

# Aplicación de la ley de Lambert-Beer con fines docentes en método por espectrofotometría ultravioleta para vitamina A (retinol)

**L. E. Jiménez Rodríguez**

*Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, INHEM, MINSAP,  
Infanta No.1158 entre Clavel y Santo Tomás, Centro Habana, CP 10300, La Habana,  
Cuba*

ISSN 1870-9095

**E-mail:** enrijim@infomed.cu

(Recibido el 23 de octubre de 2025, aceptado el 16 de diciembre de 2025)

## Resumen

Se describe un ejemplo de aplicación de la ley de Lambert-Beer con fines docentes a un procedimiento por espectrofotometría ultravioleta (UV) adaptado de la USP, para la cuantificación de vitamina A (retinol) en materias primas y estándares parcialmente degradados.

**Palabras clave:** ley de Lambert-Beer, vitamina A, espectrofotometría ultravioleta (UV).

## Abstract

An example of the application of the Lambert-Beer law for teaching purposes is described, to an ultraviolet (UV) spectrophotometry procedure adapted from the USP, for the quantification of vitamin A (retinol) in raw materials and partially degraded standards.

**Key words:** Lambert-Beer law, vitamin A, ultraviolet spectrophotometry (UV).

## I. INTRODUCCIÓN

En ocasiones se desconoce el principio del funcionamiento de los equipos con los que se cuenta en los laboratorios de ensayos físico químicos, como es el caso de los espectrofotómetros UV-Visible, donde los compuestos a analizar absorben luz ultravioleta (UV) o visible (Vis).

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución, utilizando un espectrofotómetro donde se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas, teniendo en cuenta además, que la cantidad de luz absorbida debe presentar una correspondencia lineal con la concentración [1].

Si se dirige un haz de radiación monocromática de poder radiante  $P_0$  a una solución de muestra, se efectúa la absorción del haz y al salir de la muestra tiene un poder radiante  $P$ .

$$P_0 \xRightarrow{b} \boxed{\phantom{00}} \xRightarrow{\phantom{00}} P$$

La cantidad de radiación absorbida puede ser medida de distintas formas:

Transmitancia,  $T = P / P_0$

Dónde: % Transmitancia,  $\%T = 100 T$ .

O, como:

Absorbancia,  $A = \log_{10} P_0 / P$ .

Dónde:  $A = \log_{10} 1 / T$ .

Aplicando logaritmo, queda:  $A = \log_{10} 100 / \%T$ .

Equivalente a:  $A = 2 - \log_{10} \%T$ .

Así, si toda la luz pasa a través de una solución sin absorción, entonces la absorbancia es cero, y el por ciento de transmitancia es 100%. Si toda la luz es absorbida, entonces el porcentaje de transmitancia es cero, y la absorción es infinita.

La ley de Lambert-Beer se representa por la ecuación siguiente:

$$A = \epsilon bc.$$

Dónde:

$A$  es la absorbancia, adimensional, puesto que

$$A = \log_{10} P_0 / P$$

$\epsilon$  es la absorptividad molar con unidades de  $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

$b$  es la longitud del paso óptico de la muestra, el espesor de la celda en que la muestra está contenida, expresado en centímetros.

$c$  es la concentración del compuesto en solución, expresado en  $\text{mol L}^{-1}$ .

La absorptividad molar,  $\epsilon$ , es la cantidad de luz absorbida por unidad de concentración, o la extinción causada por un mol de solución, teniendo en cuenta la concentración expresada en moles/L, lo que explica el nombre con que también se la conoce, coeficiente de extinción molar, siendo una constante para una sustancia particular.

En la figura 1 se muestran los cromóforos presentes de la vitamina A: dobles enlaces (dienos conjugados) presentes en su estructura química, responsables de la absorptancia característica a las longitudes de onda entre 310 y 334 nm en el espectro UV [2].

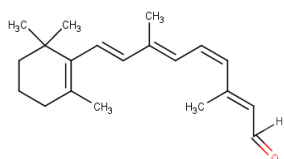


FIGURA 1. Vitamina A, Retinol.

El procedimiento analítico descrito debajo, se utiliza para la determinación de la vitamina A. Se ajusta a las disposiciones adoptadas en 1956 para uso internacional por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) [3].

