



**Universitat de les Illes Balears
Departament de Química**

10150- Técnicas para la Experimentación en Química. Espectroscopia UV-Visible

Bloque II. Aplicaciones de la espectroscopia UV-Vis



Universitat de les Illes Balears
Departament de Química

Aplicaciones Cuantitativas de la espectroscopia UV-Vis

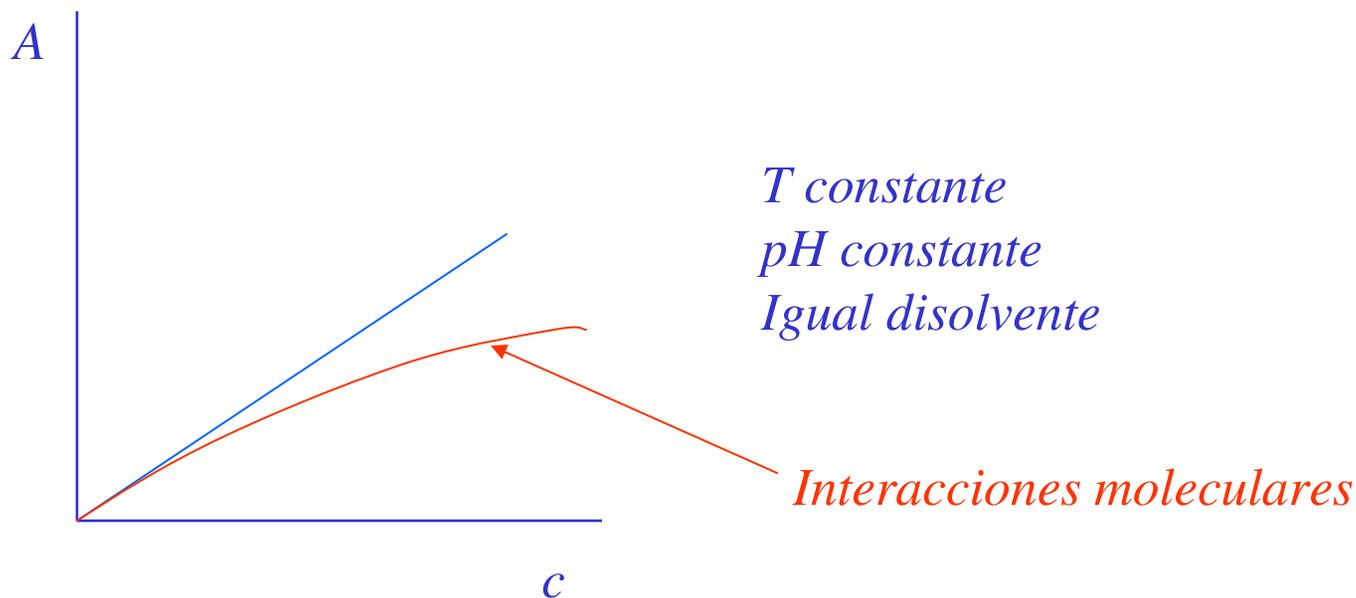
Ley de Lambert-Beer: $A = \text{absorbancia} = -\log T = \epsilon(\lambda) c l$

Sensibilidad: $1 \text{ cm de paso óptico}$

$$\epsilon(\lambda) \cong 10^3 - 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ l mol}^{-1}$$

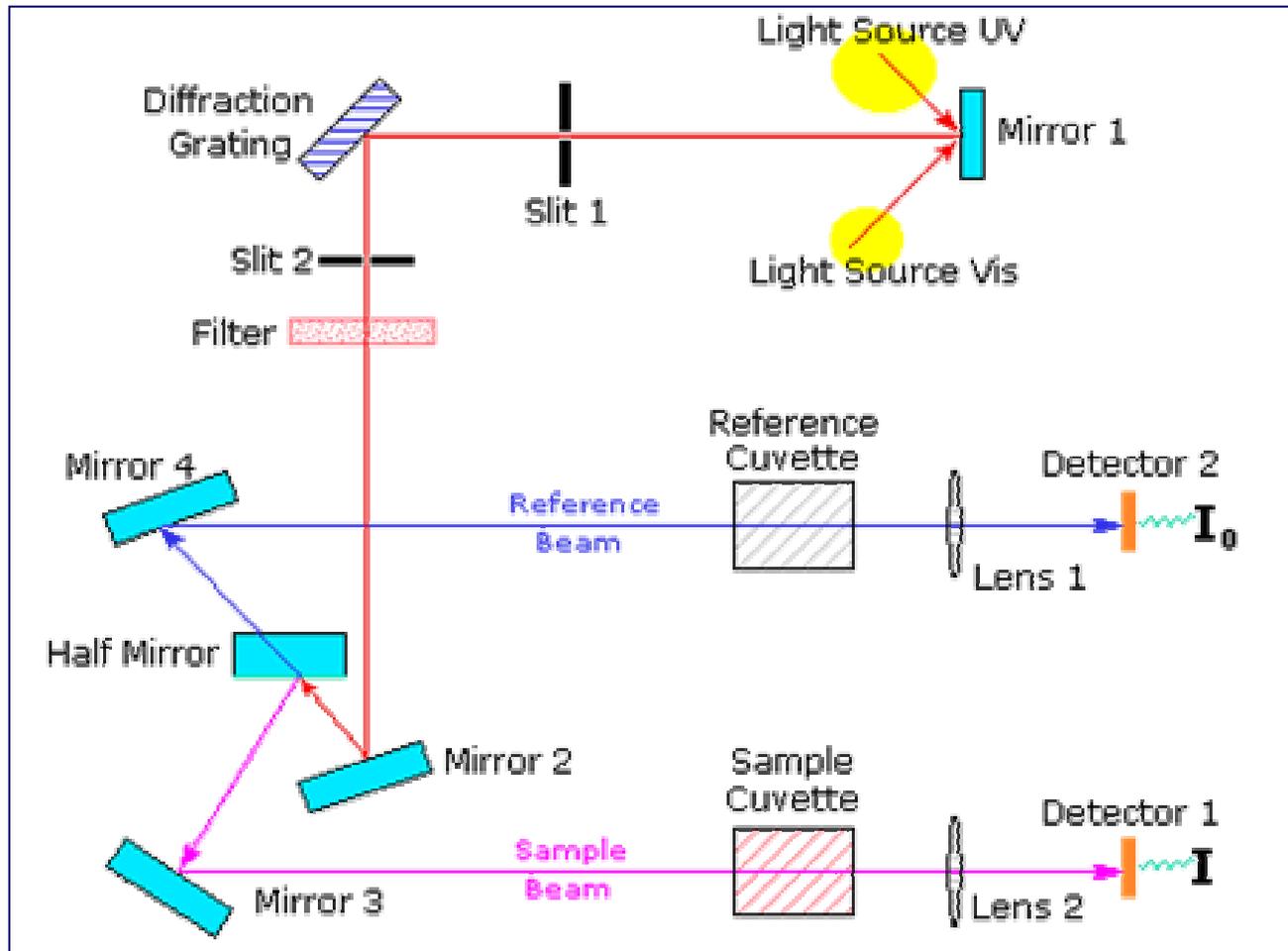
límite de detección; $0,01 - 0,001 \text{ (D.O.)}$

