

COLORÍMETROS

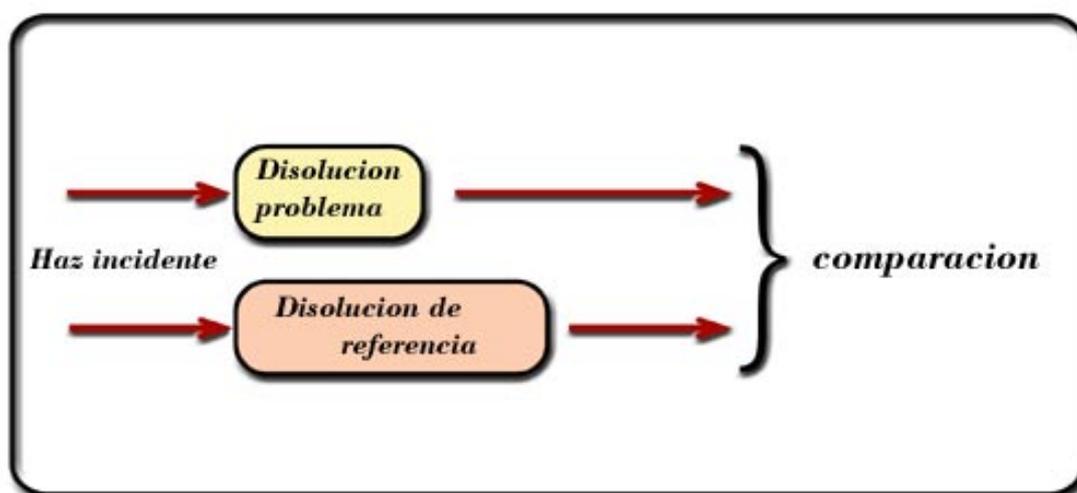
Lluís Garrigós Oltra, Carlos Millán Verdú y Georgina Blanes Nadal

Departamento de Física Aplicada

Escola Politècnica superior d'Alcoi

Universitat Politècnica de València

La *Colorimetría* es una técnica o, mejor dicho, un conjunto de técnicas y procedimientos por los que se pretende establecer el valor de la concentración de una sustancia en disolución mediante la comparación del color de dicha disolución con el de un patrón o referencia, sea ésta sólida o líquida.



Por *colorímetro* se entiende el montaje material que permite la consecución del fin propuesto. Dichos montajes están constituidos, según el diseño del aparato, por recipientes para contener líquidos (todos ellos), sistemas mecánicos o hidráulicos para variar la cantidad de líquido a iluminar (colorímetros de balance), sistemas de dilución de muestras (colorímetros de dilución), sistemas ópticos para facilitar el proceso de comparación, incluyendo en este último apartado espejos, dioptrios (lentes, prismas, etc.), fuentes de iluminación, cajas oscuras, filtros (colorímetros de filtro), monocromadores (espectrocolorímetros) y sistemas fotoeléctricos de detección (fotocolorímetros).

Cualquier colorímetro se fundamenta en el proceso de absorción de la luz por un medio transparente coloreado. Básicamente, cuatro autores han abordado a lo largo de la historia el estudio de esta cuestión: Pierre Bouguer (1729), Johann Lambert (1760), Felix Bernard (1852) y August Beer (1852). Sus conclusiones se resumen en una ecuación que se conoce, como ley de Lambert-Beer:

$$\left[-\log \frac{I}{I_0} \right] = l \cdot c \cdot K$$

donde I_0 es la intensidad de la luz incidente que llega a la muestra, I es la intensidad de la luz que emerge de la muestra, c es la concentración de la sustancia coloreada, l es la longitud de camino óptico coloreado que recorre la luz y K es una constante específica para cada sustancia denominado coeficiente de absorción molar. El cociente I/I_0 se denomina transmitancia, T , y el negativo de su logaritmo, absorbancia, A . En sentido estricto, esta ecuación sólo es válida para luz monocromática, pero se considera aproximadamente válida en luces policromáticas, siendo preferibles las artificiales a la luz natural (Canals y Cabanes, 1932).

