

PRACTICA

ESPECTROFOTOMETRIA

CUANTIFICACIÓN DE COLORANTES EN UNA MEZCLA

INTRODUCCION

Con frecuencia se requiere conocer la concentración de dos o más sustancias en una mezcla y si dichas sustancias absorben luz, es posible analizar la mezcla sin tener que separar los compuestos de interés (Meloan & Kiser, 1973). Las características que deben de presentar los compuestos susceptibles de ser analizados por este método es el que sus espectros presenten longitudes de onda de absorción máxima diferente y que los coeficientes de absorptividad (**a**) en sus máximos de absorción también sean diferentes (Harris, 2001).

En el análisis de este tipo de muestras también se emplea la ley de Lambert & Beer y dado que la absorbancia total de la solución a una longitud de onda dada, es igual a la suma de componentes individuales en la solución (Skoog et al, 2008), esta ley se puede escribir como:

Ecuación 1)
$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n$$

Durante el desarrollo del experimento se emplearan celdas con un paso óptico de 1 cm, y se analizará una mezcla de dos colorantes, a los que denominaremos M y Z, que presentan máximos de absorción a longitudes de onda diferentes.

Para analizar la mezcla, primero se determinan los coeficientes de absorptividad (**a**) para M y Z a las longitudes de onda λ_1 y λ_2 con concentraciones suficientes de la solución patrón para estar seguros de que se cumple la ley de Lambert & Beer en un intervalo de absorbancia que incluya la absorbancia de la muestra (Skoog et al, 2008).

Conociendo los coeficientes de absorptividad de cada colorante a las dos longitudes de onda seleccionadas y la absorbancia (**A**) de la muestra a las dos longitudes de onda, podemos escribir en las ecuaciones 2 y 3, las relaciones que nos conduzcan a obtener las concentraciones de los colorantes M y N

Ecuación 2:
$$A^1_{\text{mezcla}} = a^1_m c_M + a^1_z c_Z$$
 Longitud de onda 1

Ecuación 3:
$$A^2_{\text{mezcla}} = a^2_m c_M + a^2_z c_Z$$
 Longitud de onda 2

La resolución de este sistema de ecuaciones nos permite conocer la concentración de M (ecuación 4) y Z (ecuación 5) en la mezcla.

Ecuación 4:
$$[M] = \frac{(A^1)(a^2_z) - (A^2)(a^1_z)}{(a^1_m)(a^2_z) - (a^2_m)(a^1_z)}$$

Ecuación 5:
$$[Z] = \frac{(a^1_m)(A^2) - (a^2_m)(A^1)}{(a^1_m)(a^2_z) - (a^2_m)(a^1_z)}$$

La exactitud mayor se obtiene al elegir longitudes de onda a las cuales las diferencias en el coeficiente de absorptividad son mayores (Skoog et al, 2008).

Dentro de las mezclas que con frecuencia se analizan en este tipo de análisis son compuestos que contienen Mn-Cr, Ni-Co o bien Co-Cu-Fe (Meloan & Kiser, 1973). En esta práctica se sugiere el empleo de colorantes usados en la industria alimentaria y las características que los hacen buenos candidatos incluyen el bajo costo, la fácil disponibilidad, y el uso seguro ya que no son tóxicas por lo que sus desechos no tienen impacto ecológico.

Los colorantes encontrados en las tiendas de autoservicio, se sugiere la marca *DUCHE* ya que son sólidos.

OBJETIVOS:

- El alumno aplicará el empleo de métodos espectrofotométricos en el análisis de mezclas.
- El alumno realizará las medidas espectrofotométricas a las longitudes de onda de máxima absorbancia necesarias que permitan calcular la concentración de ambos colorantes en una muestra problema.

MATERIALES Y REACTIVOS

2 matraces aforados de 100 mL.

