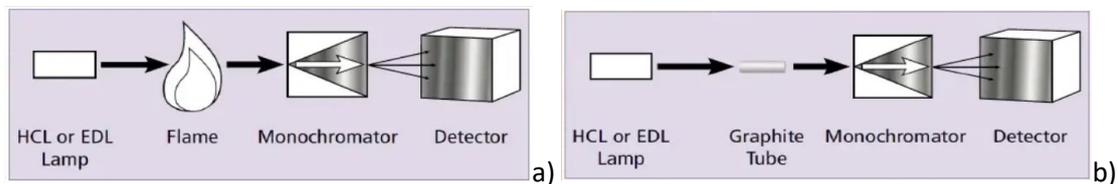


Figura 2. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de **a) Absorción Atómica de Llama** y **b) Absorción Atómica en Horno de Grafito** [2]

Cuando se trabaja en Absorción Atómica de Llama, para obtener átomos libres que puedan ser excitados por la fuente de radiación, el analito pasa por una serie de etapas, desde la disolución inicial hasta llegar a transformarse en vapor atómico, que se muestran en la Tabla 1:

Etapas	Estado muestra	Observaciones	
Nebulización	$M^+ + A^-$	Disolución	Muestra inicial, en disolución
	$M^+ + A^-$	Aerosol	La muestra es aspirada como fino aerosol hasta la llama
Desolvatación	MA	Sólido	En la llama se elimina el disolvente y quedan partículas sólidas
Licuefacción	MA	Líquido	Al aplicar más calor se produce la licuefacción de las partículas de muestra
Vaporización	MA	Gas	El calor adicional vaporiza la muestra. El elemento de interés sigue formando moléculas
Atomización	$M^0 + A^0$	Gas	Aplicando más energía calorífica se produce la disociación en átomos individuales (átomos en estado fundamental). En esta etapa se determina la cantidad de radiación absorbida.

Excitación	M*	Gas	Átomos en estado excitado tras la absorción de energía
Ionización	M ⁺ + e ⁻	Gas	

M⁺ catión; A⁻ anión; M átomo excitado; M⁰, A⁰ átomos en estado fundamental*

Tabla 1. Etapas en EAA de Llama [2]

En el análisis en Horno de Grafito, la muestra dispensada en el interior del tubo de grafito, es sometida a un programa de incremento de temperatura, hasta conseguir la atomización de la muestra. Normalmente el ciclo de temperaturas se realiza en cinco etapas (Tabla 2):

Etapas	Observaciones
Secado	Muestra dispensada en tubo de grafito se seca a baja temperatura (100-120 °C) para evitar salpicaduras
Pirolisis	En esta etapa se volatilizan los componentes orgánicos e inorgánicos de la muestra, dejando el elemento de interés en una matriz menos compleja. La temperatura no debe superar el valor en la cual se producen pérdidas del analito
Atomización	El propósito de esta etapa es producir vapor atómico del analito y permitir la absorción de energía. La temperatura de esta etapa está en función del elemento que se esté analizando
Limpieza	En esta etapa el tubo de grafito se calienta a temperaturas muy elevadas para eliminar residuos de muestra
Enfriamiento	En esta etapa se deja el tubo de grafito a temperatura ambiente y preparado para la siguiente muestra

Tabla 2. Etapas en el programa de temperaturas en EAA Horno de Grafito [2]

En el funcionamiento de los equipos de Absorción Atómica, la fuente de energía emite una radiación a una determinada longitud de onda (específica para cada analito) con una intensidad inicial (i_0) dirigida al interior de la llama o tubo de grafito, que contiene átomos en estado fundamental del analito. Estos átomos absorberán la energía y se produce una disminución de la intensidad (i) que será medida en el detector. La cantidad de energía absorbida por los átomos es determinada por comparación de i_0 con i .

4.3 Análisis cuantitativo utilizando Espectrofotometría de Absorción Atómica

El parámetro que se utiliza para caracterizar la absorción de energía en Espectrofotometría de Absorción, es la **Absorbancia**. Este parámetro sigue una relación lineal con la concentración, siguiendo la ley de Lambert-Beer (Fig. 3).

