



*Nota técnica / Technical note*

## **Análisis cuantitativo de una mezcla binaria a partir de datos espectrofotométricos UV usando un método alternativo**

### **Quantitative analysis of a binary mixture from UV spectrophotometric data using an alternative method**

**Robert Cazar** , **Carlos Medina**, **Wilian Bravo**, **Verónica Sánchez**

Facultad de Ciencias & GETNano, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur Km 1.5, Riobamba, Ecuador.

Autor para correspondencia: robert.cazar@gmail.com

Fecha de recepción: 27 de mayo de 2019 - Fecha de aceptación: 6 de septiembre de 2019

#### **RESUMEN**

Este trabajo describe un ejercicio de laboratorio útil para un curso de análisis instrumental. En el ejercicio se aplica un método alternativo para efectuar el análisis cuantitativo de una mezcla binaria a partir de datos espectrofotométricos UV. Para tal propósito se preparó una mezcla de concentraciones conocidas de ácido 4-aminobenzóico y ácido nicotínico, se registraron sus absorbancias a diferentes longitudes de onda en el intervalo de 242 a 330 nanómetros, y los datos producidos se sometieron al procedimiento alternativo. En éste se realiza una sencilla transformación de la ecuación de absorbancia de la mezcla para obtener una relación lineal a partir de la cual se calcula las concentraciones de sus componentes. Pese a su sencillez, el método produce una muy buena concordancia entre las concentraciones calculadas y las reales de los componentes, errores menores del 2% han sido encontrados. El ejercicio provee una interesante alternativa al procedimiento convencional que habitualmente se enseña en un curso de análisis instrumental.

**Palabras clave:** Análisis instrumental, análisis de mezclas, espectrofotometría UV.

#### **ABSTRACT**

This work describes a laboratory exercise useful for an instrumental analysis course. In the exercise, an alternative method is applied to carry out the quantitative analysis of a binary mixture from UV spectrophotometric data. For this purpose, a mixture with known concentrations of 4-aminobenzoic acid and nicotinic acid was prepared, its absorbances at several wavelengths in the interval of 242 to 330 nanometers were recorded, and the resulting data were subjected to the alternative procedure. In this one, a simple transformation on the absorbance equation of the mixture is applied to obtain a linear relationship from which the concentrations of the components are calculated. In spite of its simplicity, the method produces a very good agreement between the calculated concentrations and the actual ones, errors within 2% have been found. The exercise provides an interesting alternative to the conventional procedure customarily taught in an instrumental analysis course.

**Keywords:** Instrumental analysis, mixtures analysis, UV spectrophotometry.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

La determinación de las concentraciones de los componentes de una mezcla es un tópico de gran importancia en las actividades de laboratorio de un curso de análisis instrumental. Comúnmente, el análisis cuantitativo de mezclas requiere el empleo de espectrofotometría UV (Afkhani & Baharam, 2005; Turabik, 2008; El-Bardicy, Lofty, El-Sayed, & El-Tarras, 2008; Parmar & Sharma, 2016; Attia, Nassar, El-Zeiny, & Serag, 2016; Hassan & Abdel-Gawad, 2018). En este tipo de espectroscopía, una muestra de materia se expone a radiación electromagnética UV. Esta radiación transporta un rango de energías capaz de equiparar a la diferencia de energía requerida para provocar una transición electrónica

en las moléculas presentes en la muestra. Tal fracción de energía es absorbida por las moléculas para promover a algunos de sus electrones a estados de energía superior. Un espectrómetro registra la intensidad de absorción de la radiación a diferentes longitudes de onda y el gráfico resultante de absorbancia ( $A$ ) versus longitud de onda ( $\lambda$ ) se denomina el espectro de absorción UV de la muestra. En las transiciones electrónicas asociadas con la espectroscopia UV participan electrones de enlaces simples ( $\sigma$ ), de enlaces dobles ( $\pi$ ) y electrones libres ( $n$ ). Cuatro tipos de transiciones son posibles, a saber: (i) un electrón en un orbital de enlace  $\sigma$  se promueve a un orbital de antienlace  $\sigma^*$ , (ii) un electrón  $n$  se transfiere a un orbital