De acuerdo con estas consideraciones previas podemos clasificar los colorímetros según diferentes criterios: a) sistema de detección de la luz transmitida; b) cantidad y tipo de luz empleada en el proceso; c) mantenimiento a valor constante, durante el proceso de medida, de variables de la ecuación [1].

En función del sistema de detección, los colorímetros se pueden clasificar en a) *visuales* o b) *fotocolorímetros*, según se utilice el ojo humano o un sistema de fotocélulas integrado en un circuito eléctrico para detectar y comparar las luces transmitidas a través de la disolución problema y de la de referencia.

En los colorímetros visuales, el proceso de comparación entre la luz emergente de la solución problema y la emergente de la referencia consiste en alcanzar un balance, de manera que, a juicio del observador, ambas luces emergentes sean idénticas. Dicha situación equivale a igualar los primeros miembros de la ley de Lambert-Beer para la solución problema y para la referencia:

$$\left. \begin{array}{l} \left[-\log \frac{I}{I_0} \right]_p = l_p \cdot c_p \cdot K \\ \left[-\log \frac{I}{I_0} \right]_e = l_e \cdot c_e \cdot K \end{array} \right\} \rightarrow l_p \cdot c_p = l_e \cdot c_e$$

$$\text{o, lo que es lo mismo: } c_p = (l_e/l_p) \cdot c_e \quad [2]$$

Esta expresión permite calcular la concentración de la muestra problema, c_p , en función de la concentración de la muestra estándar, c_e , y de las magnitudes de las capas líquidas problema y estándar, l_p y l_e , respectivamente.

En los fotocolorímetros el proceso de balance como tal no existe ya que dos fotocélulas (o una, en los modelos más primitivos) establecen la diferencia entre la luz absorbida por la solución problema y la luz absorbida por la referencia, que en estos casos se trata sólo del disolvente. Esta situación diferencial es

“traducida” a una corriente eléctrica que puede ser detectada por un microamperímetro o un galvanómetro; mediante un calibrado adecuado del aparato, por el que se representan, por una parte, las concentraciones conocidas de diferentes soluciones y, por otra, las lecturas del microamperímetro (normalmente como absorbancia o transmitancia), podemos establecer la concentración de cualquier disolución problema.

Dependiendo de la cantidad de luz empleada en el proceso, los colorímetros pueden clasificarse en: a) *de banda ancha*, si utilizan toda la luz disponible; b) *de filtro*, si sólo utilizan una banda de longitudes de onda, para lo cual filtran la luz disponible inicialmente, y c) *espectrocolorímetros*, si sólo utilizan un margen muy estrecho de longitudes de onda seleccionado mediante el empleo de un sistema monocromador, pudiéndose seleccionar en los modelos más evolucionados una única longitud de onda. Por otra parte, en función del tipo de luz utilizada, puede considerarse también la distinción entre colorímetros de *luz visible*, *luz ultravioleta*, *luz infrarroja*, etc.

