



Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro

Roberto Daniel García*

Grupo de Ecología de Sistemas Acuáticos a escala de Paisaje (GESAP), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA), CONICET-UNComahue, Quintral 1250, San Carlos de Bariloche, Argentina.

(*) garciarobertodaniel@gmail.com

Recibido: 24/11/2018

Revisado: 24/12/2018

Aceptado: 30/12/2018

Resumen

La aparición del espectrofotómetro creado por Arnold Beckman en 1941 revolucionó el mundo de la biociencia. La cotidianidad actual de este instrumento ha conducido al desconocimiento de los alcances de su tecnología. En esta investigación se reivindica al espectrofotómetro y su creador como importantes generadores del desarrollo de la ciencia de los últimos 70 años. En este artículo trazamos la evolución de este importante instrumento científico desde su origen hasta las perspectivas a futuro. En este recorrido por su historia, se incluyen además las nociones básicas de su funcionamiento, su aplicación en diversas áreas y sus aportes más significativos.

Palabras claves: absorbancia; Arnold Beckman; espectrofotómetro; instrumentos científicos

Abstract

Instruments that revolutionized the science: The history of the spectrophotometer. The arrival of the spectrophotometer created by Arnold Beckman in 1941 revolutionized the world of bioscience. The currently ordinariness of this instrument has led to ignorance about the reach of its technology. The spectrophotometer and its creator are vindicated in this research as important generators of the development of science in the last 70 years. In this article we trace the evolution of this important scientific instrument from its origin to its future prospects. In this journey into its history, are also included the basic concepts of its functioning, its application in several areas and its most significant contributions.

Keywords: Absorbance; Arnold Beckman; Spectrophotometer; Scientific instruments

Introducción

La química ha avanzado a pasos agigantados en la última centuria gracias a los avances tecnológicos¹. Todos los días aparecen nuevas técnicas y avanzados instrumentos científicos que facilitan la tarea de los investigadores^{2,3}. Sin embargo, son pocos los instrumentos que logran volverse masivos y accesibles a toda la comunidad científica como fue el caso del espectrofotómetro. Entre las décadas de 1950 y 1970, los espectrofotómetros fueron fundamentales en los laboratorios clínicos y una potente herramienta para los investigadores¹. En la actualidad, son un aparato cotidiano en los laboratorios químicos, mientras que en los laboratorios hospitalarios se utilizan analizadores automatizados que emplean los principios básicos heredados de este instrumento^{4,5}. La contribución del espectrofotómetro a la química ha sido tan grande que Bruce Merrifield, ganador del premio Nobel de Química en 1984, lo consideró como “probablemente el instrumento más importante jamás desarrollado para el avance de la biociencia”⁶. Es probable que todo estudiante de química haya tenido la oportunidad de usar este instrumento al menos una vez. Sin embargo, son pocos los que conocen su historia y los alcances de su tecnología. Es por ello que el objetivo del presente trabajo es hacer un recorrido por la interesante historia del es-

pectrofotómetro, incluyendo las nociones básicas de su funcionamiento y su aplicación en la química.

¿Qué es y para qué sirve un espectrofotómetro?

El espectrofotómetro es un instrumento que permite proyectar un haz de luz a través de una muestra y medir la absorbancia (la cantidad de luz absorbida por la muestra) o la transmitancia (la cantidad de luz que pasa a través de la muestra, es decir, el recíproco matemático de la absorbancia)⁷. La cantidad de luz absorbida o transmitida a una determinada longitud de onda es proporcional a la concentración del material. Si el material no absorbe luz por sí mismo, se puede mezclar con otros reactivos para obtener, mediante una reacción química específica, una solución que sí absorba luz⁵. Los espectrofotómetros actuales pueden medir sobre prácticamente cualquier material (líquidos, plásticos, papel, metal, telas, etc.), de allí su versatilidad y uso en diferentes disciplinas⁸. Las principales aplicaciones de los espectrómetros son determinación de la cantidad en una solución de un compuesto en específico (p.e., concentración de hierro en la sangre, de cobre en un tejido, etc.), identificación de unidades estructurales específicas, (ya que estas tienen distintos tipos de absorbancia), detección de niveles de contaminación en aire y agua, determi-

nación de impurezas en alimentos y reactivos, determinación de constantes de disociación de indicadores ácido-base, y estandarización de colores de diversos materiales (p.e., plásticos y pinturas)⁸⁻¹⁰.