$$c \cong 10^{-5} - 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ l mol}^{-1}$$



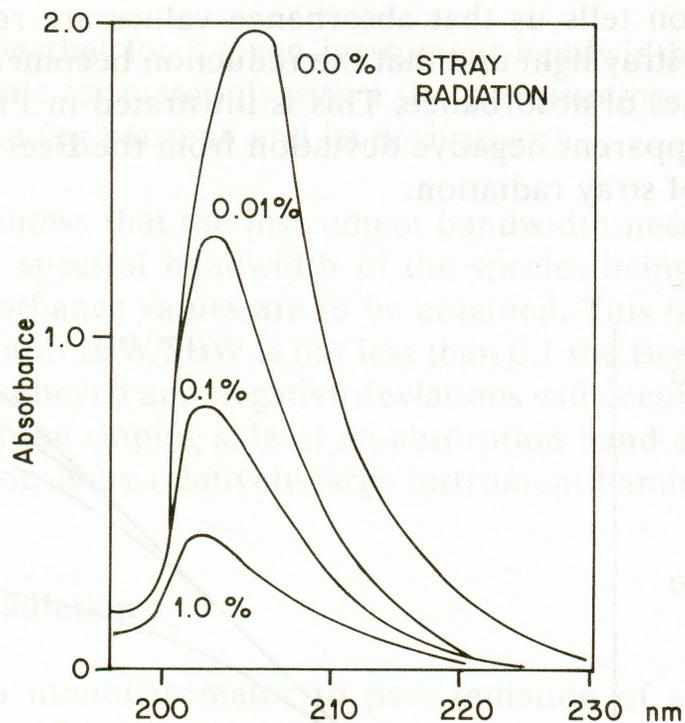


Espectrofotómetros (dispersivos)

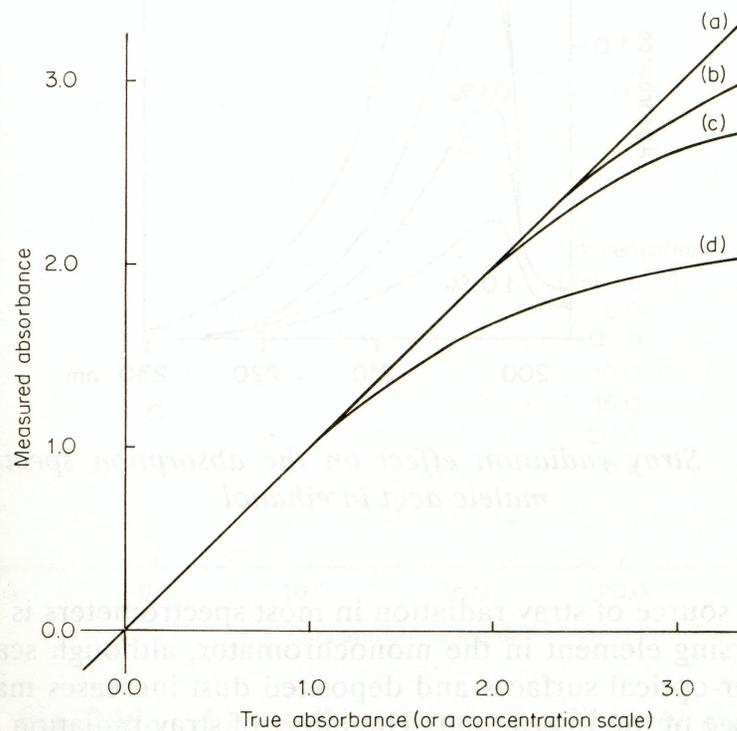




Errores por radiación errática (stray)



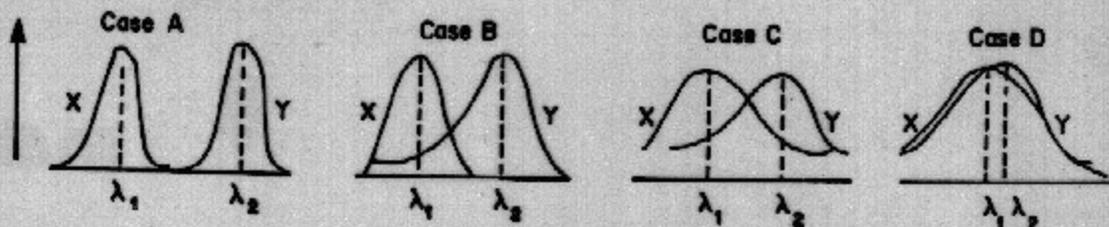
Efecto de la radiación stray sobre el espectro de absorción del ácido maleico en etanol



**(a) S=0%; (b) S= 0.05%;
(c) S= 0.1%; (d) S= 1.0%;**



Sistemas multicomponentes (binario)