En este punto debe señalarse que aparatos como los turbidómetros o nefelómetros, etc., que no responden a procesos de absorción de radiación luminosa, sino a procesos de dispersión de la luz, efecto Tyndall, etcétera, han sido considerados en ocasiones como instrumental colorimétrico (Snell y Snell, 1946, I) (1). En un sentido estricto podríamos entender por colorímetro todo montaje instrumental cuyo proceso de medida condujera a valores experimentales que siguieran la ley de Lambert-Beer. La aplicación actual de este criterio presentaría, no obstante, dos grandes inconvenientes: por una parte, algún instrumental colorimétrico histórico, como los ya mencionados nefelómetros, no podrían ser incluidos en el grupo de los colorímetros; mientras que por otra, deberían incluirse montajes que nunca se han considerado como colorímetros, como la absorción de radiación gamma (Kleppinger y Yates, 1987), ya que las medidas registradas por estos sí que responden a la ley de Lambert-Beer. Estas dificultades terminológicas son consecuencia directa de un planteamiento diacrónico de la cuestión: el término colorímetro se introduce históricamente en el siglo XIX y hace referencia a una serie de fenómenos relacionados con la luz visible y que son percibidos por el ojo humano. El estudio sistemático de dichos fenómenos, su explicación mediante la introducción de nuevos conceptos (tonalidad, brillo, matiz, etc.) y de nuevos modelos (teoría ondulatoria de la luz), así como la detección de nuevos hechos experimentales (espectroscopía) obligaron a lo largo del siglo XIX a una modificación continua del contenido semántico del término colorimetría. Esta modificación se acelera con la llegada del siglo XX y la construcción de nuevos modelos teóricos de comportamiento en la relación materia-energía basados en la teoría cuántica y en el átomo de Bohr-Sommerfeld. El continuo discurso evolutivo en este campo, y la confusión inherente al mismo, conduce a la constitución, en la década de 1920, del Colorimetry Committee of the Optical Society of America con el encargo, entre otros, de definir el conjunto léxico específico de las técnicas colorimétricas. Aunque estas dificultades han sido paulatinamente superadas en parte, en la actualidad quedan todavía algunas reminiscencias de las primeras confusiones terminológicas; con objeto de evitarlas, en este capítulo nos ocuparemos exclusivamente de aquellos instrumentos cuyo proceso de medida se fundamenta en el fenómeno de la absorción de la luz visible siguiendo un patrón que en primera aproximación obedece la ley de Lambert-Beer.

Finalmente, y en función del proceso concreto que permite mantener a valor constante una u otra de las variables implicadas en la ecuación [1], los colorímetros se clasifican en:

a) *Colorímetros de dilución*. En estos se fija a valor constante el camino óptico, l , que debe recorrer la luz en los recipientes problema y de referencia. Su proceso de registro consiste en la observación de las radiaciones

que atraviesan dos tubos de idéntico diámetro; la variación de la concentración de una de las disoluciones mediante la adición de disolvente, que es considerado “no absorbente” de radiación luminosa, permite equilibrar la coloración de ambas disoluciones. Una variante de estos colorímetros es la constituida por los *colorímetros de escala cromática*, en los que una muestra problema se compara con una serie de muestras de referencia de concentraciones conocidas y de valores crecientes. Aunque en estos montajes experimentales, el concepto de instrumento científico aparece algo diluido, dada la simplicidad técnica de los mismos, los colorímetros de escala cromática pueden considerarse como verdaderos instrumentos científico-técnicos que aún hoy en día se siguen utilizando tanto en aplicaciones didácticas (Woods, 1983) como en aplicaciones técnicas. Esto sucede, sobre todo, en sus versiones como *tintómetros* o *comparadores*, donde la escala cromática de disoluciones de referencia es sustituida por un conjunto de filtros coloreados, tal y como se representa en la figura 1. En ésta se muestra, en el contexto de una noticia sobre los últimos episodios de legionelosis acaecidos en Alcoi en 2000, a un técnico midiendo el pH de una muestra de agua potable con un comparador del tipo Lovibond. Finalmente cabe señalar que a principios del siglo XX tuvieron una cierta popularidad los denominados *colorímetros de duplicación*, que no son más que colorímetros de dilución en los que, para evitar los problemas derivados del mismo proceso de dilución en una sola de las disoluciones, se pretendía conseguir mediante diluciones sucesivas de una y otra solución, dos disoluciones, problema y referencia, de igual volumen y color. Este proceso no constituye un instrumento propiamente dicho ya que se trata más bien de un método volumétrico.