Historia de su invención

El primer registro de un proto-espectrofotómetro data de 1859, cuando un científico que estudiaba las características de los gases construyó un equipo para medir las energías absorbentes del dióxido de carbono, ozono, hidrocarburos y vapor de agua. Para su sorpresa, los gases completamente incoloros absorbían luz en algunas longitudes de onda mientras que otras longitudes no eran absorbidas. Luego de varios años de desarrollo, el 8 de enero de 1935, el profesor Arthur C. Hardy del Instituto Tecnológico de Massachusetts obtuvo una patente para el espectrofotómetro. Meses más tarde, la compañía General Electric presentaba el primer espectrofotómetro registrado comercialmente basado en su trabajo¹¹. Si bien los espectrofotómetros fueron bien recibidos, su uso y aplicación todavía eran limitados⁶.

En 1940, Arnold O. Beckman y sus colegas del National Technologies Laboratories Company, utilizando un amplificador de un medidor de pH, un prisma de vidrio y una fotocélula de tubo de vacío, fabricaron su primer espectrofotómetro⁶. El rendimiento de este primer modelo no fue satisfactorio, por lo que se lo modificó en un modelo B. La sustitución del prisma de vidrio por uno de cuarzo generó una sorprendente mejora en la capacidad para trabajar en longitudes de onda ultravioleta (UV). En un modelo C se mejoró la resolución en longitudes de onda UV. Finalmente, se desarrolló un modelo D, conocido como el modelo DU, que incorporó la parte electrónica dentro de la caja del instrumento e incluyó una nueva lámpara de hidrógeno¹². Este modelo poseía una mayor resolución y una menor pérdida de luz, lo que aumentó el rendimiento y la precisión de las mediciones de un 25% a un 99%, estableciendo un nuevo estándar de calidad en los análisis químicos⁵. Este espectrofotómetro se vendió a un precio inicial de US\$723 y se mantuvo con el mismo diseño desde 1941 hasta que fue discontinuado en 1976. A lo largo de sus 35 años de vida comercial, se vendieron más de 30.000 unidades a distintos laboratorios químicos, bioquímicos, clínicos e industriales¹³.

A partir del espectrofotómetro DU se desarrollaron miles de aplicaciones, siendo las más importantes la medición de vitamina A en cuestión de minutos (anteriormente se demoraba 21 días), la detección de contaminantes orgánicos en aguas subterráneas, el estudio de ensayos enzimáticos y el primer análisis químico completo del ácido desoxirribonucleico (ADN)¹⁴. El estallido de la Segunda Guerra Mundial generó que el espectrofotómetro se utilizará en investigación con fines bélicos. Por ejemplo, se estudió el tolueno para la producción del explosivo trinitrotolueno (TNT), y se utilizó el benceno y los butadienos para la producción de caucho sinté-

tico, necesario en la fabricación de neumáticos para jeeps, aviones y tanques de guerra. Para este fin, Beckman Instruments y Shell Development se unieron en 1942 para crear el primer espectrofotómetro infrarrojo (IR), que permitió subsanar la demanda de caucho natural. El espectrofotómetro también fue una herramienta importante para los científicos que estudiaron y produjeron la penicilina de uso médico que se utilizó durante la misma guerra¹⁴.

Luego de la revolución generada por el espectrofotómetro de Beckman, otras compañías empezaron a comercializar distintos modelos de este instrumento. El espectrofotómetro Spectronic 20 desarrollado por Bausch & Lomb en 1953 se convirtió en un instrumento estándar de la industria y probablemente el espectrofotómetro más utilizado en el mundo debido a su bajo costo y alta precisión⁵. A principios de los años ochenta, aparecieron los espectrofotómetros controlados por microprocesadores, automatizando y reduciendo el tiempo de análisis, lo que aumentó nuevamente el rendimiento de este instrumento. En la actualidad, se continúa con el perfeccionamiento de los espectrofotómetros, sobre todo en el área de la tecnología informática⁴. Los espectrofotómetros modernos son capaces de detectar la estructura y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos químicos, por lo que sus campos de aplicación son amplios: análisis de aguas, de suelos, bioquímica, toxicología, medicina, ciencias forenses, industria petrolera, farmacéutica y alimenticia, entre muchos otros.