de antienlace  $\sigma^*$ , (iii) un electrón n se transfiere a un orbital de antienlace  $\pi^*$ , y (iv) un electrón en un orbital de enlace  $\pi$  se promueve a un orbital de antienlace  $\pi^*$ . Las dos primeras transiciones ocurren en la región del UV vacío, por lo que no son de utilidad práctica. Las transiciones (iii) y (iv) ocurren en la región del UV cercano, la cual corresponde a un rango de longitudes de onda de 190 nanómetros a 360 nanómetros. Tales transiciones ocurren en moléculas que poseen enlaces múltiples y/o heteroátomos con pares de electrones libres. Estos grupos funcionales se denominan cromóforos y son los responsables de las absorciones registradas en los espectros UV de moléculas orgánicas.

El procedimiento para el análisis de mezclas involucra la medición de la absorbancia total de la mezcla, la cual es igual a la suma de las absorbancias de sus componentes. La ecuación que se utiliza es:

$$A_{mezcla} = b \sum \varepsilon_i c_i \quad (1)$$

donde,  $A_{mezcla}$  es la absorbancia registrada para la mezcla,  $b$  es el camino óptico (ancho de la celda),  $\varepsilon_i$  es el coeficiente de extinción molar del componente  $i$  de la mezcla, y  $c_i$  es su concentración. La ecuación (1) asume la validez de la ley de Lambert-Beer y la actividad de las absorbancias (Gazdaru & Iorga, 2002; Bashford, 1983; Perkampus, 1992).

Para el caso más sencillo, una mezcla binaria, la ecuación adopta la siguiente forma:

$$A_{mezcla} = \varepsilon_1 b c_1 + \varepsilon_2 b c_2 \quad (2)$$

Habitualmente, a los estudiantes se les enseña a calcular las concentraciones  $c_1$  y  $c_2$  utilizando el método de las ecuaciones simultáneas (Vijayalakshmi, Abdul Feroz, Naga Masa, & Jaswanthi, 2017; Lofty, Hegazi, Rezk, & Omram, 2015). En tal método se registra las absorbancias de la mezcla y los coeficientes de extinción molar de los componentes a dos diferentes longitudes de onda y se construye un sistema con dos ecuaciones y dos incógnitas a partir del cual se obtienen las concentraciones de interés. En este trabajo se ilustra un procedimiento alternativo, el cual se basa en una sencilla transformación de la ecuación (2) para convertirla en una relación lineal y a partir de ella calcular las concentraciones de los componentes usando múltiples valores de absorbancia de la mezcla, en un rango particular de longitudes de onda de la región UV, mediante un análisis de regresión lineal utilizando la técnica de mínimos cuadrados. Por su naturaleza, este método es bastante simple de aplicar y entender por parte de los estudiantes, y además permite obtener resultados con un alto grado de exactitud.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El método bosquejado en el párrafo anterior fue desarrollado originalmente por K. A. Connors y J. Eboka, y ha sido empleado extensivamente en investigaciones en las que se efectúan análisis cuantitativos de mezclas (Connors, 1976, 1977; Connors & Eboka, 1979; Coello de Escobar & Zimnoch, 2014; Ghasemi & Mandoumi, 2008;

Naud, 1996; Gonzalez, Pablos, & Asuero, 1991; Coello de Escobar, Dallegrove, Lasarin, & Zimnoch, 2015). En el método se divide los términos de la ecuación (2) para  $\varepsilon_1 b$  la cual se transforma en:

$$\frac{A_{mezcla}}{\varepsilon_1 b} = c_1 + c_2 \frac{\varepsilon_2}{\varepsilon_1} \quad (3)$$

En la ecuación (3) se observa la existencia de una relación lineal entre las cantidades  $A_{mezcla}/\varepsilon_1 b$  y  $\varepsilon_2/\varepsilon_1$ , esto es, la ecuación corresponde a una línea recta cuyo intercepto en el eje de ordenadas es  $c_1$  y cuya pendiente es  $c_2$ . Aplicando el método de regresión de mínimos cuadrados sobre un conjunto de datos  $A_{mezcla}/\varepsilon_1 b$  versus  $\varepsilon_2/\varepsilon_1$  recolectado en un rango apropiado de longitudes de onda, es posible calcular los parámetros de regresión, que a su vez proveen las concentraciones de los componentes de la mezcla. El método alterno difiere del método convencional en que éste emplea las absorbancias de un buen número de longitudes de onda, lo cual puede conducir a un mayor grado de exactitud de las concentraciones calculadas.