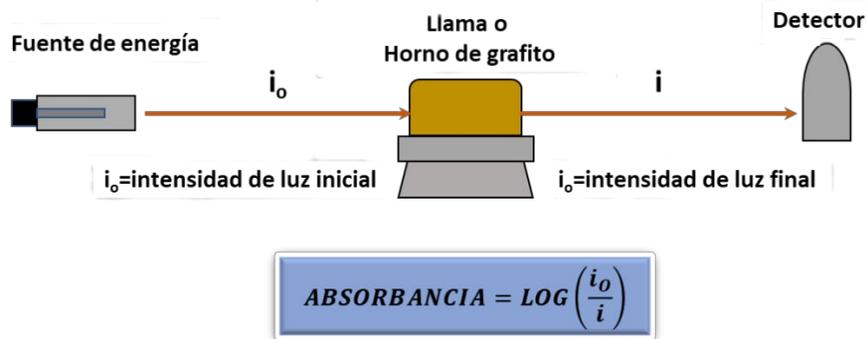


Figura 3. Ley de Lamber-Beer en Absorción Atómica [5]

Para determinar concentraciones de analito en una muestra, primero deben determinarse las absorbancias de disoluciones estándar o patrones de concentraciones de analito sabidas. Seguidamente se grafica el valor de estas absorbancias versus la concentración, como podemos ver en la Figura 4, obteniéndose de esta forma la “curva de calibración”. Generalmente se utilizan las concentraciones de analito que tienen una relación lineal con la absorbancia (zona en azul de la Fig. 4), pasando a llamarse la relación absorbancia/concentración “**Recta de calibración**”.

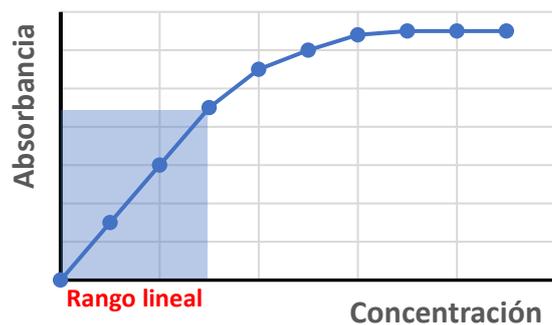


Figura 4. Concentración versus absorbancia (Curva de calibración)

Una vez establecida la recta de calibración se determina la Absorbancia de la muestra y aplicando la relación Absorbancia/concentración de la recta de calibrado, se puede obtener la concentración del analito, tal y como queda indicado en la Figura 5.

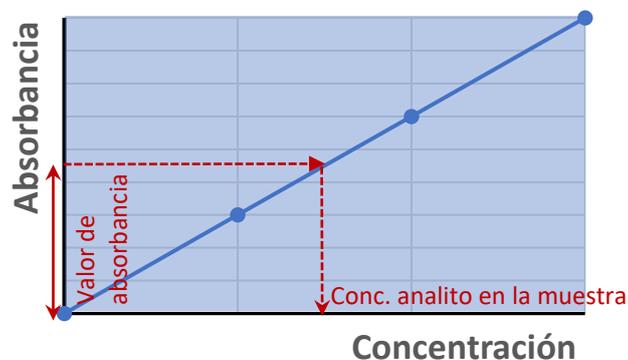


Figura 5. Recta de calibración

4.4 Selección del equipo Espectrofotométrico de Absorción Atómica

En Espectrofotometría de Absorción Atómica para decidir cuál de los dos equipos considerados (Llama o Horno de Grafito) se adapta mejor a los requerimientos analíticos es necesario tener en cuenta una serie de criterios importantes como, por ejemplo: límites de detección, rango de trabajo analítico, calidad de los datos, interferencias, costo, facilidad de uso, etc., [6].

¿Cómo se define el límite de detección de un método y el rango de trabajo analítico? ...

El límite de detección se define como el mínimo valor detectable de analito, no necesariamente cuantificable por el método.

El rango de trabajo analítico es el intervalo de concentraciones en el que puede lograrse una exactitud y una precisión aceptables. En este intervalo de concentraciones la señal del equipo es proporcional a la concentración del analito en la muestra

Las principales diferencias entre estas dos técnicas se muestran en la siguiente tabla:

Absorción Atómica de Llama	Absorción Atómica en Horno de Grafito
Método más rápido y sencillo	Método más lento y automatizado
Mayor cantidad de muestra (mL)	Menor cantidad de muestra (μL)
La atomización de la muestra se produce en una llama. El calentamiento se produce en la llama de aire/acetileno o aire /óxido de nitrógeno	La atomización de la muestra se produce en un tubo de grafito. El calentamiento se produce en el tubo de grafito por el paso de una corriente eléctrica a través del horno
Los átomos generados que se encuentran en la llama son constantes una vez alcanzado el equilibrio	Los átomos se forman por una sola vez y en corto periodo de tiempo
Los gases que se producen en la combustión arrastran los átomos producidos en la misma por lo que su estancia en el haz de radiación es muy corta	Se puede suprimir el paso de gas, por lo que los átomos formados permanecen más tiempo en el haz
Los elementos que llegan al quemador no son convertidos eficientemente en átomos debido a que el tiempo del proceso es muy corto en la llama	El tiempo de transferencia de energía térmica a la muestra es mayor lo que permite la formación de átomos de manera completa
Los rangos de detección son del orden de ppm (partes por millón)	Los rangos de detección son de ordenes de ppb (partes por billón), por lo tanto, mayor sensibilidad
Menores problemas de interferencia y contaminación en la medida	Mayores problemas de interferencia que requieren procedimiento de optimización para cada tipo de muestra para obtener resultados precisos
Se pueden determinar un número menor de elementos con esta técnica	Se pueden determinar la mayoría de elementos medibles por AA en amplia variedad de matrices