Breve historia de un gran innovador: algo más que un instrumento

Arnold Orville Beckman (1900-2004) nació en Cullom (Illinois, Estados Unidos). Se recibió de licenciado en Ingeniería Química de la Universidad de Illinois en 1923 y se doctoró en química en el California Institute of Technology en 1928¹². En 1935, mientras era profesor en Cal Tech, fundó National Technologies Laboratories, donde desarrolló el primer medidor de pH, siendo este instrumento su primer éxito comercial. Sin embargo, su mayor éxito se produjo con el desarrollo del espectrofotómetro DU en 1940. A principios de la década de 1950, su compañía Beckman Instruments Inc. surgió como un importante proveedor de una amplia gama de instrumentos médicos y de investigación, y un importante fabricante de computadoras electrónicas para la automatización industrial¹⁶. Durante esa época, casi todos los laboratorios de bioquímica y clínicos del mundo tenían un medidor de pH Beckman, un espectrofotómetro Beckman DU, una ultracentrífuga analítica Beckman y otros instrumentos de la compañía⁶.

Gracias al éxito de su compañía, Beckman logró hacer una fortuna. Sin embargo, lejos de volverse un magnate inescrupuloso, creó la Fundación Arnold y Mabel Beckman, mediante la cual financió el establecimiento de cinco importantes institutos científicos dentro de diversas universidades¹⁵. Beckman recibió grandes reconocimientos no sólo como

inventor, sino también como líder cívico y empresarial. Debido a su distinguida carrera en la aplicación de la ciencia al bienestar público, Beckman fue galardonado con la Medalla Nacional de Tecnología, la Medalla Nacional de Ciencia y la Medalla de Bienestar Público por la Academia Nacional de Ciencias⁶.

¿Cómo funciona un espectrofotómetro?

Un espectrofotómetro en general consta de los siguientes componentes: una fuente de luz, un dispositivo de enfoque, un filtro de luz, una celda o cubeta de absorción, un fotodetector y un dispositivo de visualización^{5,7} (ver figura 1). La fuente de luz debe proporcionar longitudes de onda de luz correctas e intensidad constante. Típicamente, se utiliza una bombilla de filamento de tungsteno, que proporciona luz en la longitud de onda de 380 a 800 nanómetros (nm), cubriendo la región visible, y lámparas de hidrógeno o deuterio para la región UV, ya que producen longitudes de onda entre los 190 y los 380 nm¹⁷. Mediante una lente (el dispositivo de enfoque), la luz es concentrada en un solo haz. El funcionamiento del espectrofotómetro consiste en hacer pasar este rayo de luz a través de un monocromador, un dispositivo óptico de múltiples piezas, que selecciona sólo una porción estrecha del espectro de luz¹⁰. Luego, la luz seleccionada pasa a través de la cubeta de absorción, que contiene la muestra que se está analizando. Las cubetas son redondas o rectangulares y están construidas de vidrio, cuarzo, sílice fundida o plástico. Es importante que el material de la cubeta no absorba luz en las longitudes de onda en las que se está midiendo. Debido a que el vidrio óptico absorbe luz por debajo de los 350 nm, se utilizan cubetas de cuarzo para trabajar en el rango UV. Cuando la luz pasa a través de la muestra, parte del espectro es absorbido por la misma. La capacidad de absorción de la radiación depende de la estructura de las moléculas, siendo definida por su grupo funcional⁷. La luz no absorbida por la muestra sale de la cubeta y llega un fotodetector, que registra la transmitancia⁵. La transmitancia óptica (T) es la relación entre la cantidad de luz transmitida por la muestra y la cantidad de luz incidente, y generalmente se expresa en forma de porcentaje. Si una muestra posee una transmitancia del 50%, significa que transmite la mitad de la luz que recibe. Una magnitud derivada de la transmitancia es la absorbancia (A), definida como el logaritmo negativo de la transmitancia:

$$A = -\log T$$

La utilidad de la absorbancia radica en que sus valores son directamente proporcionales a la concentración de la sustancia absorbente (c), a través de la llamada ley de Lambert-Beer:

$$A = \epsilon l c$$

donde l es la longitud del camino óptico (el largo de la cubeta que contiene a la muestra) y ϵ es el coeficiente de absorción molar (propia de cada sustancia)^{8,10}. Teniendo la absorbancia

de la muestra, el largo de la cubeta y la constante, podemos despejar la concentración de nuestra muestra.