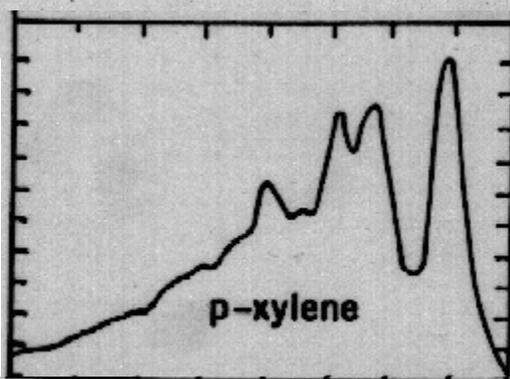
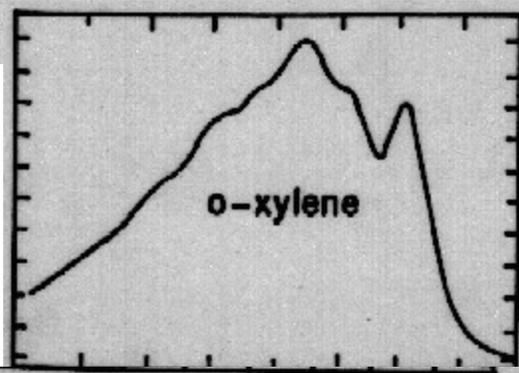
Absorption Profiles for Binary Mixture Analyses

$$A_M = A_X + A_Y$$

$$A_M = \epsilon_X c_X l + \epsilon_Y c_Y l$$

$$A_M(\lambda_1) = \epsilon_X(\lambda_1) c_X l + \epsilon_Y(\lambda_1) c_Y l$$

$$A_M(\lambda_2) = \epsilon_X(\lambda_2) c_X l + \epsilon_Y(\lambda_2) c_Y l$$



240 250 260 270 280

240 250 260 270 280

$$c_X = 0.13 \text{ g dm}^{-3}$$

$$c_Y = 0.084 \text{ g dm}^{-3}$$

	271 nm (λ')	275 nm (λ'')
<i>o</i> -xylene (0.40 g dm ⁻³)	0.90	0.10
<i>p</i> -xylene (0.17 g dm ⁻³)	0.34	1.02
mixture	0.47	0.54



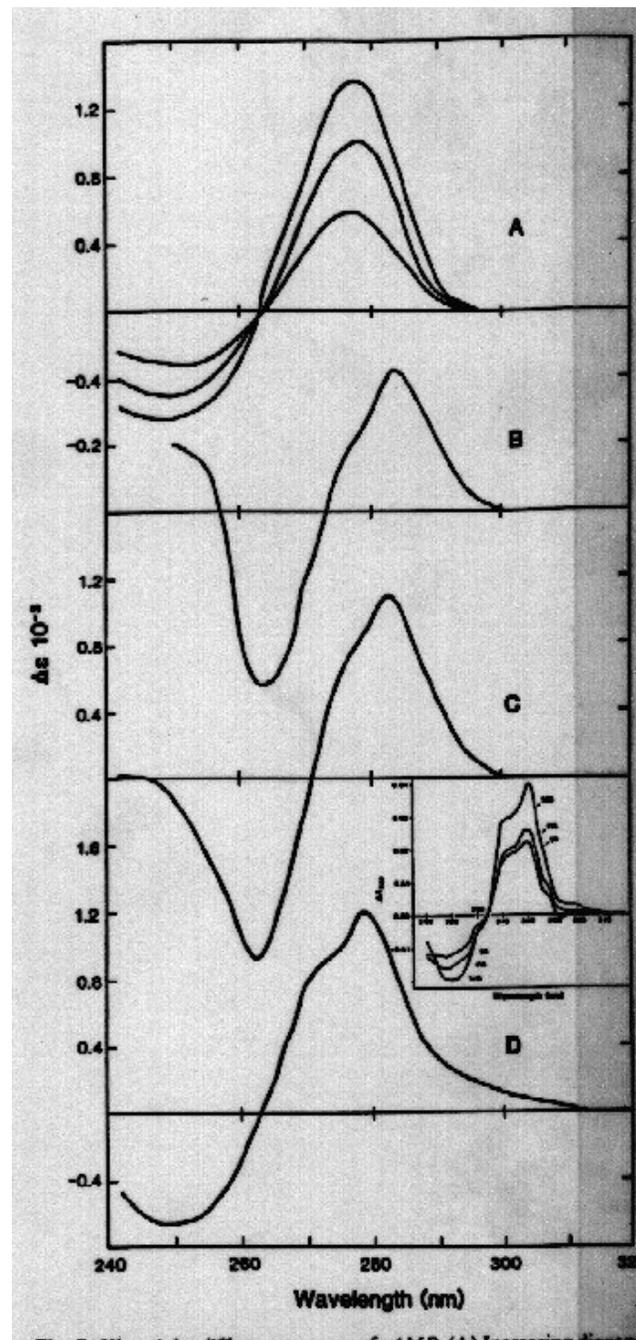
Universitat de les Illes Balears
 Departament de Química

**Efectos del entorno
 (coenzimas, ligandos, etc.)**

Efectos de la unión del cAMP. A la CRP
 (proteína receptora de cAMP). **-D-**

- A) Efecto de la polaridad: Dioxano, 20, 43 y 67%
- B) Efecto del pH (pH=1,3)
- C) Efecto del pH (pH=1,3) y de la polaridad (Dioxano, 50%)