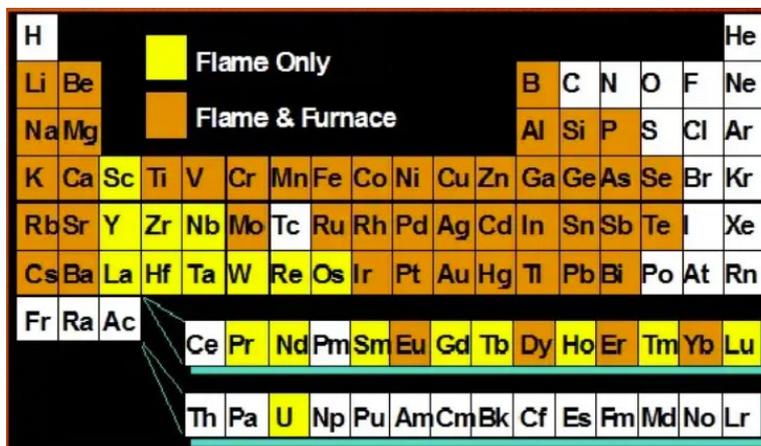
La señal de la absorbancia se genera de forma continua	La señal de la absorbancia se genera de forma discontinua. La señal de la absorbancia crece y cae en forma de pico. Para cuantificación se utiliza la altura del pico o el área integrada bajo el pico.
--	---

Tabla 3. Diferencias entre EAA de llama y EAA de horno de grafito [2]

Las características que presentan cada una de los dos equipos estudiados nos ayudan a seleccionar que instrumento se adapta mejor a la determinación que queremos realizar. Por ejemplo, si el elemento que queremos determinar requiere, bien por obligación legal o por requerimiento analítico, un límite de detección de ppb tendremos que utilizar Absorción Atómica con Horno de Grafito.

4.5 Elementos que pueden ser determinados por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)

Por EAA es posible determinar más de 60 elementos. ¿Qué se debe tener en cuenta para identificar los elementos susceptibles de ser determinados por esta técnica?, ... tanto en Llama como en Horno de Grafito, hay que tener en cuenta la temperatura en el proceso de atomización. Las temperaturas que se alcanzan en el proceso de atomización son relativamente bajas, tanto en Absorción Atómica de Llama como con Horno de Grafito (en Llama, utilizando como combustible óxido nitroso/acetileno se alcanzan unos 3000°C siendo más baja la temperatura con la Llama de aire/acetileno). En la Figura 7 podemos ver qué elementos pueden determinarse solo mediante EAA de llama (en amarillo) y EAA de Horno de Grafito y Llama (en color naranja) [6].



H																	He	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra	Ac																
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Figura 7. Elementos susceptibles de determinarse por EEA Llama y Horno de Grafito [6]

5 Cierre

Este objeto de aprendizaje tiene como resultado de aprendizaje:

- describir de forma general los principios en los que se basa la Espectrofotometría de Absorción Atómica.



- comentar más en concreto dos técnicas, la Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama (EAA llama) y la Espectrofotometría de Absorción Atómica de Horno de Grafito (EAA horno grafito).
- mostrar la aplicación de la ley de Lambert-Beer a esta técnica para desarrollar análisis cuantitativo.
- por último, mostrar los elementos químicos que pueden determinarse con esta técnica instrumental.

6 Bibliografía

[1] Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Químicas que emplean las técnicas de Espectrofotometría de Absorción Atómica y de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente. Centro Nacional de Metrología (CENAM). Entidad Mexicana de Acreditación (EMA).

<https://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/pdf/pdf-ensayos/ANALITICA%20EAA-ICP%20v01.pdf>

[2] Beaty R.D. y Kerber J.D., 1993. Concepts Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry, Perkin-Elmer Corporation, 2nd edition.

[3] La luz: ondas electromagnéticas, espectro electromagnético y fotones
<https://es.khanacademy.org/science/physics/light-waves/introduction-to-light-waves/a/light-and-the-electromagnetic-spectrum>

[4] Razmilic Blago. Espectroscopia de absorción atómica. Merck química Chilena Soc. Ltda.
<http://www.fao.org/3/ab482s/AB482S04.htm>

[5] Curso de entrenamiento en absorción atómica de llama, Perkin Elmer

[6] Hernández H. 2016. Espectroscopia de Absorción Atómica y Fotometría de Llama.
https://www.academia.edu/29273899/Espectroscopia_de_Absorción_Atómica_y_Fotometría_de_Llama