12 tubos de ensaye de 10 mL

3 pipetas graduadas de 5.0 mL

1 espátula

1 agitador de vidrio

2 vasos de precipitados de 100 mL

1 gradilla

1 espectrofotómetro

3 celdas para el espectrofotómetro

1 piseta con agua destilada

1 balanza analítica

Colorantes artificiales para alimentos "Duche"

PROCEDIMIENTO

1. Soluciones stock de los colorantes.

Pese 16 mg del colorante azul (AZ), disolverlo en agua destilada y transfíralo al matraz aforado de 100 mL.

Pese 23 mg del colorante amarillo (AM), disolverlo en agua destilada y transfíralo al matraz aforado de 100 mL.

2. Obtención de las longitudes de onda de máxima absorbancia.

Efectué el barrido de 380 nm a 640 nm para ambos colorantes por separado, utilizando agua destilada como blanco.

Con base a estos resultados, elige la longitud de onda en la cual la absorbancia es máxima para el colorante AM (λ_1) y AZ (λ_2).

3. Obtención de los coeficientes de actividad de los colorantes AM y AZ por el método gráfico

Prepare la siguiente serie de soluciones y mide la absorbancia a las 2 longitudes de onda, emplee el tubo 1 como blanco

No. Tubo	Color AM, mL	H ₂ O, mL	A (λ_1)	A (λ_2)
1	0.0	6.0		
2	1.0	5.0		
3	2.0	4.0		
4	3.0	3.0		
5	4.0	2.0		
6	5.0	1.0		

No. Tubo	Color AZ, mL	H ₂ O, mL	A (λ_1)	A (λ_2)
1	0.0	6.0		
2	1.0	5.0		
3	2.0	4.0		
4	3.0	3.0		
5	4.0	2.0		
6	5.0	0.0		

- Medición de la absorbancia de la muestra problema. Solicite al profesor de laboratorio el tubo de ensaye con la muestra problema.

Mide la absorbancia de mezcla de colorantes proporcionada a las dos longitudes de onda, previamente seleccionadas.

Nota: Las soluciones sugeridas son suficientes para que tres equipos realicen por duplicado la práctica así como la muestra problema que proporcionara el profesor. También se puede utilizar el colorante rojo fresa en lugar del azul del mismo proveedor, a una concentración de 17 mg/100 mL.

REPORTE DE LA PRÁCTICA

- Construye los espectros de absorción de los colorantes y resalte las longitudes de onda de máxima absorbancia.
- Construya las curvas de calibración (absorbancia vs concentración g/L) para cada uno de los colorantes a las dos longitudes de onda de máxima absorbancia. Obtenga la ecuación de la recta para cada una de las cuatro curvas e indique cual es el valor de cada uno de los coeficientes de absortividad.
- Emplee los valores de absorbancia de la muestra problema y los coeficientes de absortividad correspondientes para calcular la concentración de cada uno de los colorantes en la muestra problema, en % p/v.

CUESTIONARIO

- ¿Cuáles serían las longitudes de onda que emplearía para medir la absorbancia de una solución de color púrpura?

2. ¿Este tipo de análisis se aplica sólo a sustancias coloridas?
3. Como procedería experimentalmente para obtener la concentración de una mezcla que contiene 3 sustancias diferentes
4. Se midieron a las longitudes de onda que se dan a continuación los % de T de soluciones coloreadas de las sustancias R y V por separado, cada una de ellas a una concentración de 5.0×10^{-4} M. También se midió una muestra desconocida que contenía ambos compuestos. A partir de los siguientes datos, calcule la concentración en mg/mL de R y V, si sus pesos moleculares son de 170 y 234 respectivamente.

Disolución	% T a 530 nm	% T a 690 nm
R	50	90
V	90	25
Desconocida	75	40

BIBLIOGRAFÍA

Harris, D.C. 2001. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Reverté S.A. España.

Meloan C.F., Kiser R.M. 1973. Problemas y experimentos en análisis instrumental. Editorial Reverté Mexicana, S.A. México.

Skoog D. A., Holler F.J., Crouch, S.R. 2008. Principios de Análisis Instrumental. 6ª edición. Cengage Learning, México.