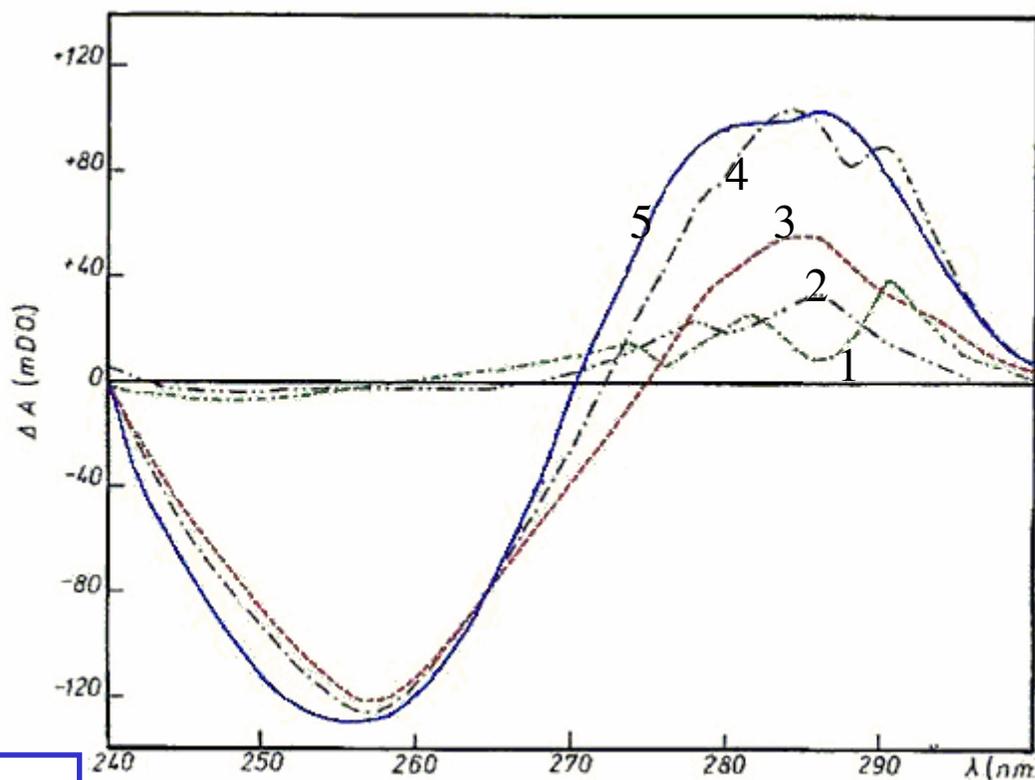
Insert- Efecto de la Fuerza iónica



Unión de AMP a la Fosforilasa b

fig7

1. $[Trp]=2,1 \cdot 10^{-5} M$
2. $[Tyr]=3 \times 2,1 \cdot 10^{-5} M$
3. $[\alpha Phb-AMP]=2,1 \cdot 10^{-5} M$
4. $[1 + 2 + 3]$
5. $[Phb-AMP]=2,1 \cdot 10^{-5} M$



Stacking del anillo de Adenina del AMP

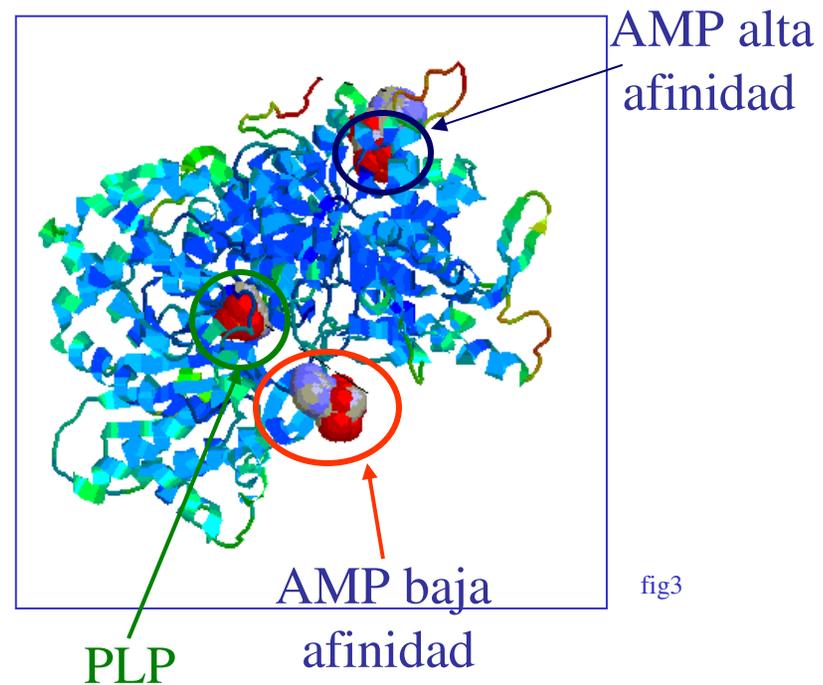
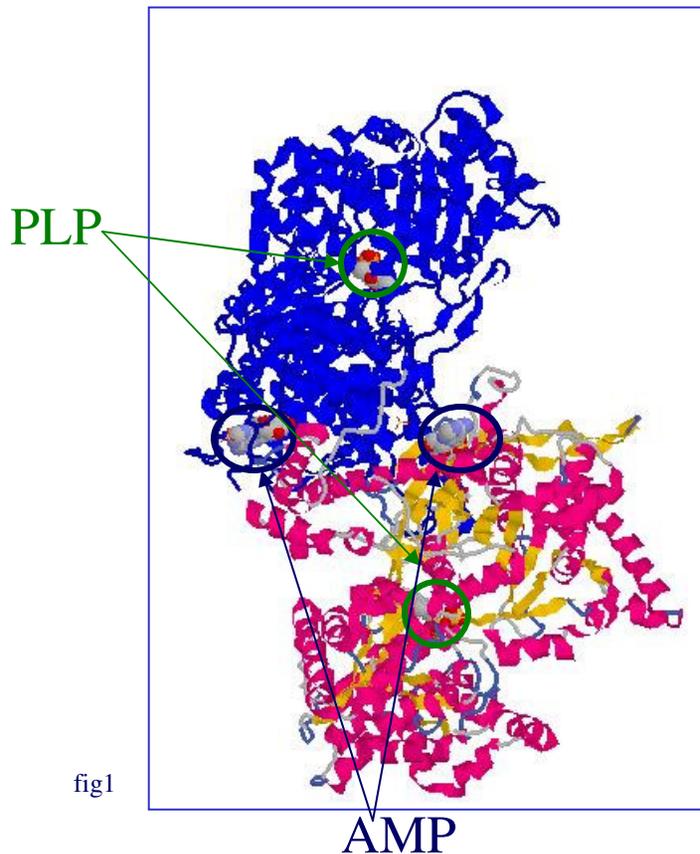
Modificación del entorno de Triptófano, Tirosina, Fenilalanina