Los colorímetros de dilución, cuyo primer representante, el colorímetro de Houtou de Labillardière, está fechado en 1827, empezaron a caer en desuso a principios el siglo XX por las dificultades técnicas que entrañaba el mismo proceso de dilución y posterior homogenización de la muestra y, sobre todo, por su posición de desventaja en relación con los colorímetros de balance que permitían medidas de mayor precisión.

b) *Colorímetros de balance*. En estos se mantienen constantes las concentraciones de las disoluciones problema y estándar y se varía el camino óptico mediante sistemas que permiten modificar el espesor de la capa de líquido que debe recorrer la luz en cada caso (solución problema y solución estándar). Este grupo, que comienza cronológicamente con el decolorímetro de Anselm Payen, fechado en 1822, se caracteriza por una rápida evolución en su diseño a lo largo del siglo XIX. Se conocen diversos prototipos que alcanzaron una cierta notoriedad en su época, como son el caso de los colorímetros de Alexander Müller (1853), Carl Stammer (1861) o F. Dehms (1864). Aunque, sin lugar a dudas, el colorímetro más conocido de este grupo, con un diseño tan perfeccionado que le permitió alcanzar sin ninguna dificultad el siglo XX y pervivir gracias a una serie de ligeras modificaciones introducidas en el modelo original, es el colorímetro de Jules Duboscq, cuyo sistema óptico se muestra en la figura 2.

La primera noticia que se tiene de este aparato aparece en una memoria remitida por Jules Duboscq (2) y Charles Mène en 1868 a la Académie des Sciences de Paris y de la que *Comptes Rendus* publicó un extracto en el volumen correspondiente al semestre julio-diciembre de ese mismo año, el cual no recoge ninguna ilustración. Dos años después la revista *Chemical News* se hace eco de la aparición en el mercado de este nuevo instrumento y publica una reseña breve sobre el mismo en la que incorpora dos dibujos de Morton. Estos dos esquemas, con escasas o nulas modificaciones, han sido reproducidos hasta la saciedad en todas las publicaciones de finales del siglo XIX que han descrito los métodos colorimétricos de análisis. Es necesario

llegar a obras específicas sobre este tema, publicadas ya bien entrado el siglo XX, para encontrar otros diseños distintos de este mismo instrumento. Tal es el caso de *Colorimetric Methods of Analysis* de Foster Dee Snell (1921) y de sus dos ediciones posteriores (1936 y 1948), publicadas en colaboración con su esposa Cornelia Tyler Snell, y de *Photometric Chemical Analysis* de John H. Yoe (1928). En éstas se puede encontrar una amplia gama de variaciones del esquema básico del aparato de Duboscq de acuerdo con el objetivo final al que se destinaba: estudio de soluciones diluidas, micro-muestras, colorímetro con amplificador de escalas o con escala directa en función de la posición de los cilindros móviles, con equipamiento para nefelometría o para la medición del pH de una disolución, etc.

El esquema original del colorímetro de Duboscq representa una síntesis de todos los colorímetros de balance diseñados hasta 1868. De acuerdo con el esquema mostrado en la figura 2, el aparato consiste en dos cilindros móviles C y C' en los que se ubican las soluciones problema y estándar, respectivamente. Dichos cilindros, abiertos por un extremo, son de vidrio y tienen el fondo plano y, al desplazarlos arriba y abajo mediante dos sistemas independientes de tornillos graduados permiten que en su interior se introduzcan en mayor o menor medida dos tubos de cristal (*plungers*), también con fondo plano. Dependiendo de la posición de cada uno de estos tubos se determinará un espesor de capa líquida, la cual es atravesada por la luz que recoge el espejo M , situado en la base del aparato, y enviada hacia los prismas P y P' , que desvían los haces luminosos a un sistema de lentes. Éste permite que en un único ocular se recoja un campo visual dividido en dos mitades y cada una de ellas corresponde al camino óptico implicado en cada uno de los dos cilindros dobles. Cuando las dos mitades de dicho campo visual son idénticas la absorbancia es la misma para cada una de las dos muestras, por lo que se puede establecer la igualdad representada por la ecuación [2] (3).

Evidentemente, el método requiere, para que el coeficiente de absorción molar, K , sea el mismo en ambas muestras, el empleo del mismo disolvente y de la misma cantidad de reactivos estimulantes del color de la sustancia a estudiar. Por otra parte, aunque el cálculo anterior sólo es cierto para una única longitud de onda, puede considerarse válido, como ya se ha dicho, en una primera y buena aproximación para la luz blanca en ausencia de dicroísmo, situación en la que la proporción de cada longitud de onda permanece constante en el proceso de absorción de intensidad luminosa (Canals y Cabanes, 1932).