Para ilustrar la aplicación del método, se preparó una mezcla 1:1 en volumen de ácido 4-aminobenzóico y ácido nicotínico a partir de soluciones patrón de concentraciones 11 mg L<sup>-1</sup> y 22.4 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, de tales ácidos combinando 25 mL de cada solución. Corrigiendo para dilución, las concentraciones reales de los ácidos en la mezcla son de 5.5 mg L<sup>-1</sup> y 11.2 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Los espectros UV de la mezcla y las soluciones patrón en el intervalo de longitudes de onda de 242 a 330 nanómetros fueron registrados en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 de doble haz con dos celdas de cuarzo equiparables de 1 cm de camino óptico. Este instrumento garantiza un alto desempeño con un equipamiento que facilita una fácil operación. Los datos de absorbancia fueron tabulados y tratados usando el procedimiento descrito en la sección anterior con el objeto de calcular las concentraciones de los componentes de la mezcla. La Tabla 1 recoge los valores de absorbancia de la mezcla a varias longitudes de onda en el intervalo de 242 a 330 nanómetros y las respectivas transformaciones requeridas para aplicar el método.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de regresión por el método de mínimos cuadrados de los datos obtenidos para  $A_{mezcla}/\varepsilon_1 b$  versus  $\varepsilon_2/\varepsilon_1$  proporciona la ecuación (3).

$$\frac{A_{mezcla}}{\varepsilon_1 b} = 4.12 \times 10^{-5} + 8.92 \times 10^{-5} \frac{\varepsilon_2}{\varepsilon_1} \quad (3)$$

De la ecuación se recaban los parámetros de regresión, esto es, el intercepto en el eje de ordenadas y la pendiente; que a su vez corresponden a las concentraciones de los componentes de la mezcla.

La Figura 1 muestra el diagrama de dispersión de los datos junto con la recta ajustada a ellos mediante la técnica de mínimos cuadrados. Una rápida inspección de la figura permite evidenciar que los datos experimentales manifiestan una muy buena concordancia con la recta calculada. En efecto, el valor de  $R^2$  para el modelo de

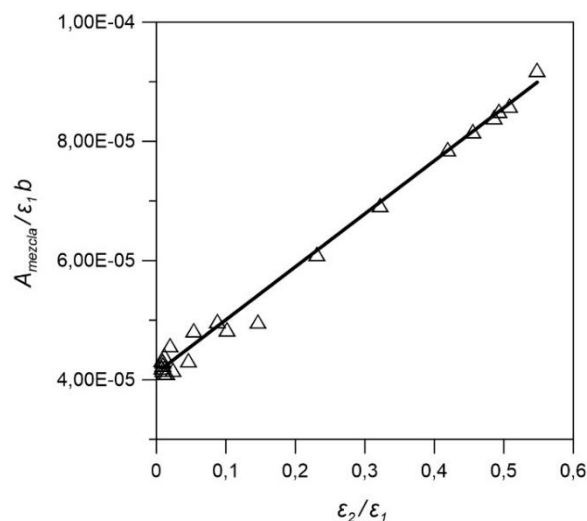
**Tabla 1.** Datos para el análisis cuantitativo de la mezcla de ácido 4-aminobenzóico y ácido nicotínico.