Espectro de diferencia (Phb-AMP)-Phb-AMP. $[Phb-AMP]=2,1 \cdot 10^{-5} M$ 25°C



Fosforilasa de Glucógeno

(1,4- α -D-glucan:ortofosfato α -D-glucosiltransferasa) EC 2.4.1.1

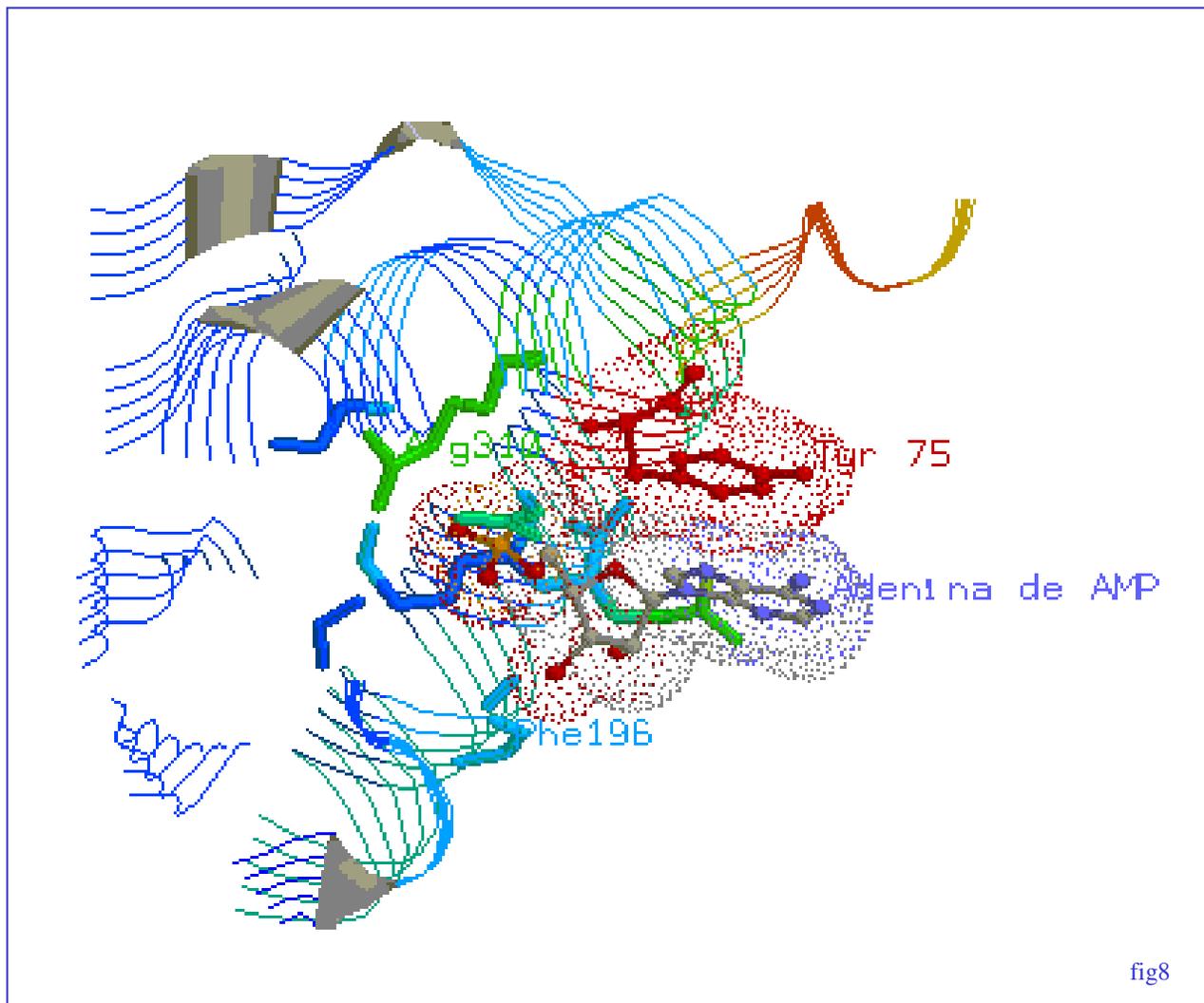


Fosforilasa b

L. Johnson, 1991

Coenzima; 5'-fosfato de piridoxal (PLP)
Efecto alostérico: 5'-fosfato de adenosina (AMP)

Unión del AMP a la Fosforilasa b

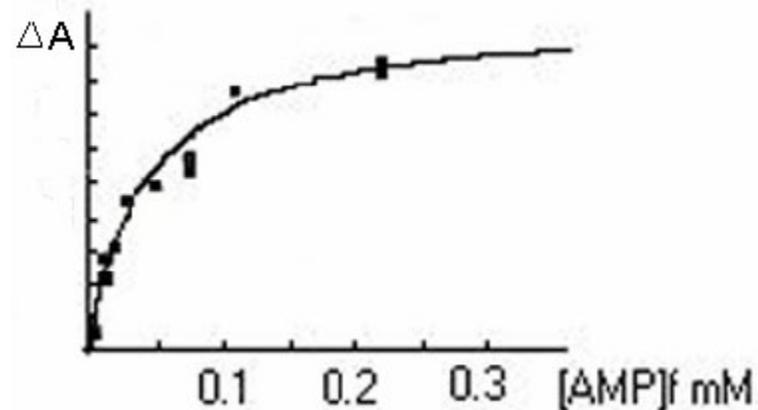
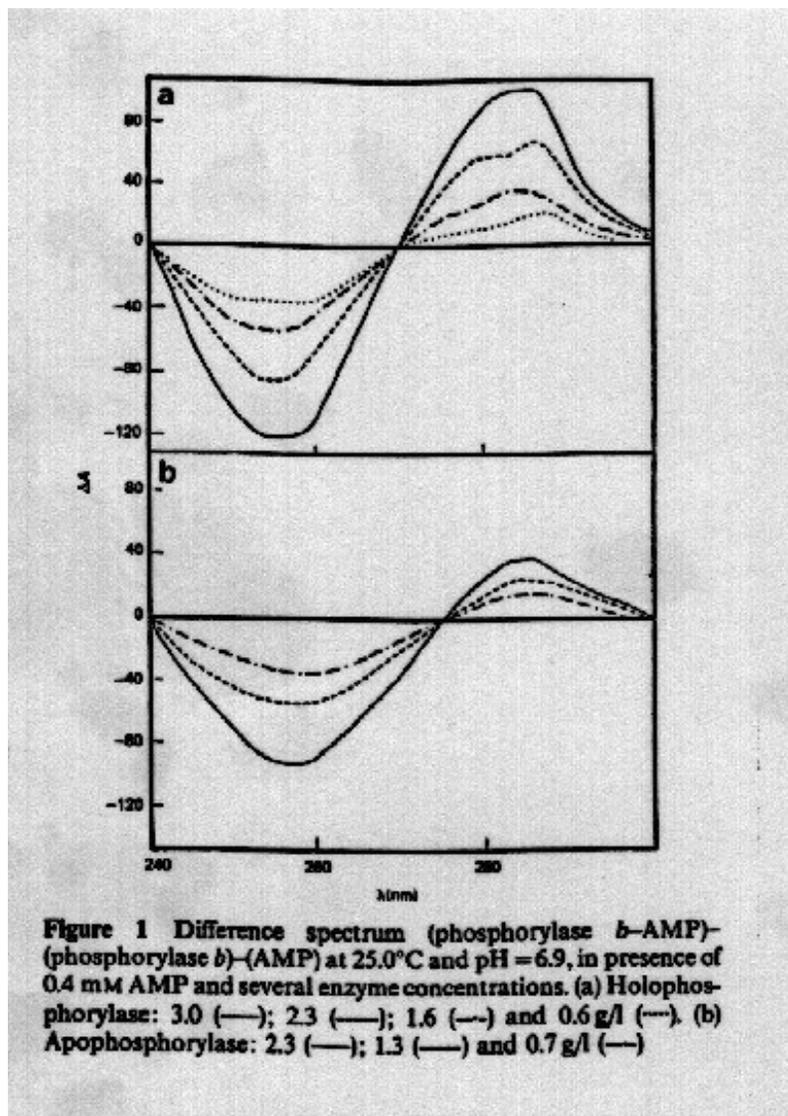