Una modificación alternativa introducida, al igual que en los colorímetros de dilución, consiste en la sustitución de la disolución estándar por una referencia sólida, es decir por un cristal coloreado que previamente se ha equiparado a una concentración determinada de la sustancia que es objeto de análisis. El empleo de diferentes filtros permite establecer con bastante exactitud la concentración de la disolución problema. Por otra parte, diferentes juegos de filtros de distintos colores permiten utilizar el mismo aparato para el análisis de diferentes sustancias.

La colección de instrumentos científicos de la Universitat de València cuenta en sus fondos con los siguientes colorímetros:

A. Colorímetros visuales

A.1. De banda ancha

A.1.1. Colorímetro Leitz-Duboscq pequeño (Q-0169)

A.1.2. Colorímetro Leitz-Duboscq grande (Q-0185)

A.1.3. Colorímetro Hellige-Duboscq (F-0525)

B. Fotocolorímetros

B.1. De filtro

B.1.1. Colorímetro de Lange (Q-0182)

B.1.1.1. Complementos del colorímetro de Lange (Q-0141)

B.1.2. Tintómetro de Lovibond (F-0530)

Descripción de algunos colorímetros

Colorímetros de Leitz-Duboscq (Q-0169 y Q-0185)

El colorímetro de Leitz-Duboscq, especialmente diseñado para usos bioquímicos y clínicos, fue fabricado por la empresa Ernst Leitz, de Wetzlar, en dos tamaños, siendo comercializado antes de 1928. La Universitat de València dispone de ambos modelos, aunque se halla mejor conservado el mayor. Como innovaciones en relación con el diseño básico, caben destacar las siguientes: a) simplificación del sistema óptico; de acuerdo con el esquema representado en la figura 3 se puede apreciar que en este aparato los dos haces luminosos convergen en un único cuerpo óptico, denominado prisma de Albretch-Hüfner, lo que se traduce en una mayor simplicidad de diseño; b) sustitución de los tubos cilíndricos que actúan como *plungers* en el diseño original por dos “lápices” sólidos de cristal óptico, como también hizo la casa Bausch & Lomb en su versión del colorímetro de Duboscq; c) mejora en la lectura de las escalas mediante la incorporación, en la parte posterior del aparato, de prismas vinculados a los nonius que proporcionan la medida de acuerdo con el desplazamiento de los recipientes que contienen las muestras líquidas, y d) incorporación de una carcasa cilíndrica que facilita la observación al oscurecer el “medio ambiente” visual y eliminar la luz advenediza (Yoe, 1928, I, 40-42).

Es necesario hablar en primer lugar de la mejora “ergonómica” que introduce el colorímetro de Hellige, mostrado en la figura 4, respecto al diseño original del aparato de Duboscq, ya que permite visualizar las señales procedentes de las soluciones estándar y problema con una inclinación de 50° respecto a la vertical o camino óptico, lo que posibilita que el observador maneje el aparato estando sentado. Por otra parte, el sistema micrométrico que mueve los *plungers* permite una precisión de lectura de 0,1 mm sobre escalas iluminadas con luz eléctrica. Por lo que respecta al proceso de absorción de la luz, cabe señalar que la luz empleada para iluminar las disoluciones es luz eléctrica modificada por un filtro Corning Daylite y las disoluciones de referencia pueden ser sustituidas por filtros estándar de vidrio; por último, el aparato puede adaptarse para la toma de medidas con micromuestras sustituyendo los recipientes usuales por otros de menores dimensiones. Este aparato, construido en plástico moldeado, fue patentado por Paul A. E. Hellige en 1941 (U.S. Patent 2.244.839) y fabricado por la firma Hellige Inc., domiciliada en 3718 Northern Blvd., Long Island City, New York (Snell y Snell, 1948, I, 46-49).