La valoración se debe realizar sin demora, tomando las precauciones a lo largo de todo el procedimiento para reducir al mínimo la exposición a la luz actínica, al oxígeno atmosférico y otros agentes oxidantes empleando preferentemente material de vidrio con protección actínica y una atmósfera de gas inerte. Se parte de una pesada de alrededor de 25 mg de vitamina A (retinol) en un frasco volumétrico de 100 mL, diluyendo con alcohol isopropílico, resultando una solución con alrededor de 0,25 mg/mL de vitamina A.

Se diluyen con alcohol isopropílico, 2 mL de la solución anterior en un volumétrico de 100 mL, resultando una solución de 0,005 mg/mL de vitamina A, lista para la lectura en el espectrofotómetro.

Finalmente, se determinan las absorptancias de la solución resultante a las longitudes de onda de: 310 nm, 325 nm y 334 nm, utilizando alcohol isopropílico como blanco.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Cristalería y reactivos

Matraces aforados ámbar, alcohol isopropílico

### B. Equipos y condiciones instrumentales

— Balanza analítica

- Espectrofotómetro ultravioleta visible UV <857>
  - Longitudes de onda para las mediciones: 310, 325 y 334 nm.
  - Celda: 1 cm.

## III. RESULTADOS

### A. Análisis de la muestra

Para la cuantificación de vitamina A (retinol) en materias primas y estándares parcialmente degradados, se determinan las absorptancias de la solución resultante a las longitudes de onda de: 310 nm, 325 nm y 334 nm con un espectrofotómetro adecuado provisto con celdas de cuarzo idénticas, empleando alcohol isopropílico como blanco.

### B. Cálculos

Se obtiene el contenido en mg de vitamina A, expresado como retinol ( $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}$ ) de la siguiente manera:

$$\text{Contenido (en mg)} = 0,549 A_{325} / LC.$$

donde:

$A_{325}$  es la absorptancia observada a 325 nm; L es la longitud, en cm, de la celda de absorción; y C es la cantidad de muestra de ensayo expresada como g por cada 100 ml de la solución final en alcohol isopropílico, siempre que la Absorptancia de la muestra ( $A_{\text{muestra}}$ ) tenga un valor que no sea menor de:

$$[A_{325}] / 1,030,$$

y que no sea mayor de:

$$[A_{325}] / 0,970,$$

donde:

$[A_{325}]$  es la absorptancia corregida a 325 nm dada por la ecuación:

$$[A_{\text{muestra}}] = 6,815 A_{325} - 2,555 A_{310} - 4,260 A_{334}.$$

Donde A se designa como la absorptancia a la longitud de onda indicada por el subíndice.

Cuando  $[A_{325}]$  tiene un valor menor de  $A_{325}/1,030$ , se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido (en mg)} = 0,549[A_{325}] / LC.$$

Donde, los valores son los definidos anteriormente. Cada mg de vitamina A (alcohol) representa 3333 Unidades USP de vitamina A.

### C. Intervalo de Confianza

Es el intervalo de los límites de error, que indica la diferencia que se puede esperar en los resultados obtenidos entre

diferentes laboratorios; para una probabilidad  $P$  de 0,05 es aproximadamente  $\pm 8\%$ .

#### IV. CONCLUSIONES

Se muestra una forma de aprovechar los conocimientos teóricos adquiridos en los estudios de pregrado y de postgrado sobre Física Óptica junto a los de Química, para una mejor comprensión del funcionamiento de los equipos de ensayos, como es el caso de los espectrofotómetros, en este caso, para la cuantificación de vitamina A (retinol) en materias primas y estándares parcialmente degradados.

#### REFERENCIAS

- [1] Amézquita L. Fernando, Mendoza O. Diana Amézquita L. Fernando, *Fundamentos de la Espectroscopia Aplicada a la Instrumentación Química*, Segunda reimpresión de la cuarta edición, (Universidad de Guanajuato, México, 2007).
- [2] Skoog/West, (546 SKO), *Química Analítica*, 6ta. Edición, (McGraw-Hill, México, 1995).
- [3] Vitamin A assay <571>, Método Químico; [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M99330\\_01\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99330_01_01).