Sitio de unión de alta afinidad del AMP

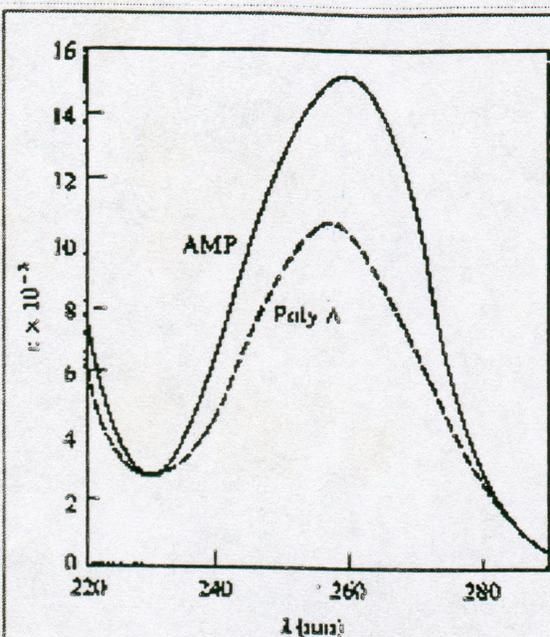


Universitat de les Illes Balears
 Departament de Química

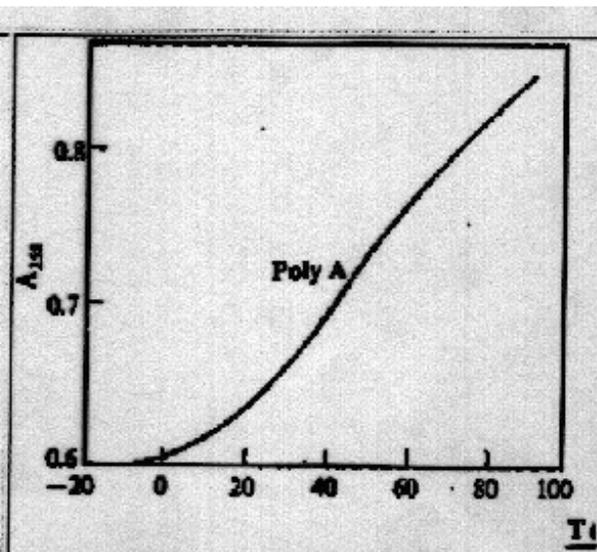
Constantes de equilibrio



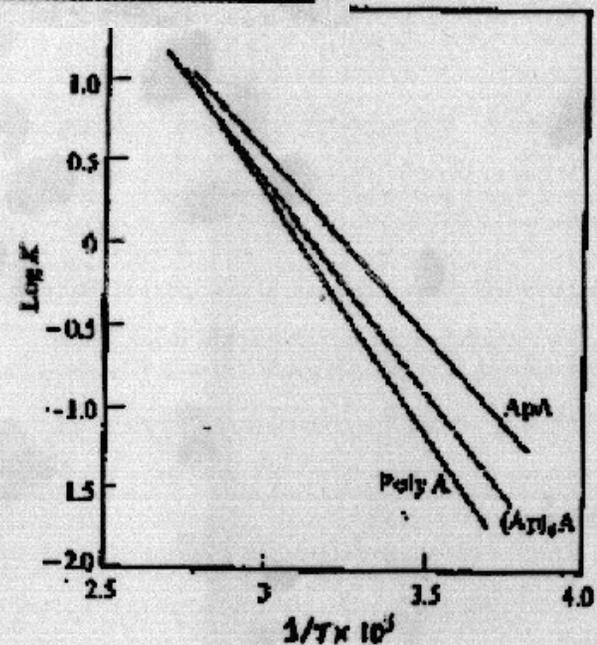
Equilibrio de unión



Diferencias entre el espectro de absorción del AMP y del poliácido adenílico. Efecto hipocrómico



