



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SEC. DE QUÍMICA ANALÍTICA



Curva de calibración espectrofotométrica indirecta con efecto de dilución

Objetivo

Que el alumno identifique las características relacionadas a una curva de calibración indirecta con efecto de dilución mediante la resolución paso a paso de un ejercicio, empleando datos espectrofotométricos y una redacción de un problema contextualizado en la industria farmacéutica.

Material de apoyo para las carreras de: Química, Química Industrial, Farmacia, Ingeniería Química, Bioquímica Diagnóstica, Química Farmacéutica Bióloga para las asignaturas de química analítica donde se revisan los temas de espectrofotometría de absorción y curvas de calibración.

Elaborado por Alma Luisa Revilla Vázquez y Luis Ángel Ojeda, en noviembre de 2022 en el marco del proyecto PAPIME PE208921.

D. R. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Excepto donde se indique lo contrario esta obra está bajo una licencia Creative Commons Atribución No comercial, No derivada, 4.0 Internacional (CC BY NC ND 4.0 INTERNACIONAL). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>

ENTIDAD EDITORA. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.



Usted es libre de **compartir**, copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato.

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia.

Atribución: Usted debe dar crédito de manera adecuada y brindar un enlace a la licencia. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

No Comercial: Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

Sin Derivadas: Si remezcla, transforma o crea a partir del material, no podrá distribuir el material modificado.

Forma sugerida de citar:

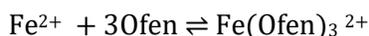
Revilla, A. y Ojeda, L. (2022). Curva de calibración indirecta con dilución. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

CARACTERÍSTICAS DE UNA CURVA DE CALIBRACIÓN INDIRECTAS SIN DILUCIÓN:

- ✓ El analito por determinar no presenta señal, por ello hay se emplea una reacción química (espontánea, cuantitativa y cinéticamente rápida):
$$aX + bY \rightleftharpoons cZ \dots K_{eq} \gg 1$$
- ✓ La propiedad por medir no la da el analito de interés, "X"; sino otra especie: el reaccionante "Y" o el producto "Z", permitiendo la determinación indirecta del analito.
- ✓ Se deben preparar soluciones estándar del analito "X" y del reaccionante "Y".
- ✓ Se preparan n -sistemas con solución estándar del analito, de diferente concentración y al menos un sistema con solución problema.
- ✓ El volumen de los sistemas es *diferente*, debido al efecto de dilución al preparar los sistemas.
- ✓ El reaccionante "Y" se agrega en la misma cantidad en todos los sistemas y se debe encontrar en exceso, considerando la estequiometría de la reacción.

EJERCICIO PROPUESTO:

Se quiere determinar la cantidad de Fe(II) presente en tabletas de un medicamento comercial, para ello se aprovecha que éste forma un complejo naranja al reaccionar con orto-fenantrolina (Ofen). La ecuación química para la reacción asociada es:



Preparación de la solución Stock de Fe (II): se pesan 30.8 mg de sulfato ferroso, se agregan 25 mL de agua, 2 mL de ácido sulfúrico, y afora a 100 mL con agua destilada (soln A). De la solución anterior se toma 1 mL y afora a 25 mL (soln B); ver figura 1, esquema de este proceso.