$\lambda$ (nm)	$A_{mezcla}$	$\epsilon_1$ (L cm <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	$\epsilon_2$ (L cm <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	$\epsilon_2/\epsilon_1$	$A_{mezcla}/\epsilon_1 b$ (mol L <sup>-1</sup> )
242	0.293	3188.42	1746.96	0.548	$9.20 \times 10^{-5}$
246	0.366	4222.96	2145.59	0.508	$8.60 \times 10^{-5}$
250	0.478	5621.79	2772.15	0.493	$8.51 \times 10^{-5}$
254	0.612	7285.54	3538.64	0.486	$8.41 \times 10^{-5}$
258	0.730	8942.70	4068.55	0.455	$8.17 \times 10^{-5}$
262	0.827	10509.72	4407.08	0.419	$7.87 \times 10^{-5}$
266	0.814	11744.29	3785.33	0.322	$6.93 \times 10^{-5}$
270	0.761	12468.87	2880.35	0.231	$6.11 \times 10^{-5}$
274	0.621	12798.71	1306.01	0.102	$4.85 \times 10^{-5}$
278	0.555	12811.95	590.5	0.046	$4.33 \times 10^{-5}$
282	0.522	12517.88	300.06	0.024	$4.17 \times 10^{-5}$
286	0.492	11936.36	178.88	0.015	$4.12 \times 10^{-5}$
290	0.452	10986.05	118.29	0.011	$4.12 \times 10^{-5}$
294	0.399	9586.49	82.23	0.009	$4.17 \times 10^{-5}$
298	0.336	7986.28	60.11	0.008	$4.21 \times 10^{-5}$
302	0.269	6318.55	55.30	0.009	$4.26 \times 10^{-5}$
306	0.202	4652.15	38.47	0.008	$4.34 \times 10^{-5}$
310	0.137	3172.52	29.33	0.009	$4.31 \times 10^{-5}$
314	0.085	1923.38	20.20	0.011	$4.41 \times 10^{-5}$
318	0.049	1065.01	20.20	0.020	$4.58 \times 10^{-5}$
322	0.028	569.60	30.78	0.054	$4.83 \times 10^{-5}$
326	0.012	234.46	20.68	0.088	$4.99 \times 10^{-5}$
330	0.006	128.49	18.75	0.146	$4.98 \times 10^{-5}$

**Tabla 2.** Resultados del análisis cuantitativo de la mezcla ácido 4-aminobenzóico / ácido nicotínico.

Componente	Concentración calculada (mg L <sup>-1</sup> )	Concentración real (mg L <sup>-1</sup> )	Error de la estima (%)
ácido 4-aminobenzóico	5.6	5.5	1.82
ácido nicotínico	11.0	11.2	1.79

regresión es 0.992. Tal resultado indica que el modelo de regresión es capaz de explicar el 99.2% de información presente en los datos, por lo que la bondad de ajuste de los datos al modelo lineal es muy buena.

**Figura 1.** Diagrama de dispersión de los datos y la recta ajustada por mínimos cuadrados.

De la inspección de la ecuación (3) se establece que la concentración calculada para ácido 4-aminobenzóico ( $c_1$ )

es  $4.12 \times 10^{-5}$  moles L<sup>-1</sup> la cual equivale a 5.6 mg L<sup>-1</sup>; y la concentración calculada para el ácido nicotínico ( $c_2$ ) es  $8.92 \times 10^{-5}$  moles L<sup>-1</sup> la cual equivale a 11.0 mg L<sup>-1</sup>. La Tabla 2 resume los resultados obtenidos y el porcentaje de error de la estima.

De la Tabla 2 se puede observar que los errores en la estimación de las concentraciones de los componentes son menores del 2% por lo que se concluye que existe un muy buen acuerdo entre los valores calculados y los valores reales de los componentes de la mezcla. Esto permite evidenciar la bondad del método descrito.

#### 4. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha presentado un ejercicio útil para el laboratorio de un curso de análisis instrumental. El ejercicio consiste en la aplicación de un método alternativo para efectuar el análisis cuantitativo de una mezcla binaria a partir de datos espectrofotométricos UV. Para obtener las concentraciones de los componentes de la mezcla, el método se basa en un análisis de regresión lineal mediante la técnica de mínimos cuadrados ejecutado sobre un conjunto de datos obtenidos a partir de una simple transformación de la relación de absorbancia de la mezcla versus concentración de sus componentes. El método emplea múltiples valores de absorbancia de la mezcla para efectuar los cálculos, es sumamente sencillo de entender y aplicar por parte de los estudiantes, y

adicionalmente proporciona resultados con un alto grado de exactitud. Para ilustrar el método, se efectuó el análisis cuantitativo de una mezcla de ácido 4-aminobenzóico y ácido nicotínico. Los resultados obtenidos evidencian la bondad del procedimiento, ya que se obtuvieron valores con errores de estima menores al 2%. El método descrito constituye una interesante alternativa al procedimiento convencional de las ecuaciones simultáneas.