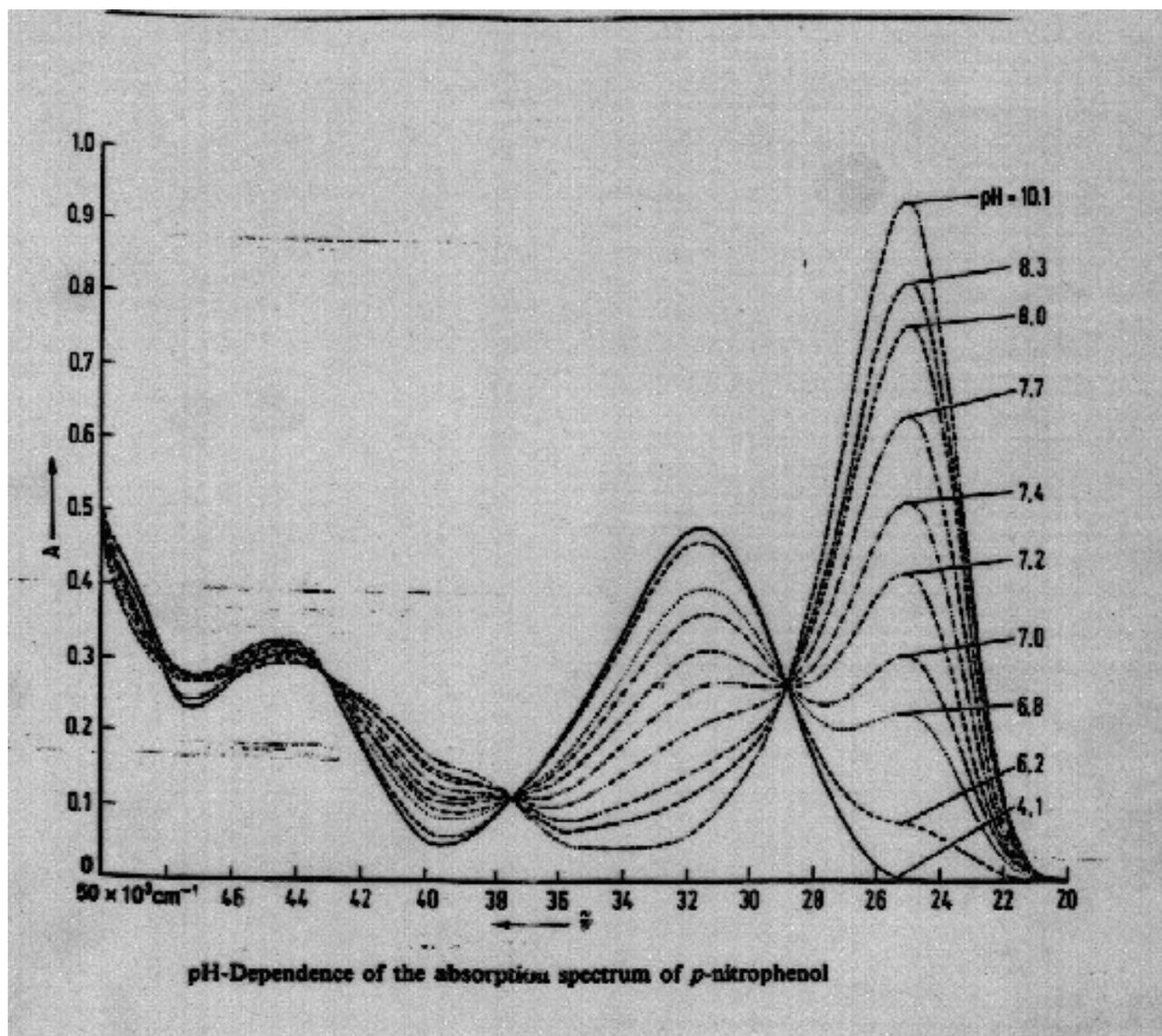
Variación de la Absorbancia a 258 con T pa poliácido adenílico. A alta temperatura su espectro coincide con el del AMP.



Equilibrio de apilamiento



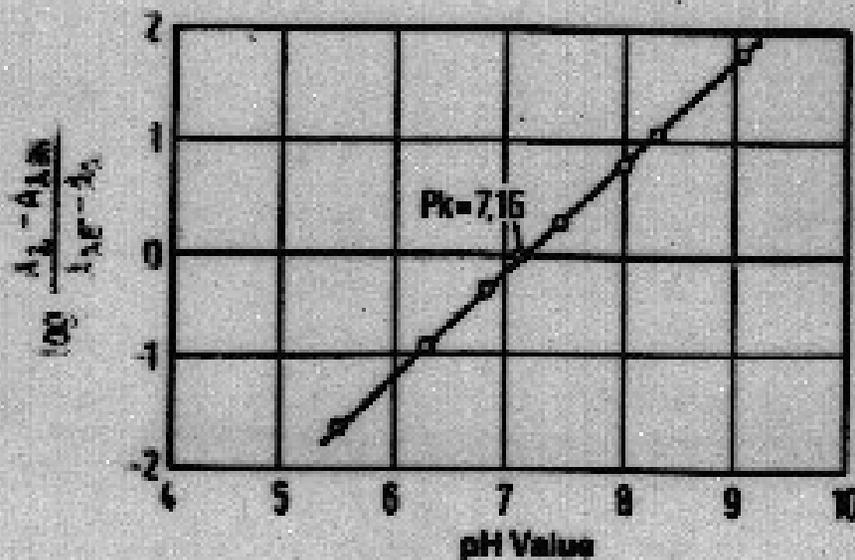
Equilibrio de ionización





Equilibrio de ionización

Evaluation of the pH-dependence of the absorption spectrum of *p*-nitrophenol according to the Henderson-Hasselbach equation (78 a)





$$\epsilon_{ap} = \frac{\epsilon_{AH^2} [H_3O^+]^2 + \epsilon_{AH} [H_3O^+] k_1 + \epsilon_{A^-} k_1 k_2}{k_1 k_2 + [H_3O^+] k_1 + [H_3O^+]^2}$$