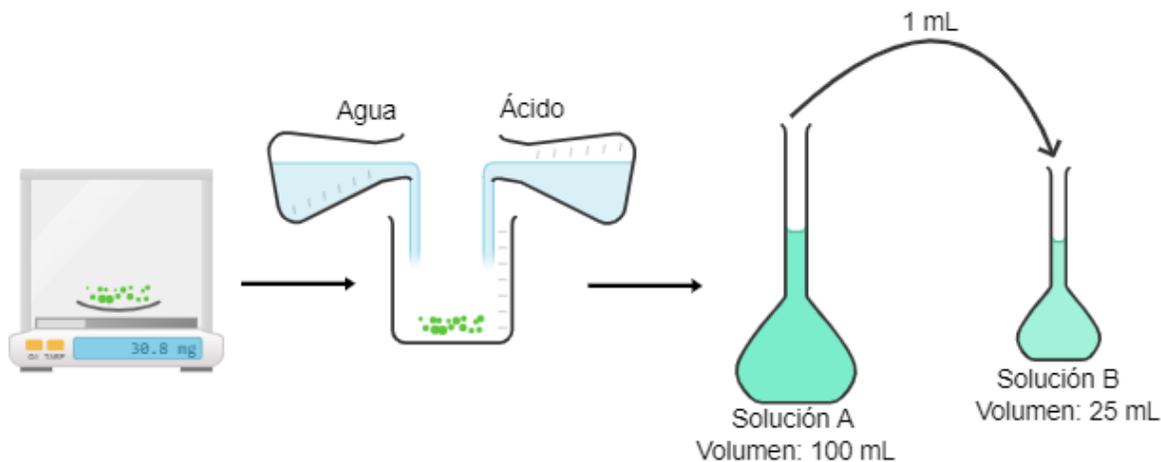


Figura 1. Esquemización de la preparación de las soluciones de Fe(II) estándar.

Solución Stock de Ofen: Solución de concentración 0.014 M.

Solución problema: se trituran 10 tabletas y se pesan 41.7 mg de polvo, se disuelven en 30 mL de agua, se filtra y afora a 50 mL (sol. Problema stock). Se realiza una dilución midiendo 1 mL de la solución anterior y aforando a 25 mL (Sol. Problema 1) con agua destilada (Figura 2).

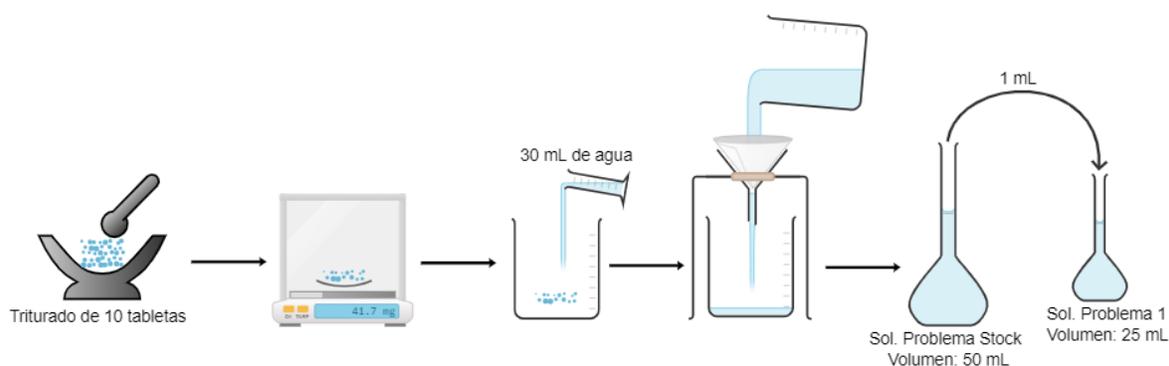


Figura 2. Esquematzación de la preparación de las soluciones a partir de la muestra.

Una vez preparas las soluciones se procede a preparar los sistemas para la curva de calibración (tabla 1, figura 3) y se mide la absorbancia a cada uno de ellos.

Tabla 1. Preparación de los sistemas para la curva.

<i>Sistema</i>	Ofen (mL)	Sol Prob 1 (mL)	Solución B (mL)	A ($\lambda=510$ nm)
1	5	0	1	0.148
2	5	0	2	0.262
3	5	0	3	0.319
4	5	0	4	0.376
5	5	0	5	0.444
Problema 2	5	3	0	0.319