Los espectrofotómetros nos permiten medir el espectro de absorción completo de una sustancia. El espectro de una muestra es una representación gráfica de la cantidad de luz que se absorben en función de la longitud de onda⁸. En la figura 2 podemos observar espectros de absorción del agua proveniente de diversas fuentes y épocas del año. En este ejemplo, la absorbancia a 350 nanómetros (nm) puede ser utilizada como un indicador del contenido relativo de lignina en la materia orgánica disuelta en el agua. La lignina es un polímero fenólico que compone la madera de las plantas vasculares y que absorbe radiación fuertemente a los 350 nm. Gracias al espectrofotómetro podemos inferir que el agua pura no contiene lignina, pero si hay presencia de este material en los arroyos, especialmente en las épocas de lluvia debido al arrastre de material terrestre hacia los arroyos¹⁸. En este sentido, diferentes longitudes de onda aportan distinta información sobre la composición y concentración de un compuesto en particular^{7,19,20}.

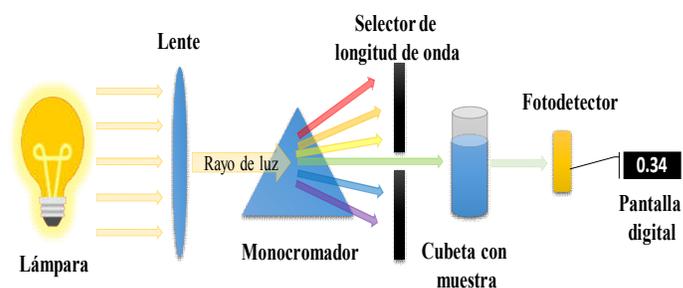


Fig. 1: Diagrama de un espectrofotómetro básico.

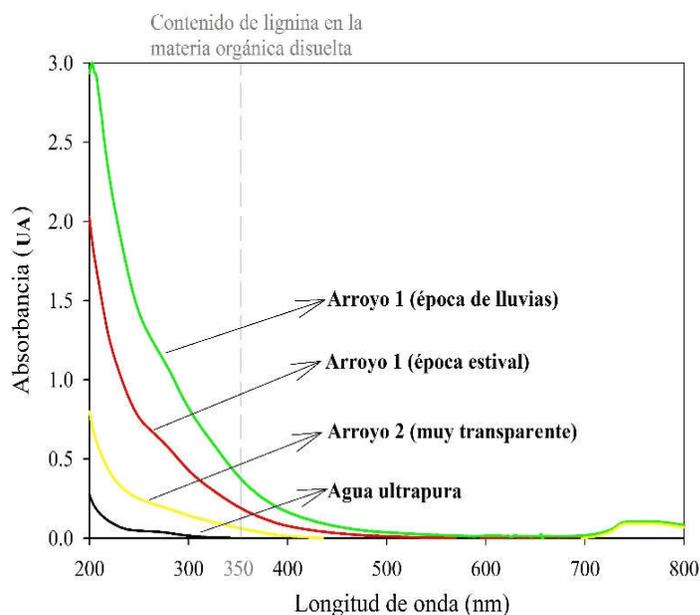


Fig. 2: Espectros de absorción del agua proveniente de diferentes fuentes. La longitud de onda a 350 nm es un indicador del contenido de lignina en la materia orgánica disuelta presente en el agua.

Consideraciones finales

Desde principios de la década de 1950, los espectrofotómetros han sido un instrumento corriente en laboratorios químicos y médicos. En la actualidad, su cotidianidad en una gran variedad de campos ha conducido a un desconocimiento de las implicancias y del alcance de esta tecnología. Es por ello que es necesario reivindicar al espectrofotómetro, y a los que han aportado a su causa, como generadores del gran avance de la química en los últimos 70 años¹. Los recientes desarrollos tecnológicos en el área de la informática, junto con el perfeccionamiento de los fotodetectores y las lámparas, han permitido producir espectrofotómetros cada vez más rápidos, precisos y con una reproducibilidad inimaginables. Es por ello que los aportes realizados hasta ahora por este instrumento tal vez sólo sean el inicio de muchas otras contribuciones a la química.