$$[H_3O^+] \approx a_{H_3O^+}$$

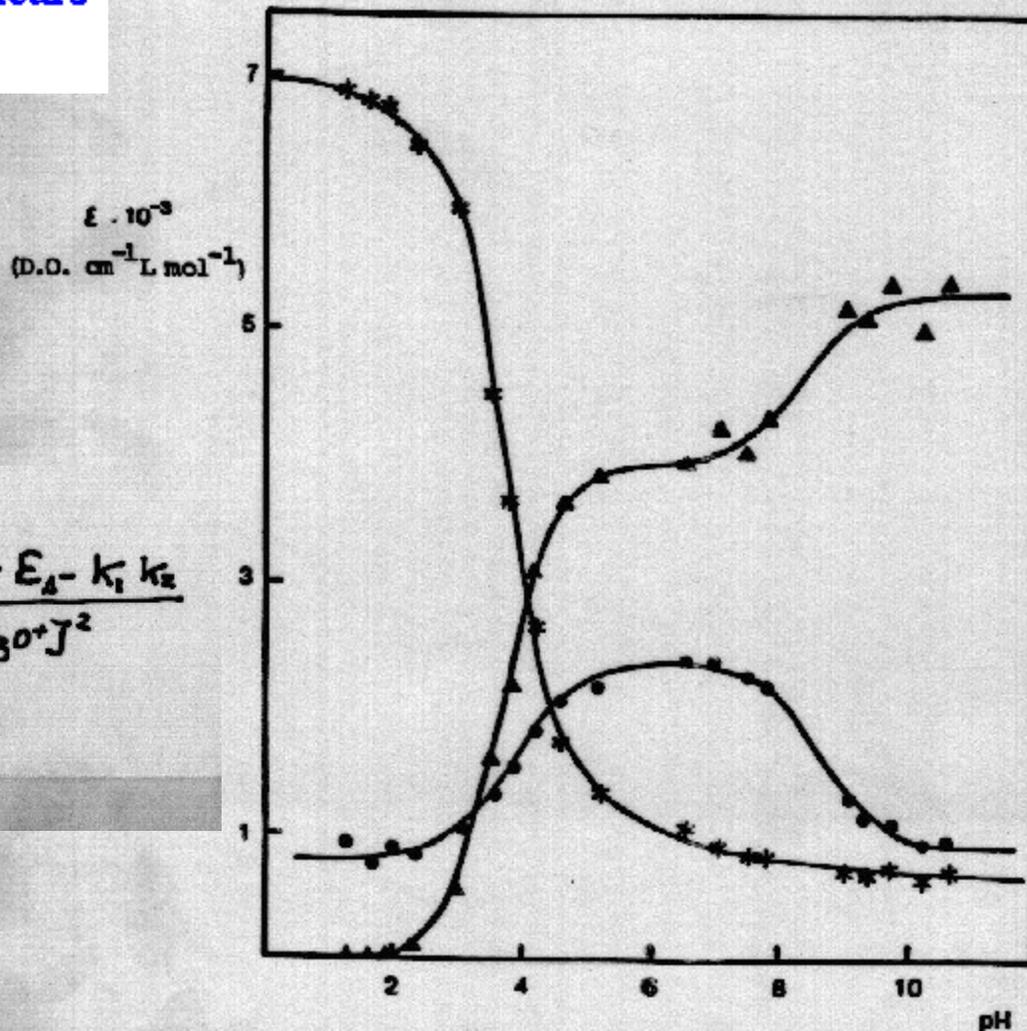


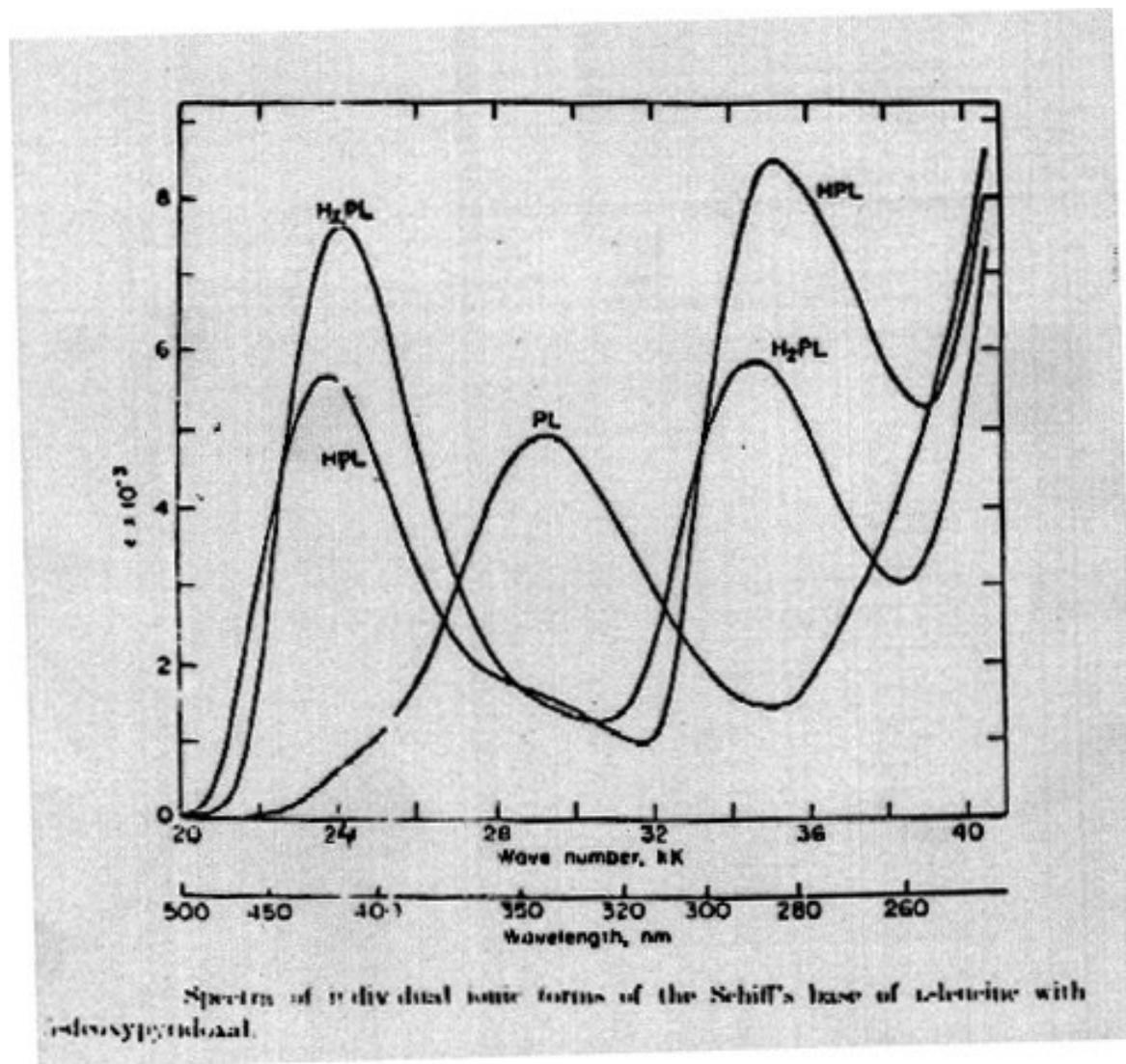
FIGURA 4 .- Variación con el pH de las absorciones molares de algunas bandas de absorción, Δ a 400, \bullet a 330, $*$ a 295 nm, del PLP en disolución acuosa, 0,1M KCl y a 10°C.

Equilibrio de ionización



Universitat de les Illes Balears
Departament de Química

Equilibrio de ionización



Espectros electrónicos: Especies iónica y Especies tautómeras