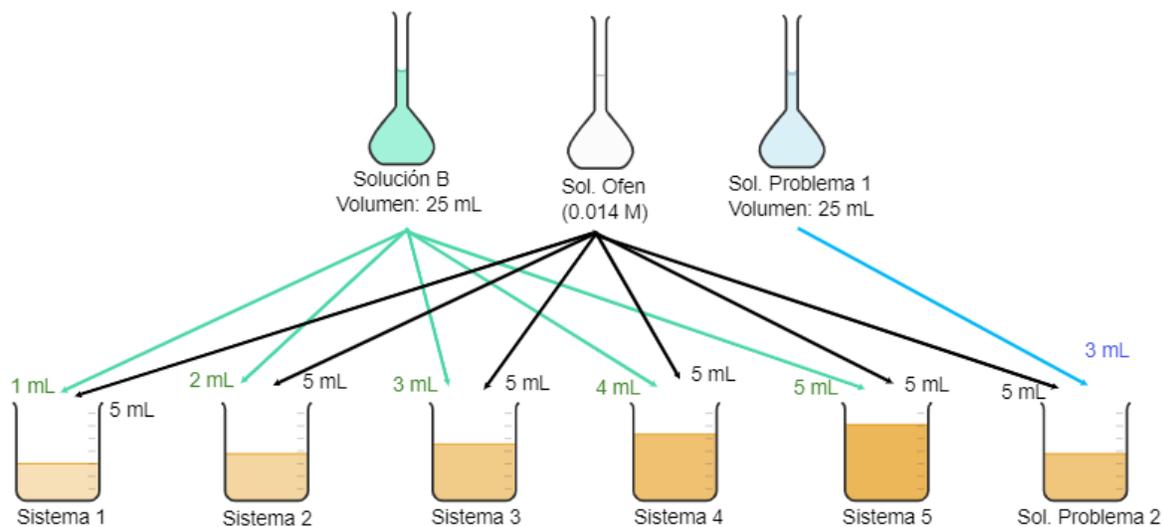


Figura 3. Esquema de la preparación de los sistemas para la curva de calibración.

Datos extra:

Reactivo FeSO_4 : 151.91 g/mol Pureza: 99.2%. Fe: 55.845 g/mol

Marbete del medicamento: 1 tableta contiene 60.27 mg de Fe. Masa promedio por tableta = 450.7 mg

PASO 1. IDENTIFICAR EL METODO DE CUANTIFICACIÓN

Debido a que la cuantificación del hierro se realizará a partir del producto formado por la **reacción química** entre el catión (Fe^{2+}) y un agente complejante (Ofen), se tiene que **el método de cuantificación es indirecto**.

De acuerdo con la preparación de los sistemas (Tabla 1), ningún sistema que contiene hierro estándar contiene también solución problema, por tanto, se puede identificar que es una **curva de calibración**.

Además, al ver que en la preparación de los sistemas no se indica un volumen de aforo, se debe suponer que el volumen de cada sistema es la suma de los volúmenes adicionados, el cual es diferente para cada sistema, por lo que la curva se ve afectada por un **efecto de dilución**.

Por lo que el método empleado es una **curva de calibración indirecta con efecto de dilución**.

PASO 2. DESARROLLAR LA TABLA DE VARIACIÓN DE CANTIDADES MOLARES

La tabla de variación de cantidades molares permite conocer la relación molar que existe entre las especies químicas al equilibrio (Tabla 2). Hay que recordar que el reaccionante, en este caso Ofen, debe de estar en exceso estequiométrico y por tanto el reactivo limitante es el Fe^{2+} .

Tabla 2. Variación de cantidades molares para la reacción entre Fe^{2+} y Ofen.

	Fe^{2+}	+	3 Ofen	\rightleftharpoons	$\text{Fe}(\text{Ofen})_3^{2+}$
<i>Inicio</i>			$V_0 C_0$		
<i>Agrega</i>	$V_{ag} C_{ag}$				
<i>Equilibrio</i>	ε		$V_0 C_0 - 3V_{ag} C_{ag}$		$V_{ag} C_{ag}$

V_0 : Volumen inicial; V_{ag} : volumen agregado.

Se puede observar la relación Fe(II):Ofen es 1:3, para llevar a cabo la formación del complejo $\text{Fe}(\text{Ofen})_3$, esto hace que en la cantidad restante de Ofen el coeficiente estequiométrico tenga un importante papel. Por otro lado, por cada mol de Fe(II) se genera un mol del complejo colorido (Figura 4).

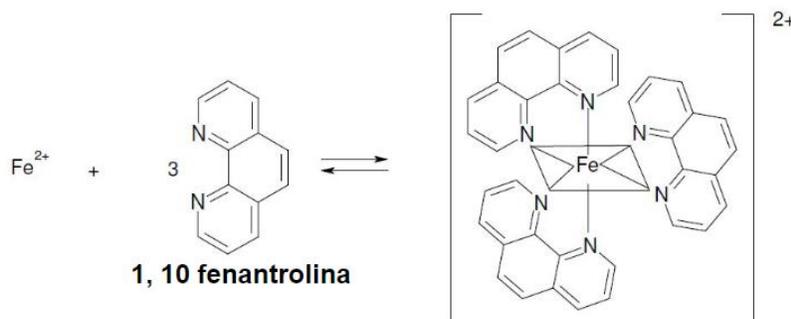


Figura 4. Reacción esquematizada para la formación del complejo $\text{Fe}(\text{Ofen})_3^{2+}$.