## REFERENCIAS

- Afkhami, A., & Baharam, M. (2005). Mean centering of ratio spectra as a new spectrophotometric method for the analysis of binary and ternary mixtures. *Talanta*, 66(3), 712-720.
- Attia, K., Nassar, M., El-Zeiny, M., & Serag, A. (2016). Different spectrophotometric methods applied for the analysis of binary mixture of flucloxacillin and amoxicillin: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 161, 64-69.
- Bashford, C. (1983). *Spectrophotometry & Spectrofluorimetry: A Practical Approach*. IRL Press Limited, pp. 1-22.
- Coello de Escobar, C., & Zimnoch, J. (2014). Effect of the sol-gel route on the textural characteristics of silica imprinted with Rhodamine B. *Journal of Separation Science*, 37(7), 868-875.
- Coello de Escobar, C., Dallegrave, A., Lasarin, M., & Zimnoch, J. (2015). The sol-gel route effect on the preparation of molecularly imprinted silica-based materials for selective and competitive photocatalysis. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 486, 96-105.
- Connors, K. A. (1976). Linear graphical kinetic analysis of mixtures. *Analytical Chemistry*, 48(6), 87-89.
- Connors, K. A. (1977). Graphical interpolation method for the kinetic analysis of three-component mixtures. *Analytical Chemistry*, 49(12), 1650-1655.
- Connors, K. A., & Eboka, J. (1979). Alternative graphical methods for the spectrophotometric analysis of mixtures. *Analytical Chemistry*, 51(8), 1262-1266.
- El-Bardicy, M., Lofty, H., El-Sayed, M., & El-Tarras, M. (2008). Smart stability-indicating spectrophotometric methods for determination of binary mixtures without prior separation. *Journal of AOAC International*, 91(2), 299-310.
- Gazdaru, M., & Iorga, B. (2002). Spectrophotometric analysis of the mixtures of photosynthetic pigments. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 4(1), 121-129.
- Ghasemi, J., & Mandoumi, N. (2008). A new algorithm for the characterization of thermodynamics of monomer-dimer process of dye stuffs by photometric temperature titration. *Acta Chimica Slovenica*, 55(2), 377-384.
- Gonzalez, A., Pablos, F., & Asuero, A. (1991). Spectrophotometric determination of acidic constants of compounds with unsuitable absorption features. *International Journal of Pharmaceutics*, 72, 193-197.
- Hassan, S., & Abdel-Gawad, S. (2018). Application of wavelet and Fourier transforms as powerful alternatives for derivative spectrophotometry in analysis of binary mixtures: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 191, 365-371.
- Lofty, H., Hegazi, M., Rezk, M., & Omram, Y. (2015). Comparative study of novel versus conventional two-wavelength spectrophotometric methods for analysis of spectrally overlapping binary mixtures. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 148, 328-337.
- Naud, D. L. (1996). Thermal decomposition of aryl nitramines. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2.0*, 1321-1324.
- Parmar, A., & Sharma, S. (2016). Derivative UV-vis absorption spectra as an invigorated spectrophotometric method for spectral resolution and quantitative analysis: Theoretical aspects and analytical application: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 77, 44-53.
- Perkampus, H-H. (1992). *UV-VIS Spectroscopy and its application*. Berlin, Germany: Springer Lab Manuals book series. 244 pp.
- Turabik, M. (2008). Adsorption of basic dyes from single and binary component systems onto bentonite: Simultaneous analysis of basic red 43 and basic yellow 28 by first order derivative spectrophotometric analysis method. *Journal of Hazardous materials*, 158(1), 52-64.
- Vijayalakshmi, N., Abdul Feroz, S. K., Naga Masa, Ch., & Jaswanthi, P. (2017). Method development and validation for the estimation of Ofloxacin and Nitaxozanide present in bulk & tablet by simultaneous equation method using UV-spectrophotometry. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 1204-1211.