En 1911 se construye el primer colorímetro fotoeléctrico (Snell y Snell, 1936, I, 57). Aunque este tipo empieza a difundirse en la década de 1930, su precio, la facilidad con que se obtenían medidas relativamente rápidas y precisas con instrumentos de comparación visual, y sobre todo la imprecisión de las medidas obtenidas con los primeros fotocolorímetros, debido al estado primitivo en que se hallaba esta tecnología en dicha época, permitió que algunos colorímetros visuales, como es el caso del colorímetro de

Duboscq o el del comparador de Lovibond, hayan estado utilizándose hasta épocas bien recientes, como ya se ha señalado. No obstante los fotolorímetros empezaron poco a poco a abrirse paso en los trabajos de análisis calorimétrico, tal fue el caso del colorímetro de Lange. Descrito inicialmente por B. Lange en un artículo publicado en *Chemische Fabrik* en 1934 (45-47), el aparato, aparentemente, no se patentó por lo que debieron ser varias las empresas que lo fabricaron. Se trata de un fotolorímetro de dos células con un circuito de compensación, cuyo esquema se muestra en la figura 5. De acuerdo con dicho esquema, la luz procedente de la bombilla 1 se dirige mediante las lentes 2 y 3 hacia las cubetas 11 y 12, las cuales contienen la solución problema y el disolvente que actúa como blanco de absorción. Tras atravesar dichas cubetas incide sobre las fotocélulas 4 y 5. El ajuste de la luz transmitida se logra en primer lugar mediante dos diafragmas, 6 y 7, de los que el 6 es móvil y su posición es fijada por un micrómetro, 8; unas fundas oscuras, 9 y 10, que permiten eliminar la luz procedente del exterior, y un obturador, 13, que, manejado por un mando giratorio, 14, permite regular la luz que llega a la fotocélula 5. El proceso de lectura es gobernado por el galvanómetro 17 que proporciona la medida diferencial de absorbancia entre las disoluciones contenidas en ambas cubetas; dicho galvanómetro está regulado por dos reóstatos variables, 15 y 16. El aparato permite seleccionar bandas concretas de absorción mediante un juego de filtros intercambiables. Finalmente cabe señalar que este aparato se consideró de precisión aceptable para trabajos técnicos pero no para su uso en laboratorios científicos (Snell y Snell, 1948, I, 99). El modelo perteneciente al fondo de la Universitat de València es de fecha posterior al descrito por Snell y Snell ya que incorpora algunas mejoras en el diseño inicial como las tapaderas de las cubetas de las muestras al objeto de evitar luces advenedizas.

Se puede encontrar más información sobre la historia de estos instrumentos y otras técnicas colorimétricas en los trabajos que hemos publicado recientemente citados en la bibliografía final (Garrigos *et al.*, 1998, 1999, 2001), donde hemos recogido los principales estudios sobre el tema. Estamos preparando un estudio general sobre esta cuestión que aparecerá próximamente.

NOTAS

(1) Yoe (1928) resuelve esta cuestión hablando de la colorimetría y la nefelometría como métodos fotométricos.

(2) Un estudio resumido de la actividad profesional de Duboscq, así como una descripción de su colorímetro y de alguna de sus adaptaciones puede consultarse en Stock (1994).

(3) En 1879 un farmacéutico alemán, H. C. Wolff, sustituyó el sistema mecánico de variación de la posición de los *plungers* por un sistema de evacuación de líquidos al emplear como recipientes contenedores de líquidos dos buretas especiales (cilindros Hehner); abriendo una u otra llave conseguía equilibrar las columnas de líquido de la muestra problema y de la disolución de referencia que producían una misma percepción óptica en el observador. Una modificación posterior del sistema hidráulico de control de la altura de líquido, o camino óptico, fue introducida por W. G. Smeaton en 1906 y aplicada en el diseño del colorímetro de Campbell-Hurley (1911), en el que uno de los recipiente contenedores es un simple cilindro,

mientras que el otro es un cilindro que tiene un sistema de émbolo o jeringa conectado a la base, lo que permite graduar la altura de líquido contenido en dicho cilindro.