PASO 3. CALCULAR LA CONCENTRACION MOLAR DE FE(II) EN LA SOLUCION STOCK (SOL A) Y LA DILUCIÓN POSTERIOR (SOL B)

Para la solución A:

Se preparó a partir de 50.8 mg de $FeSO_4$, reactivo analítico*, con los datos de pureza del reactivo y masa molar molecular de la especie química, en este caso $FeSO_4$ (indicados en la sección de “datos extra”) se calcula la concentración de Fe^{2+} en los 100mL.

$$\left(\frac{30.8 \text{ mg } FeSO_4 \text{ RA}}{100 \text{ mL}}\right) \left(\frac{99.2 \text{ mg } FeSO_4}{100 \text{ mg } FeSO_4 \text{ RA}}\right) \left(\frac{1 \text{ mmol } FeSO_4}{151.91 \text{ mg } FeSO_4}\right) \left(\frac{1 \text{ mmol } Fe^{2+}}{1 \text{ mmol } FeSO_4}\right) = 2.01 \times 10^{-3} \text{ M}$$
$$[Fe^{2+}]_{Sol. A} = 2.01 \times 10^{-3} \text{ M}$$

**Se debe recordar que la pureza de un reactivo indica el porcentaje en masa de la especie pura, presente en el reactivo analítico (RA).*

Para la solución B:

La dilución a partir de la solución A fue tomar 1mL y aforar a 25 mL, para conocer la concentración en esta solución, se realiza la siguiente operación:

$$[Fe^{2+}]_{Sol. B} = \frac{(2.01 \times 10^{-3} \text{ M})(1 \text{ mL})}{(25 \text{ mL})} = 8.04 \times 10^{-5} \text{ M}$$

PASO 4. TRATAMIENTO DE DATOS PARA NORMALIZAR EL EFECTO DE LA DILUCIÓN

Siendo la Ley de Lambert-Bouger-Beer ($A = \epsilon l C$), ecuación que rige en la espectrofotometría de absorción molecular y conociendo que la especie química relacionada a la absorbancia es el complejo, se sustituye en el término C, la concentración del complejo al equilibrio. Para ello, de la tabla 1, se utiliza la ecuación correspondiente a la cantidad molar para el complejo al equilibrio y se divide por el volumen total, quedando:

$$A = \epsilon l \left(\frac{V_{ag} C_{ag}}{V_0 + V_{ag}} \right)$$

Se multiplica ambos lados de la ecuación por el mismo factor $\left[\frac{V_0 + V_{ag}}{V_0} \right]$ lo cual no altera la ecuación, ni la igualdad:

$$A \left[\frac{V_0 + V_{ag}}{V_0} \right] = \epsilon l \left(\frac{V_{ag} C_{ag}}{V_0 + V_{ag}} \right) \left[\frac{V_0 + V_{ag}}{V_0} \right]$$

Definiéndose el término de absorbancia corregida (A'), que deberá calcular el analista para cada sistema, a partir de la absorbancia experimental obtenida (A),

$$A' = A_{exp} \left[\frac{V_0 + V_{ag}}{V_0} \right]$$

y eliminándose por el otro lado el término V_T con $V_0 + V_{ag}$, dado que son el mismo valor numérico, queda la concentración expresada en términos de V_0 , el cual es un valor constante para todos los sistemas preparados.

$$A' = \epsilon l \left(\frac{V_{ag} C_{ag}}{V_0} \right)$$

PASO 5. CALCULANDO LA CONCENTRACIÓN DE LOS SISTEMAS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Los sistemas de la curva de calibración fueron preparados a partir de la solución B (tabla 1). Para calcular la concentración de Fe(II) en cada sistema, se usa la ecuación:

$$[Fe^{2+}]_{sistema} = \frac{C_{ag}V_{ag}}{V_0}$$
$$[Fe^{2+}]_{sistema\ 1} = \frac{(8.04 \times 10^{-5} M)(1\ mL)}{5\ mL} = 1.609 \times 10^{-5} M$$
$$[Fe^{2+}]_{sistema\ 2} = \frac{(8.04 \times 10^{-5} M)(2\ mL)}{5\ mL} = 3.218 \times 10^{-5} M$$
$$[Fe^{2+}]_{sistema\ 3} = \frac{(8.04 \times 10^{-5} M)(3\ mL)}{5\ mL} = 4.827 \times 10^{-5} M$$
$$[Fe^{2+}]_{sistema\ 4} = \frac{(8.04 \times 10^{-5} M)(4\ mL)}{5\ mL} = 6.436 \times 10^{-5} M$$
$$[Fe^{2+}]_{sistema\ 5} = \frac{(8.04 \times 10^{-5} M)(5\ mL)}{5\ mL} = 8.045 \times 10^{-5} M$$