Agradecimientos

Agradezco los útiles comentarios de la Lic. Lorena Nicolé y de un revisor anónimo, que han mejorado notablemente la calidad de este manuscrito.

Referencias

1. JA Chamizo Guerrero. La cuarta revolución química (1945-1966). De las sustancias a las especies químicas. **Educ. Quím.**, **28(4)**, 202-210 (2017).
2. D Warner. What is a scientific instrument, when did it become one, and why? **Br. J. Hist. Sci.**, **23(1)**, 83-93 (1990).
3. C Blondel. Electrical instruments in 19th century France, between makers and users. **Hist. Technol.**, **13(3)**, 157-182 (1997).
4. J Buie. Evolution of UV-Vis Spectrophotometers. **Lab Manager**, **4**, 24-25 (2011).
5. RM Dondelinger. Spectrophotometers. **Biomed. Instrum. Technol.**, **45(2)**, 139-143 (2011).
6. R Simoni, R Hill, M Vaughan, H Tabor. A classic instrument: The Beckman DU spectrophotometer and its inventor, Arnold O. Beckman. **J. Biol. Chem.**, **278(49)**, 79-81 (2003).
7. N Díaz, J Ruiz, E Reyes, A Cejudo, J Novo, J Peinado, F Meléndez-Valdés, I Fiñana. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas, (2000). Disponible en: http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolmol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf. Fecha de consulta 26/05/2018.
8. J Gavira Vallejo, A Hernanz Gismero. Técnicas fisicoquímicas en medio ambiente. Madrid, España; Editorial UNED (2011).
9. Y Jiménez, M López. Aplicabilidad de la técnica de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano para determinar dodecibenceno sulfonato de sodio en limpiadores líquidos. **Avances en Química**, **6(2)**, 38-46 (2011).
10. P Bisen, A Sharma. Introduction to instrumentation in life sciences. Boca Raton, Estados Unidos; CRC Press (2012).
11. A Hardy. History of the design of the recording spectrophotometer. **J. Opt. Soc. Ame.**, **28(10)**, 360-364 (1938).
12. K Belser. Arnold Orville Beckman, (2009). Disponible en: http://www.karl-belser.com/History/Beckman_Arnold.pdf. Fecha de consulta 14/05/2018.
13. W Schmidt. Optical spectroscopy in chemistry and life sciences: An introduction. Weinheim, Alemania; Wiley-VCH (2005).
14. A Thackray, M Myers. Arnold O. Beckman: One hundred years of excellence (Vol. 1). Philadelphia, Estados Unidos; Chemical Heritage Foundation (2000).
15. J Gallwas. People: Arnold Orville Beckman (1900–2004). **Anal. Chem.**, **76(15)**, 264-265 (2004).
16. Board on Physics and Astronomy, Division on Engineering and Physical Sciences (BPADEPS). Instrumentation for a better tomorrow: proceedings of a symposium in honor of Arnold Beckman. Washington, Estados Unidos; National Academies Press (2006).
17. S Beck. Across the Spectrum: Instrumentation for UV/Vis Spectrophotometry. **The Scientist**, **2(3)** (1998). Disponible en: <https://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/18797/title/Across-the-Spectrum-Instrumentation-for-UV-Vis-Spectrophotometry>. Fecha de consulta 15/05/2018.
18. RD García, M Reissig, CP Queimaliños, PE García, MC Diéguez. Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter. **Sci. Total Environ.**, **521-522**, 280-292 (2015).
19. RD García. Caracterización de la materia orgánica alóctona y la dinámica de su ingreso en un lago profundo norpatagónico a través de arroyos tributarios. Tesis Doctoral. San Carlos de Bariloche, Argentina; Universidad Nacional del Comahue (2016).
20. RD Garcia, MC Diéguez, M Gereá, PE Garcia, M Reissig. Characterisation and reactivity continuum of dissolved organic matter in forested headwater catchments of Andean Patagonia. **Freshw. Biol.**, **63(9)**, 1049-1062 (2018).