PASO 6. CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y OBTENCIÓN DE LA REGRESIÓN LINEAL

Para construir la curva de calibración $A' = f([Fe(II)]_{estándar})$ es necesario **calcular la absorbancia corregida (A')** para cada sistema, empleando la siguiente ecuación:

$$A' = A_{exp} \left[\frac{V_0 + V_{ag}}{V_0} \right]$$
$$A'_{sistema\ 1} = 0.148 \left(\frac{5 + 1}{5} \right) = 0.178$$
$$A'_{sistema\ 2} = 0.262 \left(\frac{5 + 2}{5} \right) = 0.367$$
$$A'_{sistema\ 3} = 0.319 \left(\frac{5 + 3}{5} \right) = 0.51$$
$$A'_{sistema\ 4} = 0.376 \left(\frac{5 + 4}{5} \right) = 0.677$$
$$A'_{sistema\ 5} = 0.444 \left(\frac{5 + 5}{5} \right) = 0.888$$

Una vez conocida la absorbancia corregida y la concentración de Fe²⁺ estándar *en términos de V₀*, para cada sistema de la curva de calibración se construye el gráfico a partir de los datos vertidos en la Tabla 3 y realiza el ajuste lineal.

Tabla 3. Datos para la construcción de la curva de calibración ($A' = f [Fe^{2+}]$)

Sistema	Concentración (M)	A' ($\lambda=510$ nm)
1	1.609×10^{-5}	0.178
2	3.218×10^{-5}	0.367
3	4.827×10^{-5}	0.51
4	6.436×10^{-5}	0.677
5	8.045×10^{-5}	0.888

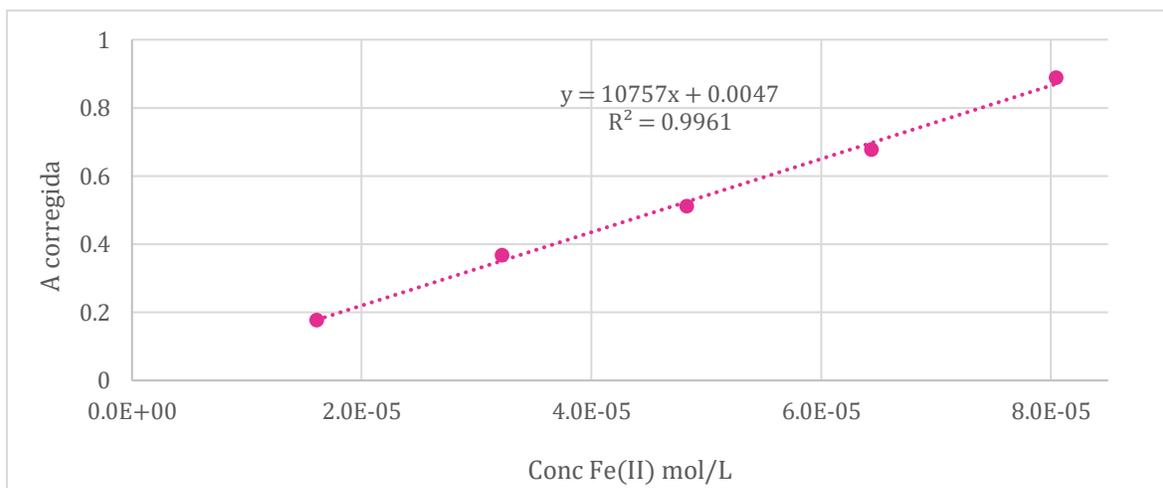


Figura 5. Curva de calibración en términos de $[Fe^{2+}]$ estándar.

Como se observa en la figura 5, se tiene un comportamiento lineal ($r^2 > 0.98$) con pendiente positiva y ordenada al origen cercana a cero.

PASO 7. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD EN MILIGRAMOS DE Fe^{2+} EN LA MUESTRA

A partir de la ecuación obtenida en el ajuste lineal de la curva de calibración es posible determinar la cantidad de Fe^{2+} en las tabletas. Sin embargo, es necesario **calcular la absorbancia corregida para la solución problema 2**, esto debido a que así está definido el eje Y de la curva de calibración.

$$A' = 0.319 \left[\frac{5 + 3}{5} \right] = 0.5104$$

Interpolando este valor en la curva se obtiene lo siguiente:

$$0.5104 = 10757x + 0.0047$$

donde "x" es la concentración de Fe^{2+} .

Despejando el valor de "x", se tiene:

$$x = \frac{0.5104 - 0.0047}{10757} = [Fe^{2+}]_{Sol\ Prob\ 2} = 4.701 \times 10^{-5} M$$

Se deben considerar las diluciones realizadas para determinar los miligramos de Fe^{2+} presentes en la muestra comercial. Las operaciones necesarias para considerar las diluciones realizadas son:

- Dilución del sistema de medición:

$$4.701 \times 10^{-5} \frac{mmol}{mL} \left(\frac{5 mL}{3 mL} \right) = 7.835 \times 10^{-5} \frac{mmol}{mL} [Fe^{2+}]_{Sol Prob 1}$$

- Dilución de la solución problema 1:

$$7.835 \times 10^{-5} \frac{mmol}{mL} \left(\frac{25 mL}{1 mL} \right) = 1.959 \times 10^{-3} \frac{mmol}{mL} [Fe^{2+}]_{Sol Prob stock}$$

Una vez obtenida la concentración de la solución stock problema es posible calcular la cantidad de Fe^{2+} en mmol presente en la misma:

$$1.959 \times 10^{-3} \frac{mmol}{mL} (50 mL) = 0.0979 mmol Fe^{2+}$$

Ahora, calculando los mg de Fe^{2+} por tableta se obtiene lo siguiente:

$$0.0979 mmol Fe^{2+} \left(\frac{55.845 mg Fe^{2+}}{1 mmol Fe^{2+}} \right) \left(\frac{1}{41.7 mg tab} \right) \left(\frac{450.7 mg tab}{1 tableta} \right) = 59.1 mg Fe^{2+} / tab$$

$$\left(\frac{59.1 mg Fe(II) tab}{60.27 mg Fe(II) marbete} \right) \times 100 = 98.1\% Fe^{2+} \text{ en relación al marbete}$$

Dado que el intervalo de aceptación del medicamento es del 90 al 110% a lo indicado en el marbete, el medicamento está dentro de especificaciones y puede ser vendido al consumidor.

PASO 8. CALCULO DEL COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR DEL COMPLEJO:

De la ecuación obtenida en el paso 4:

$$A' = \epsilon l \left(\frac{V_{ag} C_{ag}}{V_0} \right)$$

En esta ecuación se puede observar que el coeficiente de absortividad " ϵ " es un factor que se mantiene constante. Esto es debido a que cada especie colorida presenta un valor único y característico que varía según la longitud de onda a la que sea determinada la absorbancia de la sustancia y es independiente de la concentración de la especie química.

$$A' = \epsilon l \left(\frac{V_{ag} C_{ag}}{V_0} \right)$$

$$y = m \quad x$$

La curva de calibración sigue un modelo lineal ($y = mx + b$), con ordenada al origen idealmente igual a cero, el término “y” corresponde a la absorbancia corregida (A'), el término “x” a la concentración de Fe^{2+} y finalmente el producto de los términos constantes “ ϵl ” corresponde a la pendiente de la recta “m”.

Con base en lo anterior es posible calcular el coeficiente de absorptividad molar para el complejo colorido $\text{Fe}(\text{Ofen})_3$ empleando la ecuación mostrada en la figura 5. La ecuación es:

$$y = 10757x + 0.0047$$

El valor de la pendiente de la ecuación es $m = 10,757$. Por lo tanto, podemos realizar la igual de los términos que hemos discutido anteriormente; resultando de la siguiente manera:

$$m = \epsilon l = 10,757 \text{ M}^{-1}$$

El valor de l , que es la longitud de la celda, considerando que es igual a 1 cm (longitud de paso óptico de las celdas comúnmente empleadas). Despejando este valor y sustituyendo en la ecuación tenemos:

$$\epsilon = \frac{10757 \text{ M}^{-1}}{1 \text{ cm}} = 10,757 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

Siendo este el valor del coeficiente de absorptividad molar experimental obtenido para el complejo $\text{Fe}(\text{Ofen})_3^{2+}$ a una longitud de onda de 510 nm, el cual es cercano al reportado: $11,100 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$.